



XV REUNIÓN DEL GRUPO REGIONAL ANDALUZ DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE QUÍMICA ANALÍTICA



Almería, 30 de junio y 1 de julio de 2016



GRUPO REGIONAL ANDALUZ
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
QUÍMICA ANALÍTICA



UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

© Los autores

XV Reunión del Grupo Regional Andaluz de la Sociedad Española de Química
Analítica

ISBN: 978-84-16642-28-1

Depósito Legal: AL 988-2016

Foto portada: Jana Werner

XV REUNIÓN DEL GRUPO REGIONAL
ANDALUZ DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA
DE QUÍMICA ANALÍTICA

Almería, 30 de junio y 1 de julio de 2016



Comité Organizador

Antonia Garrido Frenich (Coordinadora)	Universidad de Almería
José Luis Martínez Vidal	Universidad de Almería
Roberto Romero González	Universidad de Almería
Francisco Javier Arrebola Liébanas	Universidad de Almería
Francisco Javier Egea González	Universidad de Almería

Comité Científico

Carlos Moreno Aguilar (Coordinador)	Universidad de Cádiz
Esteban Alonso Álvarez	Universidad de Sevilla
M ^a Dolores Bellido Milla	Universidad de Cádiz
Luis Fermín Capitán Vallvey	Universidad de Granada
Tamara García Barrera	Universidad de Huelva
Antonia Garrido Frenich	Universidad de Almería
Miguel Hernández López	Universidad de Málaga
Loreto Lunar Reyes	Universidad de Córdoba
Carolina Mendiguchía Martínez	Universidad de Cádiz
Antonio Molina Díaz	Universidad de Jaén

Colaboradores

- ✓ Universidad de Almería
- ✓ Centro de Investigación en Biotecnología Agroalimentaria (BITAL)
- ✓ Sociedad Española de Química Analítica (SEQA)

Patrocinadores

- ✓ Thermo Scientific
- ✓ Agilent Technologies
- ✓ Sciex
- ✓ Inycom
- ✓ Dicsa
- ✓ Bruker
- ✓ Albus
- ✓ Andaluza de Instrumentación

Índice

Programa Científico.....	1
Conferencias Invitadas.....	3
Comunicaciones Orales.....	7
Comunicaciones Flash.....	24
Comunicaciones Cartel.....	33
Agroalimentación (ALI).....	34
Bioanálisis y técnicas <i>ómicas</i> (BIO).....	68
Medioambiente (MAM).....	86
Nanomateriales y otros (NAO).....	101
Índice de autores.....	116

PROGRAMA CIENTÍFICO

JUEVES 30 de JUNIO

- 9:00 Registro/ Colocación póster**
- 9:30 Inauguración del congreso**
Exc. Sr.D. Antonio Miguel Posadas Chinchilla, Vicerrector de Investigación, Desarrollo e Innovación de la Universidad de Almería
- 10.00 Conferencia Inaugural (CI-1): La responsabilidad social de la Química Analítica**
Prof. Miguel Valcárcel Cases, Rafael Lucena Rodríguez (Universidad de Córdoba)
Moderadores: Antonia Garrido Frenich y Ana María García Campaña
- 10:45 Café / Sesión de Póster**
- 11:30 Comunicaciones Orales (CO)**
CO-01: *Aplicación de la estrategia de clasificación multivariante de "pseudo" dos clases de entrada (una clase diana + una clase "fantasma") en la autenticación de aceite de oliva*
Ana María Jiménez Carbelo (Universidad de Granada)
CO-02: *Nanoflow liquid chromatography high resolution mass spectrometry for routine pesticide residue analysis in food.*
David Moreno González (Universidad de Jaén)
CO-03: *Búsqueda de biomarcadores en suero y lavado broncoalveolar de pacientes con cáncer de pulmón mediante técnicas metabolómicas basadas en GC-MS*
Belén Callejón Leblic (Universidad de Huelva)
CO-04: *Determinación de contaminantes orgánicos perfluorados en leche materna mediante extracción sobre barras agitadores de polietilenglicol*
Julia Martín Bueno (Universidad de Sevilla)
Moderadores: Tamara García Barrera y José Luis Martínez Vidal
- 12:30 Comunicaciones Flash (CF)**
CF-1: *Use of dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of benzimidazoles in meat samples by capillary electrophoresis tandem mass spectrometry*
Carmen Tejada Casado (Universidad de Granada)
CF-2: *Disolventes supramoleculares volátiles para simplificar el análisis de saliva en el estudio del efecto combinado de bisfenoles y derivados en humanos*
Encarnación Romera García (Universidad de Córdoba)
CF-3: *Estudio de la influencia de pH y temperatura en la racemización de (-) hiosciamina a (+) hiosciamina en semillas de estramonio*
Jesús Marín Sáez (Universidad de Almería)
CF-4: *Metodología analítica para la determinación de contaminantes emergentes en aguas superficiales. Distribución y evaluación de riesgos en el río Guadiamar*
Juan Luis Santos Morcillo (Universidad de Sevilla)
CF-5: *Estudio metabolómico para evaluar la contaminación ambiental usando Scrobicularia plana como bioindicador*
Gema Rodríguez Moro (Universidad de Huelva)
CF-6: *Improved SPE-LC-MS/MS platforms for determination of vitamin D and its metabolites*
Antonio Mena Bravo (Universidad de Córdoba)
CF-7: *Análisis de parabenos y bisfenol A en muestras de leche humana mediante UPLC-MS/MS previa extracción asistida por ultrasonidos y limpieza del extracto con adsorbentes dispersivos*
Alberto Zafra Gómez (Universidad de Granada)
CF-8: *Electrodeless secondary electrospray ionizer: a new high-performance tool for metabolomic kinetic studies*
Guillermo Vidal de Miguel (Universidad de Málaga)
Moderadores: Miguel Hernández López y Carolina Mendiguchía Martínez
- 13:30 Almuerzo**

- 15:30 Comunicaciones Orales y Premio GRASEQA**
CO-05: *Estevia: Cuantificación de glicósidos de esteviol mediante LC-QqQ e identificación de otros compuestos mediante LC-QTOF*
 María Molina Calle (Universidad de Córdoba)
CO-06: *Analysis of ree in basalt, cement, shale, rock and stream sediment crms by ICP-QMS*
 Rui Santos (Analytik Jena AG)
CO-07: *Using high resolution mass spectrometry for food safety analysis.*
 Nuria Cortés-Francisco (Laboratori de l'Agència de Salut Pública de Barcelona)
CO-08: (Premio GRASEQA): *Desarrollo de herramientas metabolómicas y metalómicas para el estudio de la enfermedad de Alzheimer*
 Raúl González Domínguez (Universidad de Huelva)
Moderadores: Loreto Lunar Reyes y José Miguel Vadillo López
- 16:45 Café / Sesión de Póster**
- 17:15 Conferencia Invitada (CI-2):** *New results on the trilogy: food, cancer & foodomics*
 Prof. Alejandro Cifuentes (CSIC, Madrid)
Moderadores: Antonio Molina Díaz y Luis Cuadros Rodríguez
- 20:30 Acto con motivo de la celebración del XXV aniversario de GRASEQA. Entrega de premios**

VIERNES 1 de JULIO

- 9:00 Comunicaciones Orales (CO)**
CO-09: *An effective microchip-liquid phase microextraction integration (LPME-CHIP) for the determination of parabens in environmental samples*
 María Dolores Ramos Payán (Universidad Autónoma de Barcelona)
CO-10: *Empleo de técnicas novedosas de extracción para la determinación de antocianinas en frutos "rojos"*
 Gerardo Fernández Barbero (Universidad de Cádiz)
CO-11: *Multi-compound and multi-class identification and quantification using high resolution LC-MS/MS*
 Alexandre Paccou (Sr Manager Support EMEA)
CO-12: *Cromatografía multidimensional LCxLC y LC-LC: La solución para mejorar la resolución y eficiencia analítica*
 Isidre Masana González, Jens Trafkowski (Agilent Technologies)
Moderadores: Agustín García Asuero y Juan Francisco García Reyes
- 10.15 Conferencia Invitada (CI-3):** *Nanosensors and other techniques for detecting nanoparticles in the environment*
 Prof. Yolanda Picó (Universidad de Valencia)
Moderadores: Luis Fermín Capitán Vallvey y Feliciano Priego Capote
- 11:00 Café / Sesión de Póster**
- 11:30 Comunicaciones Orales (CO)**
CO-13: *Determinación colorimétrica de glucosa basada en un MOF como mimético de la peroxidasa implementado en un sistema microfluídico*
 Inmaculada Ortiz Gómez (Universidad de Granada)
CO-14: *Disolventes supramoleculares de ácidos alquilfosfónicos: una nueva alternativa a los disolventes orgánicos en procesos analíticos*
 Guillermo García Moreno (Universidad de Córdoba)
CO-15: *Separación bidimensional no cromatográfica de compuestos volátiles por tamaños y composición mediante acoplamiento de un analizador de movilidad diferencial plano a un espectrómetro de masas comercial*
 José Miguel Vadillo (Universidad de Málaga)
CO-16: *Innovaciones en la enseñanza-aprendizaje de los principios de Química Analítica*
 Miguel Valcárcel Cases, Ángela I. López-Lorente, María Ángeles López-Jiménez
Moderadores: José Luis Gómez Ariza y Esteban Alonso Álvarez
- 12:30 Asamblea General del GRASEQA**
- 13:30 Clausura de la Reunión y Cóctel de despedida**

The text is framed by a decorative L-shaped graphic consisting of two parallel blue lines. One line is vertical on the left, and the other is horizontal at the bottom, meeting at a corner to the left of the text.

CONFERENCIAS INVITADAS

LA RESPONSABILIDAD SOCIAL DE LA QUÍMICA ANALÍTICA

Miguel Valcárcel Cases, Rafael Lucena Rodríguez

Dpto. Química Analítica. Campus de Rabanales. Universidad de Córdoba. 14071
Córdoba (España)

Al igual que hace varias décadas los sistemas de calidad impactaron en la Química Analítica, hoy y mañana los sistemas de Responsabilidad Social (RS) son y serán claves en esta disciplina, ya que añaden una nueva dimensión a la misma.

La charla se inicia con una contextualización de la Química Analítica como disciplina independiente en el contexto de la Química, teniendo en cuenta las aproximaciones erróneas frecuentes sobre la misma y los nuevos paradigmas que sustituyen los ya obsoletos [1, 2].

El concepto genérico de la RS se define sistemáticamente en la segunda parte de la charla, a través de las definiciones clave, las características de la RS y los soportes documentales, así como las connotaciones internas y externas de la misma respecto a un área u organización.

En el contexto de la RS de la Ciencia y Tecnología [3] se incluye la RS de la Química Analítica [4], correspondiente a la de la información (bio)química, detallada en la tercera parte de la charla.

Las connotaciones internas de la RS de la información (bio)química se refieren a su producción fiable y sostenible, lo que significa que tiene dos facetas: la primera de ellas es la de sostenibilidad, materializada en los denominados “métodos sostenibles de análisis” [5]; la segunda faceta es la producción de información de calidad, es decir, coherente con la realidad (bio)química que se pretende describir.

Las connotaciones externas de la RS de la información (bio)química implican el suministro de información o conocimiento necesario, del laboratorio a la sociedad, para tomar decisiones fundamentadas y a tiempo. Se trata de la proyección socio-económica de la Química Analítica. Se describe una amplia variedad de desviaciones o errores en este contexto, tales como: desconocimiento de la información requerida, tipos de la misma, experiencia técnica del receptor de la información, forma de la transmisión, grado de impacto de esta información y manipulación externa de la información (bio)química. Toda esta casuística se ilustra con ejemplos específicos de la vida real.

[1] M. Valcárcel. “Quo Vadis Analytical Chemistry”. *Anal. Bioanal. Chem.*, 408 (2016), 13-21.

[2] M. Whitesides. “Reinventing Chemistry”. *Angewandte Chemie Int.*, 54 (2015) 3196-3207.

[3] P. Krogsgaard-Larsen, P. Thoustrup, F. Besenbacher. “Scientific Social Responsibility: A call to arms”. *Angewandte Chemie Int.*, 50 (2011), 2-4.

[4] M. Valcárcel, R. Lucena. “Social Responsibility in Analytical Chemistry”. *Trends Anal. Chem.*, 31 (2012), 1-7.

[5] M. de la Guardia, S. Garrigues. Editors. “Handbook of Green Analytical Chemistry”. *J. Wiley & Sons, Chichester (UK)* (2012).

NEW RESULTS ON THE TRILOGY: FOOD, CANCER & FOODOMICS**Alejandro Cifuentes**

Foodomics Lab, CIAL, CSIC, Nicolás Cabrera 9, 28049 Madrid, a.cifuentes@csic.es

Bioactivity of food compounds is investigated in our Foodomics Laboratory at molecular level using advanced omics platforms including transcriptomics, proteomics and/or metabolomics. During the last year [1-12], one of the main topics in our lab has been the search of new bioactive food compounds with anti-cancer activity. This work has included:

- i) The development of new green extraction processes to obtain bioactive compounds from different natural sources (algae, microalgae, food by-products, plants, etc.) [1-3];
- ii) The determination of the antiproliferative effect of the new extracts against different in vitro and in vivo models of colon cancer [4,5];
- iii) The development of advanced analytical approaches including metabolomics profiling based on comprehensive LCxLC-MS/MS for the chemical characterization of the bioactive extracts [6,7];
- iv) The identification of genes, proteins and metabolites differentially expressed in cancer cells using whole-transcriptome microarrays followed by RT-PCR confirmation, proteomics based on nano-LC-MS and/or non-targeted whole-metabolome approaches based on LC-MS and CE-MS [8-11] and;
- v) The development of different algorithms for the comprehensive analysis of these MS-based datasets [12].

These strategies represent a good example of the important challenges that the work on Foodomics brings to the fields of Analytical Chemistry and bioactive food compounds and allow us to discuss some of the current and future challenges that still need to be addressed in that area of research.

References:

- [1] Gilbert-López et al. 2015. *Green Chemistry* 17, 4599-4609
- [2] Sanchez-Camargo et al. 2016. *Journal of Supercritical Fluids* 107, 581-589
- [3] Sanchez-Camargo et al. 2016. *Food Chemistry* 192, 67-74
- [4] Valdes et al. 2015. *Journal of Functional Foods* 15, 429-439
- [5] Valdés et al. 2016. *Electrophoresis* (in press, DOI: 10.1002/elps.201600014)
- [6] Montero et al. 2016. *Journal of Chromatography A* 1428, 115-125
- [7] Montero et al. 2016. *Analytica Chimica Acta* 913, 145-159
- [8] Ibáñez et al. 2015. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 110, 83-92
- [9] Acunha et al. 2015. *Electrophoresis* 36, 1564-1571
- [10] Acunha et al. 2016. *Journal of Chromatography A* 1428, 326-335
- [11] Valdés et al. 2016. *Journal of Proteome Research* (submitted)
- [12] Erny et al. 2016. *Journal of Chromatography A* 1429, 134-141

NANOSENSORS AND OTHER TECHNIQUES FOR DETECTING NANOPARTICLES IN THE ENVIRONMENT

Yolanda Picó¹, Vicente Andreu²

¹ Environmental and Food Safety Research Group (SAMA-UV), Desertification Research Centre CIDE (CSIC-UV-GV), Faculty of Pharmacy, University of Valencia, Av. Vicent Andrés Estellés s/n, Burjassot, 46100 Valencia, Spain

² Landscape Chemistry and Environmental Forensics Group, CIDE (CSIC-UV-GV), Carretera Moncada, Náquera, Km. 4.5, Moncada, 46113 Valencia, Spain

The recent advances in nanotechnology and the corresponding increase in the use of nanomaterials in products of every sector of society have resulted in uncertainties regarding their environmental impacts. Nanoparticles are becoming emerging contaminants for which human and ecological exposure and effects need to be assessed to characterize the hazards and risks [1, 2]. However, detecting nanomaterials in the environment is a demanding task, not only because of the extremely small size of the particles and their potential sequestration and agglomeration, but also because of their unique physical and chemical characteristics. This presentation will assess several ways to tackle the challenge of engineered nanomaterials detection in the environment. The need for standard reference and testing materials as well as methodology for suspension preparation and testing will be highlighted. Special attention will be paid to the approach that recently raised is the so-called “third way” in analytical nanoscience and nanotechnology (AN&N) that involves the application of nanomaterials based sorbents or sensors to nanomaterials extraction and/or determination [3]. The presented overview of the available analytical techniques used for the detection and characterization of nanoparticles in environmental matrices including particle-size analysis, particle-fraction concentration counts, surface-area analysis, morphology, and particle chemical composition analysis will pointed out how nanoparticles analysis is still in its infancy. Sample preparation, imaging techniques (electron microscopy, scanning electron microscopy, or X-ray microscopy), separation methods (e.g. flow field fractionation, electrophoresis, liquid chromatography, hydrodynamic chromatography), and detection/characterization techniques (e.g. light scattering, inductive coupled plasma, mass spectrometry) will be discussed. There are already a few non-well resolved protocols established for the determination of some of them. For example, in the case of wet metals digestion followed by ICP-MS and complemented by SEM or TEM to demonstrate that these metals were present as nanoforms. Clearly the analysis of nanoparticles in the environment is not question of a single analytical technique, but rather a combination of multiple sophisticated procedures and instrumentation. Further development and application of these promising methods will provide research opportunities and challenges for the foreseeable future.

Acknowledgement: This work has been supported by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness through the projects CGL2015-64454-C2-1-R and CGL2015-64454-C2-2-R and the University of Valencia through the project UV-INV-AE15-348995.

[1] D. Barceló, M. Farré, J. Bennett, M. Hanson (Compilers). Nanomaterials in the Environment. *Sci. Total Environ.* Special Virtual Issue.

[2] Y. Picó, V. Andreu. Chapter 12, in Nanosensors for Chemical and Biological Applications (Ed. K. C. Honeychurch), Woodhead Publishing, 2014

[3] Á.I. López-Lorente, M. Valcárcel, *TrAC Trends Anal. Chem.* 75 (2016) 1-9.

The text is framed by a decorative graphic consisting of two L-shaped lines. The inner line is a thin blue line, and the outer line is a slightly thicker blue line. Both lines start from the left and extend downwards, then turn 90 degrees to the right and extend horizontally to the right, creating a partial frame around the text.

COMUNICACIONES ORALES

APLICACIÓN DE LA ESTRATEGIA DE CLASIFICACIÓN MULTIVARIANTE DE 'PSEUDO' DOS CLASES DE ENTRADA (UNA CLASE DIANA + UNA CLASE "FANTASMA") EN LA AUTENTIFICACIÓN DE ACEITE DE OLIVA

A.M Jiménez Carvelo, E. Pérez Castaño, A. González Casado, L. Cuadros Rodríguez

Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, C/ Fuentenueva, sn, Granada 18071, España

La aplicación tradicional de un método de clasificación binaria, basada en un tratamiento de datos multivariable (por ejemplo, un espectro o un cromatograma), requiere el entrenamiento del modelo utilizando objetos genuinos o auténticos de ambas clases (patrones), definidas como "clases de entrada": la clase objetivo del estudio o clase diana ('target class') y la clase alternativa.

Pero también es posible llevar a cabo el mismo método de clasificación entrenando el modelo con una sola clase de entrada, la clase diana. Por ejemplo, en problemas relacionados con la autentificación de alimentos, esta metodología presenta algunas importantes ventajas derivadas del hecho de que no es necesario tener un amplio banco de muestras de diferentes alimentos, sino que el modelo puede ser entrenado sólo con objetos representativos del alimento de interés (clase diana). De esta forma se reduce significativamente el tiempo y el coste de los análisis a realizar.

Cuando se aplican métodos quimiométricos de modelado de clases como técnica de clasificación, como SIMCA ('soft independent modelling by class analogy'), este enfoque se puede aplicar con facilidad ya que este tipo de métodos generan el modelo de clasificación a partir de cada clase considerada de forma independiente. Sin embargo en el caso de métodos de análisis discriminante, como PLS-DA ('partial least squares-discriminant analysis') o SVM-C ('support vector machine-classification'), no es posible entrenar el modelo sólo con una sola clase de entrada, sino que es ineludible definirlo, como mínimo, utilizando objetos de dos clases de entrada, ya que el método trabaja delimitando una frontera entre las regiones características de cada clase.

No obstante, es posible aplicar este tipo de métodos utilizando únicamente los objetos de la clase diana y definiendo una nueva clase ficticia de entrada, denominada clase "fantasma" ('dummy class'). Esta estrategia, diseñada y puesta a punto en nuestro grupo de investigación, podría denominarse como de "pseudo" dos clases de entrada.

En esta comunicación se presentarán los fundamentos para la aplicación de dicha estrategia, y se compararán los resultados obtenidos en la aplicación de diferentes modelos de clasificación generados, a partir de huellas dactilares cromatográficas ('chromatographic fingerprints'), para diferenciar aceite de oliva de otros aceites vegetales utilizando: (i) una clase de entrada, (ii) dos clases de entrada y (iii) "pseudo" dos clases de entrada.

L. Cuadros Rodríguez, E. Pérez Castaño, C. Ruiz Samblás, Quality performance metrics in multivariate classification methods for qualitative analysis (*enviado para publicación*).

A.M. Jiménez Carvelo, E. Pérez Castaño, A. González Casado, L. Cuadros Rodríguez, One-input and two-input class classifications for differentiating olive oil from other edible vegetable oils by use of the normal phase liquid chromatography fingerprint of the methyltransesterified fraction (*enviado para publicación*).

NANOFLOW LIQUID CHROMATOGRAPHY HIGH RESOLUTION MASS SPECTROMETRY FOR ROUTINE PESTICIDE RESIDUE ANALYSIS IN FOOD

David Moreno-González¹, Antonio Molina-Díaz^{1,3} and Juan F. García-Reyes¹

¹ 1Analytical Chemistry Research Group, Department of Physical and Analytical Chemistry, University of Jaén, 23071 Jaén (Spain)

² Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación, CIAL (CSIC-UAM), Nicolás Cabrera, 9, 28049 Madrid, Spain

³ Center for Advanced Studies in Olives Grove and Olive Oils (CEAOAO), Science and Technology park GEOLIT, E-23620 Mengíbar, Spain

This communication reports on the use of nanoflow liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) for routine pesticide residue analysis in food. The approach is based on the use of reversed-phase C18 nano columns (0.075 mm diameter x 150 mm length, 3µm particle size, 100 Å pore diameter) furnished with a nanoemitter tip so that separation and ionization are performed in a single item, thus minimizing dead volumes and increasing ionization efficiency and boosting sensitivity compared to analytical-scale LC-MS methods, provided the 1000-fold lower flow rate used (300 nL/min). The nanoflow LC system was combined with full-scan high resolution mass spectrometry using a Q-Exactive Orbitrap instrument operated at a resolution of 70000, including a fragmentation event for confirmatory purposes. The analytical performance for over 60 representative pesticides was assessed in five representative commodities (tomato, baby food, orange, fruit-based jam and olive oil). From the results obtained, the sensitivity achieved with this configuration enables the implementation of high dilution factors (eg. 1:20, 1:50 or beyond) in pesticide residue workflows without compromising sensitivity and yet, performing limit of quantitation in the low ng Kg⁻¹ range (eg. ca. 1000-fold lower than the maximum residue levels set). With this dilution factors, signal suppression was found negligible in most cases (< 10 % in most cases, especially with 1:50 dilution), so that matrix-matched standards may eventually be skipped, thus simplifying laboratory workflows. With a standard generic extraction procedure, the equivalent amount of sample injected in the nanoLC-MS system was 20 nanograms (for a dilution 1:50 and 1 µL injected). The robustness of the nanoflow LC system and its capability to withstand long analytical runs was evaluated in terms of both peak area and retention time reproducibility for over 130 injections without major instrument servicing, with appropriate precision within 15 % at different concentration levels. The main benefits of the nano-liquid chromatography coupled to mass spectrometry were the substantial reduction in solvent usage, a high sensitivity gain and notable reduction in matrix effects by applying high sample dilution factors.

Acknowledgment:

The authors acknowledge funding from Junta de Andalucía through Research Project Ref. AGR-6182 and Research Group FQM-323, and the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) through Project Ref. CTQ-2015-71321, partially co-financed with FEDER funds. D.M.G. thanks the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) for a Juan de la Cierva postdoctoral contract.

BÚSQUEDA DE BIOMARCADORES EN SUERO Y LAVADO BRONCOALVEOLAR DE PACIENTES CON CÁNCER DE PULMÓN MEDIANTE TÉCNICAS METABOLÓMICAS BASADAS EN GC-MS.

Belén Callejón Leblic^{1,2,3}, Tamara García Barrera^{1,2,3}, Jesús Grávalos Guzmán⁴, Antonio Pereira Vega⁴, José Luis Gómez Ariza^{1,2,3}.

1. Departamento de Química. Facultad de Ciencias Experimentales. Universidad de Huelva.
2. Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario ceiA3, Universidad de Huelva.
3. Centro de Investigación en Salud y Medioambiente (CYSMA), Universidad de Huelva, Campus de El Carmen, 21007 Huelva.
4. Sección de Neumología. Hospital Juan Ramón Jiménez, Huelva.

El cáncer de pulmón (CP) constituye una de las causas de muerte más comunes por neoplasia en el mundo provocando más de 1,3 millones de muertes al año [1,2]. La búsqueda de biomarcadores en diferentes fluidos biológicos, para su diagnóstico precoz es actualmente un reto de gran importancia en medicina. En este sentido, el uso de la metabolómica como técnica de análisis desempeña un papel fundamental, ya que permite analizar el mayor número de metabolitos posibles, que pueden modificar su concentración en respuesta a alteraciones metabólicas producidas por enfermedades, y que por tanto, pueden servir como marcadores de diagnóstico.

En este estudio, se ha desarrollado un procedimiento metabolómico basado en la cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas (GC-MS) para determinar los perfiles metabolómicos en dos fluidos biológicos procedentes de pacientes con cáncer de pulmón: suero sanguíneo (SS) y lavado broncoalveolar (LBA). LBA es un fluido de gran interés para el diagnóstico del CP ya que proporciona información sobre secreciones pulmonares reales. Además hay que considerar que no hay antecedentes sobre el uso de LBA para este propósito, por lo que nuestro estudio aporta nuevas contribuciones a la patología del CP.

El tratamiento previo de las muestras de SS y LBA se basó en la precipitación de proteínas con disolventes alcohólicos, y la posterior derivatización de los compuestos para su inyección por GC-MS. Se analizaron un total de 90 muestras de SS y de 55 muestras de LBA pertenecientes a pacientes con CP, pacientes con enfermedades pulmonares sin cáncer, EP, y pacientes sanos, C, con el fin de comparar los perfiles metabolómicos en los dos tipos de muestras establecer tanto coincidencias metabólicas como diferencias entre las mismas.

El análisis multivariante PLS-DA presentó una clara clasificación de los grupos de estudio para ambos tipos de muestra, indicando la existencia de metabolitos alterados causantes de la discriminación entre CP, EP y C, tanto en SS como en LBA. Se identificaron un total de 30 metabolitos alterados en CP en SS y 18 en LBA, involucrados en diferentes rutas metabólicas asociadas a la patología del cáncer. Además, el estudio de rutas metabólicas indicó que el metabolismo de la glicina, treonina y serina fue el más perturbado en CP en ambos tipos de muestras. Finalmente para evaluar la especificidad y sensibilidad de los metabolitos alterados en CP, se procedió a la construcción de las curvas ROC (receiver operator characteristic), cuyo valor del área debajo de la curva es indicativo del potencial de un biomarcador para una determinada enfermedad.

[1] R. Lozano, Lancet. 380 (2012) 2095–128.

[2] A. Jemal, CA. Cancer J. Clin. 61 (2011) 69–90.

DETERMINACIÓN DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS PERFLUORADOS EN LECHE MATERNA MEDIANTE EXTRACCIÓN SOBRE BARRAS AGITADORAS DE POLIETILENGLICOL

Julia Martín¹, Rocío Rodríguez-Gómez², Juan Luis Santos¹, Irene Aparicio¹, Esteban Alonso¹, Alberto Zafra-Gómez², José Luis Vílchez², Alberto Navalón²

¹Dpto. de Química Analítica, Escuela Politécnica Superior, Universidad de Sevilla
C/ Virgen de África 7, 41011 Sevilla (España)

²Dpto. de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada
Avenida de la Fuente Nueva S/N, 18071 Granada (España)

Los contaminantes orgánicos perfluorados, presentes en numerosos objetos de nuestra vida cotidiana, forman parte de los llamados contaminantes emergentes, que empiezan a ser regulados por ley y cuyos efectos sobre los organismos y el medio ambiente aún no están, todavía, bien evaluados [1]. Estos compuestos se aplican en muchos productos industriales y domésticos por su resistencia al calor y su capacidad de repeler el agua y el aceite [1].

La leche materna se ha utilizado como marcador biológico de la contaminación ambiental ya que, por los procesos de bioacumulación en tejido graso, muchos compuestos químicos alcanzan concentraciones fácilmente medibles en esta matriz [2]. Dada la complejidad de la misma, y las dificultades que ofrece para su estudio desde un punto de vista analítico, este trabajo se ha centrado en la optimización y validación de una nueva y sencilla metodología analítica para la determinación de cinco compuestos perfluorados (cuatro ácidos carboxílicos perfluorados (de C5 a C8) y el sulfonato de perfluorooctano) en leche materna mediante extracción sobre barras agitadoras, previa precipitación química de grasas y proteínas, y posterior análisis mediante cromatografía de líquidos de ultra-resolución acoplada a espectrometría de masas en tándem (UHPLC-MS/MS).

Para llevar a cabo el proceso de extracción se evaluaron dos materiales de recubrimiento diferentes (polidimetilsiloxano (PDMS) y polietilenglicol (PEG)). PEG presentó mejor sensibilidad en todos los casos. Tras la optimización de las variables experimentales, el método fue validado alcanzando unos límites de detección en leche entre 0,05 a 0,20 ng/mL; porcentajes de recuperación entre 81 a 105 % y desviaciones estándar relativas inferiores a 13 %, en todos los casos. El método se aplicó a muestras de leche de 5 mujeres seleccionadas al azar. Todas las muestras fueron positivas para al menos uno de los compuestos de interés con concentraciones entre 0,8 y 6,6 ng/mL, siendo el sulfonato de perfluorooctano el más abundante.

[1] E. Corsini E, R.W. Luebke, D.R. Germolec, J.C. DeWitt, *Toxicol. Lett.* 230 (2014) 263–270.

[2] A Kärman, I. Ericson, B. van Bavel, P.O. Darnerud, M. Aune, A. Glynn, S. Lignell, G. Lindström, *Environ. Health Perspect.* 115 (2007) 226–230.

**ESTEVIÁ: CUANTIFICACIÓN DE GLICÓSIDOS DE ESTEVIOL MEDIANTE LC-QqQ
E IDENTIFICACIÓN DE OTROS COMPUESTOS MEDIANTE LC-QTOF**

María Molina-Calle^{1,2,3}, Feliciano Priego-Capote^{1,2,3}, María Dolores Luque de Castro^{1,2,3}

¹Departamento de Química Analítica, Edificio Marie Curie Anexo, Campus de Rabanales, Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba, España

²Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMBIC), Hospital Universitario Reina Sofía, Universidad de Córdoba, 14004 Córdoba, España

³Campus de Excelencia Agroalimentario (ceiA3), Campus de Rabanales, Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba, España

La estevia ha ganado recientemente popularidad gracias a su sabor dulce, lo que la ha convertido en una buena alternativa a los edulcorantes artificiales. Los compuestos responsables de esta propiedad son los denominados glicósidos de esteviol, formados por esteviol (un diterpeno) enlazado a distintos azúcares. Estos compuestos han sido aprobados recientemente como aditivos alimentarios seguros, por lo que existe un creciente interés en su estudio. Sin embargo, la gran mayoría de estudios publicados centra su atención en los glicósidos de esteviol y poco se ha incidido en otros compuestos presentes en estevia que pueden aportarle un valor añadido.

La investigación aquí presentada consta de dos partes: la cuantificación de glicósidos de esteviol en estevia cultivada en el sur de España y la identificación de otros compuestos presentes en la hoja de la planta. Primero, se optimizó el procedimiento de análisis de los glicósidos de esteviol, en el que se usó un cromatógrafo de líquidos acoplado a un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (LC-QqQ). Con el método propuesto, se alcanzaron límites de cuantificación y de detección de 0.5 y 0.1 ng/mL respectivamente —los menores reportados en bibliografía; por tanto, es el método más sensible propuesto hasta ahora para el análisis de estos compuestos. Se analizaron muestras de hojas de estevia cultivada en laboratorio, en invernadero y en campo, obteniéndose una concentración significativamente mayor en las cultivadas en campo. Por último, se evaluaron las hojas frente a las hojas más los tallos de la planta como material para la extracción de los glicósidos de esteviol, obteniéndose diferencias significativas en función del compuesto.

En la segunda parte de esta investigación se usó un cromatógrafo de líquidos acoplado a un espectrómetro de masas de alta resolución (LC-QTOF) programado en el modo de resolución MS/MS para la identificación de otros compuestos presentes en las hojas de estevia. Algunas de las familias de compuestos más relevantes identificadas en las muestras fueron: ácido quínico, cafeico y derivados, flavonoides, glicósidos de esteviol, aminoácidos, ácidos grasos, glicerolípidos y amidas de ácidos grasos. Los ácidos cafeoilquínicos proporcionaron picos cromatográficos de una gran intensidad, equiparable a la de los glicósidos de esteviol, por lo que su alta concentración puede aportar una significativa capacidad antioxidante a la estevia y a sus productos. Además de los glicósidos de esteviol conocidos hasta la fecha, se identificaron nuevos compuestos pertenecientes a esta familia y en función de su patrón de fragmentación se consiguió proponer y justificar su estructura. Por último, se propuso una estrategia para la identificación de las amidas de ácidos grasos, ya que son compuestos poco estudiados hasta la fecha y no están contemplados en las bases de datos de espectrometría de masas.

Agradecimientos: Se agradece a la empresa Vitrosur S.L. el suministro de muestras de estevia.

**ANALYSIS OF REE IN BASALT, CEMENT, SHALE, ROCK AND STREAM
SEDIMENT CRMS BY ICP-QMS**

Rui Santos¹, Sebastian Wünscher¹, Heike Gleisner¹, René Chemnitzer¹

¹ Analytik Jena AG
Analytical Instrumentation
Konrad-Zuse-Strasse 1
07745 Jena / Germany

Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry (ICP-MS) is at the present time the most used instrumental method for rare earth elements (REE) quantification. Nevertheless, its applicability in the analysis of geological samples exhibits some constraints, since the accuracy of the data is largely dependent, both on complete sample dissolution and adequate correction of polyatomic species MO^+ and MOH^+ . Within this method development, five geological reference materials, three from Geopt proficiency-testing program: HPT-1, OPC-1, SBC-1, and two from MC Chinese Reference Materials: GBW 7103 and GBW 7359, were employed to validate the options made for sample digestion and polyatomic corrections. The obtained analytical results for samples of different matrices demonstrate the applicability of this method and instrument in various geological studies such as petrology and mineralogy. The PlasmaQuant[®] MS Elite allows for a significant reduction of oxide / hydroxide levels in collision gas mode while achieving high sensitivity. This results in limits of detection of 0.1 to 2 ppt in the presence of Na_2O_2 matrix and allows for running the analysis of REE without pre-defined correction equations. It is therefore a perfect tool for the analysis of REE in different geological applications.

Acknowledgement: Analytik Jena AG wants to thank the Geological Survey of Portugal (LNEG) for performing the digestion procedure of the investigated geological reference materials.

USING HIGH RESOLUTION MASS SPECTROMETRY FOR FOOD SAFETY ANALYSIS

N. Cortés-Francisco^{1(*)}, I. Beguiristain¹, E. Muñoz¹, F. Centrich¹, A. Rubies¹

1. Laboratori de l'Agència de Salut Pública de Barcelona (LASPB) ^(*)ncortes@aspb.cat

Nowadays, the most common techniques for the analysis of organic compounds in food samples are liquid chromatography (LC) and gas chromatography (GC), both coupled to triple quadrupole mass spectrometers (QqQ-MS). In the Laboratori de l'Agència de Salut Pública de Barcelona (LASPB), more than 15000 samples per year are analyzed in a wide range of food commodities using these techniques.

It is well-known that QqQ provides excellent sensitivity and are extensively used in routine analysis. While sensitivity is essential to analyze low concentration levels, selectivity is also of paramount importance to assure reliable results and to avoid false positive/negative results. Using QqQ some difficulties may arise concerning confirmation criteria as established in Decision 2002/657/EC or SANTE/11945/2015, due to interferences and complex matrices.

In this sense, high resolution mass spectrometry (HRMS) offers an outstanding performance, and is an attractive approach for the confirmatory analysis of several compounds in food samples. HRMS hybrid instruments, such as quadrupole-Orbitrap, start to be introduced as analyzing systems in food safety control laboratories. This instrumentation is a very valuable tool for highly demanding analysis, but also, as a second stage, to confirm doubtful results obtained with low resolution MS/MS.

Since 2011, the LASPB has been using HRMS for daily routine analysis. More than 15 internal procedures for veterinary drugs, pesticides, marine toxins and brominated flame retardants include the use of HRMS, which involve the analysis of 3000 samples / year using this technique. In the present work, some real examples will be shown using LC and GC coupled to QqQ in front of LC and GC coupled to HRMS to resolve some problems arising from matrix interferences and to confirm the presence of prohibited substances.

DESARROLLO DE HERRAMIENTAS METABOLÓMICAS Y METALÓMICAS PARA EL ESTUDIO DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Raúl González-Domínguez

Departamento de Química “Profesor José Carlos Vilchez Martín”, Universidad de Huelva. raul.gonzalez@dqcm.uhu.es

Aunque la enfermedad de Alzheimer es el trastorno neurodegenerativo más común entre la población de edad avanzada, actualmente no existe ninguna cura en gran parte debido a que su etiología es aún desconocida, y las existentes pruebas de diagnóstico muestran grandes limitaciones, incluyendo una baja sensibilidad y especificidad, así como la imposibilidad de detectar de forma precoz la sintomatología característica de esta enfermedad.

El objetivo principal del trabajo aquí presentado fue la optimización de procedimientos metabolómicos y metalómicos basados en la espectrometría de masas, y su posterior aplicación en el estudio de la etiología de la enfermedad de Alzheimer y el descubrimiento de potenciales biomarcadores de diagnóstico. Con el fin de conseguir una cobertura metabolómica integral se optimizaron múltiples plataformas analíticas complementarias, incluyendo procedimientos de *screening* basados en análisis directo mediante espectrometría de masas (DI-ESI-MS, FIA-APPI-MS) y su acoplamiento con distintas técnicas de separación ortogonales (UHPLC-MS, GC-MS, CE-MS). Además, también se desarrolló un procedimiento metalómico basado en el fraccionamiento de metalo-especies según su peso molecular mediante precipitación de proteínas en condiciones no desnaturalizantes y posterior análisis en ICP-MS. La aplicación de estas técnicas en muestras de suero sanguíneo de pacientes afectados por la enfermedad de Alzheimer y deterioro cognitivo leve permitió identificar numerosos mecanismos relacionados con la patogénesis de esta enfermedad y su progresión desde etapas pre-clínicas, incluyendo alteraciones en la composición de lípidos de membrana, déficits en el metabolismo energético y sistemas de neurotransmisión, estrés oxidativo o una homeostasis alterada de múltiples elementos metálicos y metaloides [1-3]. A su vez, estas perturbaciones metabólicas también pudieron observarse en múltiples compartimentos biológicos del modelo APP×PS1, incluyendo suero, cerebro, hígado, riñón, bazo y timo, evidenciando así la utilidad de este ratón transgénico para modelar la enfermedad de Alzheimer. La comparación de distintas regiones cerebrales demostró que las áreas más afectadas por la neuropatología característica de esta enfermedad son el hipocampo y la corteza cerebral, aunque otras regiones también se vieron perturbadas en menor medida [4]. Además, las alteraciones detectadas en los órganos periféricos permiten confirmar la naturaleza sistémica de este trastorno neurodegenerativo [5]. De este modo, se puede concluir que el uso combinado de múltiples técnicas metabolómicas y metalómicas en distintas matrices biológicas, tanto de pacientes humanos como animales modelo, permite estudiar en profundidad la etiología asociada a la enfermedad de Alzheimer, y descubrir así posibles biomarcadores de diagnóstico.

Agradecimientos: Al Ministerio de Educación, Cultura y Deporte por la concesión de una beca pre-doctoral de Formación del Profesorado Universitario (AP2010-4278).

- [1] R. González-Domínguez et al. *Anal. Bioanal. Chem.* 406 (2014) 7137-7148.
- [2] R. González-Domínguez et al. *Talanta* 131 (2015) 480-489.
- [3] R. González-Domínguez et al. *Metallomics* 9 (2014) 292-300.
- [4] R. González-Domínguez et al. *Biochim. Biophys. Acta* 1842 (2014) 2395-2402.
- [5] R. González-Domínguez et al. *Electrophoresis* 36 (2015) 2237-2249.

AN EFFECTIVE MICROCHIP – LIQUID PHASE MICROEXTRACTION INTEGRATION (LPME-CHIP) FOR THE DETERMINATION OF PARABENS IN ENVIRONMENTAL SAMPLES

María Ramos Payán^{1,3}, Santiago Maspoch², Andreu Llobera¹

¹ Microelectronic National Centre of Barcelona, Spain

² Autonomous University of Barcelona, Spain

³ University of Seville, Spain

This experimental work reports the first microfluidic-chip based system for liquid-phase microextraction (LPME-chip) for the determination of the most widely used parabens in environmental samples. The device allows an excellent clean-up sample preparation.

Their presence as emergent pollutants¹⁻² has led to their regulation in commercial products by the European Economic Community that has limited a maximum concentration of each individual paraben to 0.4% (w/w) and 0.8% (w/w) for total parabens, expressed as p-hydroxybenzoic acid (PHBA) equivalent³. In the recent years, different liquid phase microextraction procedures have been used for parabens extractions⁴⁻⁷ by high performance liquid chromatography (HPLC) or capillary electrophoresis (CE) coupled to diode array detector (DAD) or mass spectrometry (MS, MS/MS) detection.

In this work we designed and fabricate a microfluidic device with double channel and a deep of 80 μm in order to decrease the diffusion distances between the acceptor and donor phase resulting in very efficient extractions. The extraction was based on a pH gradient across the support liquid membrane (SLM). This device allow to replace the membrane once it gets saturated after many extractions. Four parabens were extracted from the sample (pH 3) to the acceptor phase (pH 11.75) and dihexylether as SLM. Sample and acceptor phase flow rate range was tested within the range 1–30 $\mu\text{L min}^{-1}$ and 1-4 $\mu\text{L min}^{-1}$, respectively. Acceptor phase was analyzed off-line by HPLC for exact quantification. This novel procedure resulted in a very effective device where the extraction efficiencies were over 95 % and the analyte can be enriched by a factor of 60 under stop-flow conditions with just 1,3 μL reagent consumption. This powerful proposed procedure is demonstrated for the quantification of parabens in lake and river water samples at low concentration producing an excellent clean-up without sample dilution.

[1] G. Auduson, *Anal. Chem.* 58 (1986) 2714.

[2] E. Thordarson, S. Pálmarsdóttir, L. Mathiasson, J.Å. Jönsson, *Anal. Chem.* 58 (1996) 25

[3] W. Liu, L. Zhang, L. Fan, Y. Cai, Z. Wei, G. Chen, *J. Chromatogr. A* 1233 (2012) 1.

[4] S. Pedersen-Bjergaard, K.E. Rasmussen, *Anal. Chem.* 71 (1999) 2650.

[5] T. Sikanen, S. Pedersen-Bjergaard, H. Jensen, R. Kostianen, K.E. Rasmussen, T. Kotiaho, *Anal. Chim. Acta* 658 (2010) 133.

[6] N.J. Petersen, H. Jensen, S.H. Hansen, S.T. Foss, D. Snakenborg, S. Pedersen- Bjergaard, *Microfluid Nanofluid* 9 (2010) 881.

[7] María D. Ramos Payán, Bin Li, Henrik Jensen, Nickolaj Jacob Petersen, Steen Honoré Hansen, and Stig Pedersen-Bjergaard. *Analytica Chimica Acta.* 735, 46-53

EMPLEO DE TÉCNICAS NOVEDOSAS DE EXTRACCIÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTOCIANINAS EN FRUTOS “ROJOS”

Gerardo Fernández Barbero¹, Ceferino Carrera Fernández², Marta Ferreiro González¹, Miguel Palma Lovillo¹, Carmelo García Barroso¹

¹ Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (ceiA3), IVAGRO, P.O. Box 40, 11510 Puerto Real, Cádiz, España.

² Centro Andaluz de Investigaciones Vitivinícolas, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (ceiA3), IVAGRO, Universidad de Cádiz, Campus de Puerto Real, 11510 Puerto Real, Cádiz, España.

Las antocianinas son pigmentos hidrosolubles ampliamente extendidos en el reino vegetal y que otorgan el color rojo, púrpura o azul a las hojas, flores y frutos. Desde el punto de vista químico, las antocianinas pertenecen al grupo de los flavonoides y son glucósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace glucosídico. Sus funciones en las plantas son múltiples, desde la de protección de la radiación ultravioleta hasta la de atracción de insectos polinizadores. Se ha demostrado que esta familia de compuestos tiene unos marcados efectos antioxidantes, antiinflamatorios y anticancerígenos, entre otros [1]. Esto ha ocasionado que el consumo de frutos o alimentos que posean un alto contenido en este tipo de compuestos tengan un auge en su consumo. En el presente trabajo se ha evaluado el potencial que tienen tres técnicas novedosas de extracción de compuestos naturales en matrices vegetales, como son la extracción asistida por ultrasonidos (UAE), la extracción asistida por microondas (MAE) y la extracción mediante fluidos presurizados (PLE). En el desarrollo de las técnicas de extracción de antocianinas se ha utilizado un diseño de experimentos de tipo Box-Behnken. Mediante UAE el diseño de experimentos ha empleado 6 variables independientes (temperatura, porcentaje de metanol en el disolvente de extracción, pH del disolvente de extracción, amplitud, ciclo de UU y relación cantidad de muestra/volumen de disolvente), mediante PLE otras 6 variables (temperatura, presión, porcentaje de metanol en el disolvente de extracción, pH del disolvente de extracción, volumen de lavado y tiempo de purga) y mediante MAE 4 variables (temperatura, porcentaje de metanol en el disolvente de extracción, pH del disolvente de extracción, y relación cantidad de muestra/volumen de disolvente). Estos diseños se han empleado para la extracción de antocianinas en diversos frutos rojos como moras, zarzamoras, endrinas, arándanos, açai o jabuticaba. La identificación de las antocianinas se ha realizado mediante UHPLC-Q-ToF-MS y su análisis por UHPLC-UV-Vis. Se ha observado que para la extracción de antocianinas totales los parámetros que más influyen, en general, en las tres técnicas de extracción son el porcentaje de metanol en el disolvente de extracción y la temperatura de extracción. Empleando las condiciones óptimas de extracción para cada técnica, por lo general no se observan diferencias significativas en la cantidad total de antocianinas extraídas con las tres técnicas estudiadas, si bien es cierto que visualmente se observa que es la extracción asistida por fluidos presurizados la que obtiene mejores rendimientos de extracción. Los métodos desarrollados se han empleado para la extracción de antocianinas en alimentos elaborados con frutos rojos, observando la aplicabilidad de dichas técnicas en estas matrices.

[1] R. Guimarães, L. Barros, R.C. Calheta, A.M. Carvalho, M.J.R.P. Queiroz, I.C.F.R. Ferreira, *Plant Foods Hum. Nutr.* 69 (2014) 37-42.

MULTI-COMPOUND AND MULTI-CLASS IDENTIFICATION AND QUANTIFICATION USING HIGH RESOLUTION LC-MS/MS

Alexandre Paccou, Ashley Sage² André Schreiber¹, Jianru Stahl-Zeng², Michael Deng¹, Vanaja Raguvaran¹

¹ **SCIEX 71 Four Valley Drive, Concord, ON, Canada;**

² **SCIEX Darmstadt, Germany**

LC-MS/MS is a powerful analytical tool for the analysis of polar, semi-volatile, and thermally labile compounds of a wide molecular weight range, such as pesticides, veterinary drugs, mycotoxins and other food residues and contaminants. Mass analyzers based on triple quadrupole technology operated in Multiple Reaction Monitoring (MRM) mode deliver highly selective and sensitive quantitative results and are therefore well established for multi-target screening and quantitation of food contaminants. However, the use of triple quadrupole based mass analyzers limits the number of compound to quantify and identify. In addition there is an increasing demand for retrospective and possibly non-target data analysis. High resolution and accurate mass instruments are capable of performing targeted and non-targeted screening in a single LC-MS/MS run.

Here, a generic QuEChERS procedure was used to extract residues and contaminants from fruit and vegetable samples. Extracts were diluted to minimize potential matrix effects and subsequently analyzed by LC-MS/MS using a SCIEX QTOF system operated in high resolution accurate mass MS and MS/MS mode. Full scan MS and MS/MS data was explored to identify targeted compounds using extensive XIC lists of target compounds. Analytes were identified with high confidence based on retention time matching, mass accuracy, isotopic pattern, and MS/MS library searching. Quantitation was achieved in the same data processing step.

The developed method was successfully applied to the analysis of store-bought samples. It was found that the use of MS/MS information is crucial to minimize false positive results.

Key words: pesticides, high resolution, TOF, LC-MS/MS, quantitation

CROMATOGRAFÍA MULTIDIMENSIONAL LCxLC y LC-LC: La solución para mejorar la resolución y eficiencia analítica

Isidre Masana González¹, Jens Trafkowski²

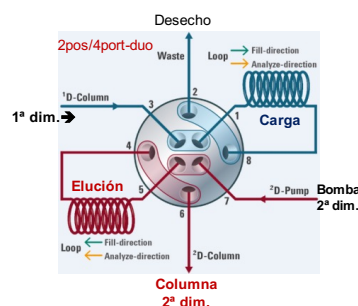
¹ Agilent Technologies. C) Moll Barcelona s/n, World Trade Center, Edificio Sur, 08039-Barcelona e-mail: isidre_masana@agilent.com

² Agilent Technologies. C) Hewlett-Packard-Str. 8, 76337 Waldbronn, GERMANY

La **cromatografía multidimensional (2D-LC)**, mediante la inyección de todo o una parte del efluente de una columna a una segunda columna, permite **mejorar la resolución** de sus separaciones^{1,2}, **duplicando la capacidad de separación de UHPLC y multiplicando por cinco la de HPLC**. La necesaria distinta selectividad de las 2 separaciones se consigue utilizando distintos mecanismos de separación (/fases estacionarias), o la misma, pero a distintos pH's o modificadores, entre otras opciones.

El desarrollo de innovadoras válvulas y softwares de control específicos para 2D-LC, permite de una manera rápida y sencilla, obtener todo el potencial y posibilidades de las diversas modalidades de cromatografía multidimensional:

- **LCxLC: "Comprehensive"**. Permite el análisis de todo el efluente de la primera dimensión.
- **LC-LC: "Heart-Cutting"**. Admite utilizar el tiempo de análisis que interese para la segunda dimensión, pero limita muy considerablemente el número de cortes que se pueden analizar de la primera dimensión.
- **mLC-LC: "Multiple-Heart-Cutting"**. Almacena temporalmente múltiples cortes de la primera dimensión, para poder ser analizados con gradientes no muy rápidos. Así evita limitar considerablemente el número de cortes que se pueden efectuar de la primera dimensión, y permite incluso tomar múltiples cortes de un pico.



Las principales aplicaciones de 2D-LC se centran actualmente³ en la:

- **Separación de muestras complejas:** productos naturales, muestras biológicas, alimentos, muestras medio ambientales, ...
- **Determinación de impurezas, validar la idoneidad de nuevos métodos de separación de impurezas** (/revisión de antiguos).
- **Análisis Quirales + determinación de impurezas en 1 única inyección.**
- Separación de metabolitos, lípidos, péptidos, proteínas, ...
- Separación de polímeros.

Instrumentalmente, para realizar gradientes muy rápidos (LCxLC), la **2ª dimensión en 2D-LC requiere** sistemas de **gradientes con mezcla a alta presión**, que tengan muy pequeños volúmenes de retardo y **permitan trabajar a flujos y presiones elevadas** (típico >2mL/min y >600bars). La primera dimensión, es menos exigente y suele utilizar columnas U/HPLC de pequeño diámetro, a flujos más bien bajos.

[1] H. Poppe, *J.Chrom.* 778 (1997) 3-21.

[2] F. Bedani, H.G. Janssen, *J Sep Sci.* 35 (2012) 1697-711.

[3] P.W.Carr, D.R. Stoll, *2D-LC Principles, Practical Implementation and Applications*. Agilent Technologies Primer (2015); nº publicación 5991-2359EN. Disponible en: <http://www.agilent.com/cs/library/primers/public/5991-2359EN.pdf>

DETERMINACIÓN COLORIMÉTRICA DE GLUCOSA BASADA EN UN MOF COMO MIMÉTICO DE LA PEROXIDASA IMPLEMENTADO EN UN SISTEMA MICROFLUÍDICO

I. Ortiz-Gómez¹, A. Salinas-Castillo¹, B. Fernández² I. de Orbe-Payá¹ y L.F. Capitán-Vallvey¹

¹Ecsens, Departamento de Química Analítica, ²Departamento de Química Inorgánica. Campus Fuentenueva, Universidad de Granada, 18071 Granada.

Los Metal Organic Frameworks (MOFs) son polímeros de coordinación que están formados por la unión de centros metálicos a través de ligandos orgánicos para generar estructuras que se extienden en el espacio en varias dimensiones. Actualmente, se han empezado a utilizar los MOFs como elementos de reconocimiento en sensores colorimétricos debido a su actividad intrínseca como miméticos de enzimas [1].

En este trabajo, hemos desarrollado un dispositivo microfluídico basado en papel (μ PAD) para la determinación colorimétrica de glucosa utilizando un MOF de hierro como elemento catalítico y mimético de la peroxidasa en presencia de glucosa oxidasa (GOx). Este MOF de hierro se caracterizó por difracción de rayos X, microscopía electrónica de barrido y espectroscopía de infrarrojos.

El sistema se basa en un MOF como mimético de la peroxidasa inmovilizado en la zona de detección acoplado a la 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB) como sonda colorimétrica. El resto de los reactivos empleados fueron depositados en el canal de transporte (Figura 1). Se optimizaron diferentes parámetros tales como la concentración de TMB, GOx y MOF, el pH de la reacción, el volumen de muestra, el tiempo de reacción y la posición de los reactivos. En condiciones de funcionamiento óptimas, se observa linealidad con la concentración de glucosa hasta 150 μ M. El μ PAD se ha aplicado a la determinación de glucosa en fluidos biológicos (suero y orina).

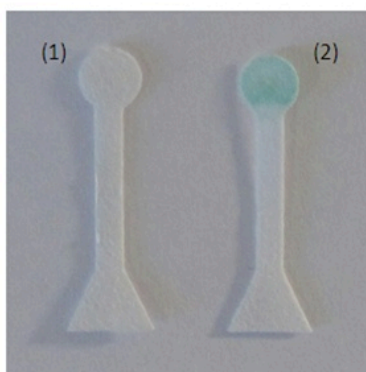


Figure 1. μ PAD antes (1) y después (2) de la reacción con glucosa.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el proyecto CTQ2013-44545-R (MINECO), P10-FQM-5974 (Junta de Andalucía), el Programa de Fortalecimiento de Grupos y el Programa de Reincorporación de Doctores UGR.

Referencias

[1] P. Kumar, A. Deep, K.H. Kim, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 73 (2015) 39-53.

DISOLVENTES SUPRAMOLECULARES DE ÁCIDOS ALQUIFOSFÓNICOS: UNA NUEVA ALTERNATIVA A LOS DISOLVENTES ORGÁNICOS EN PROCESOS ANALÍTICOS

**Guillermo García Moreno, Carmen Caballo Linares,
María Dolores Sicilia Criado, Soledad Rubio**

Departamento de Química Analítica. Facultad de Ciencias. Universidad de Córdoba
Edificio Anexo Marie Curie. Campus de Rabanales, 14071-Córdoba. España
00rotrik99@gmail.com, www.uco.es/sac

Las investigaciones presentadas en este trabajo se centran en la síntesis, caracterización y estudio de la aplicabilidad analítica de nuevos disolventes con características específicas para su uso como alternativa a los disolventes orgánicos en procesos de tratamiento de muestra. La síntesis de estos nuevos disolventes se basa en procesos de autoensamblaje y coacervación de compuestos anfífilicos, estrategia que permite obtener líquidos nanoestructurados constituidos por agregados moleculares con un tamaño, morfología y funcionalidad que varía en función de la estructura química de las moléculas anfífilicas y las condiciones experimentales utilizadas en su síntesis.

Los compuestos anfífilicos usados para sintetizar estos nuevos disolventes supramoleculares (SUPRAS) han sido ácidos alquilfosfónicos (AAF) con longitudes de cadena hidrocarbonada comprendida entre 6 y 14 átomos de carbono. La estructura química de estos tensioactivos hace posible la generación de SUPRAS en muy diferentes condiciones experimentales y por tanto, con diferentes características y aplicabilidad en procesos de tratamiento de muestra. El carácter diprótico del grupo cabeza de los AAF posibilita la obtención de disolventes a partir de disoluciones acuosas de tensioactivo en forma neutra y con una o dos cargas negativas mediante el control del pH, y la presencia de =O y –HO en su grupo fosfónico hace posible la formación de puentes de hidrógeno entre sus grupos cabeza, enlaces que juegan un papel fundamental en la formación de disolventes vesiculares inducidos por sales de tetra-aquilamonio y de disolventes formados en disoluciones hidro-orgánicas de tensioactivo.

En disolución acuosa, los AAF forman SUPRAS a temperaturas por encima de 35°C en presencia de HCl a concentraciones superiores a 0,5 M, condiciones en las que el tensioactivo se encuentran en forma neutra. La presencia de NaCl en la disolución disminuye la concentración de tensioactivo requerida para la formación del SUPRAS, alcanzándose factores de preconcentración teóricos de 800 para la extracción de muestras acuosas. La formación de SUPRAS a partir de moléculas de AAF totalmente desprotonadas se produce a temperaturas inferiores a un valor crítico que varía en función de la longitud de la cadena hidrocarbonada del tensioactivo, su concentración y la concentración de NaCl adicionada a la disolución acuosa. Los disolventes vesiculares de AAF se forman en condiciones en las que los grupos cabeza de las moléculas de AAF poseen una única carga negativa que se encuentra neutralizada por tetrahexil-amonio en concentración equimolecular. Y por último, los AAF también forman SUPRAS mediante la adición de agua con el pH ajustado a valores iguales o inferiores a 1, a disoluciones de AAF en tetrahidrofurano o etanol. Las condiciones experimentales usadas en las síntesis determinan la composición y volumen del SUPRAS formado y por lo tanto, su capacidad de extracción y preconcentración. Los resultados obtenidos abren un gran abanico de posibilidades para la utilización de SUPRAS de AAF en procesos de extracción de una gran variedad de analitos y muestras.

Agradecimientos: Los autores agradecen la subvención recibida del MINECO (Proyecto CTQ2014-53539-R) y de los Fondos Féder. C. Caballo agradece el contrato postdoctoral subvencionado por el CEICyE de la Junta de Andalucía.

SEPARACIÓN BIDIMENSIONAL NO CROMATOGRÁFICA DE COMPUESTOS VOLÁTILES POR TAMAÑOS Y COMPOSICIÓN MEDIANTE ACOPLAMIENTO DE UN ANALIZADOR DE MOVILIDAD DIFERENCIAL PLANO A UN ESPECTRÓMETRO DE MASAS COMERCIAL

José M. Vadillo¹, J. Javier Laserna¹, M. Amo²

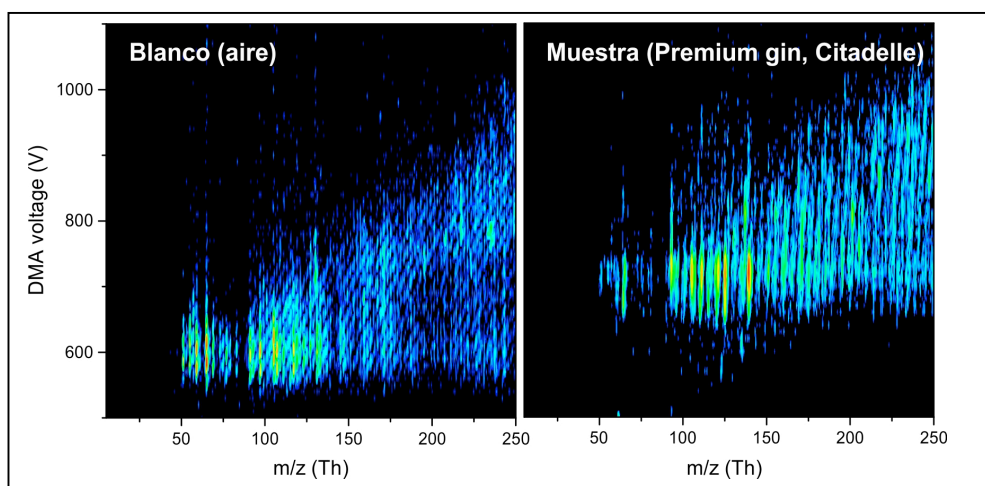
¹ UMALASERLAB, Jimenez Fraud 4, 29010 Málaga

² SEADM, Parque Tecnológico de Boecillo, parcela 205, 47151 – Boecillo. Valladolid

La clasificación directa de compuestos volátiles puede llevarse a cabo mediante técnicas de movilidad diferencial (DMA, differential mobility analyzers). Cuando tales dispositivos se acoplan con espectrómetros de masas de operación a presión atmosférica, el instrumento resultante (DMA-MS) se convierte en una poderosa herramienta analítica capaz de proporcionar información sobre tamaño y composición de los compuestos analizados. Esta información dual puede ser aprovechada con éxito en aplicaciones relacionadas con los estudios de compuestos con actividad asociada al grado de empaquetamiento, o como un elemento adicional de eliminación de interferencias y de aumento de la sensibilidad.

El instrumento descrito en la presente comunicación se basa en una arquitectura de movilidad iónica de tipo planas que incluye un elemento ionizador a presión atmosférica por electropulverización. Los compuestos ionizados son separados por tamaños basados en su movilidad eléctrica (U) y guiados al espectrómetro de masas donde experimentan su separación en base a la relación masa/carga (m/z). En este modo híbrido de operación, se pueden obtener espectros de masas específicos a valores de movilidad fijos, o representaciones 3D correspondientes a la obtención de espectros de masas completos a los distintos valores de movilidad.

La comunicación que se presenta quedará ilustrada con los diferentes modos de operación en matrices diversas alimentarias, medioambientales o de interés en seguridad. Como ejemplo del potencial del equipo se muestra en la figura adjunta un espectro bidimensional DMA-MS de un blanco de aire del laboratorio mediante muestreo directo en el capilar de entrada, y de una muestra de ginebra comercial muestreada del mismo modo. En ningún caso ha habido preparación de la muestra.



INNOVACIONES EN LA ENSEÑANZA-APRENDIZAJE DE LOS PRINCIPIOS DE QUÍMICA ANALÍTICA

Miguel Valcárcel Cases¹, Ángela I. López-Lorente², María Ángeles López-Jiménez¹

¹ Dpto. Química Analítica. Campus de Rabanales. Universidad de Córdoba. 14071 Córdoba (España)

² Institute of Analytical and Bioanalytical Chemistry. Ulm University. 89081 Ulm (Germany)

Desde hace más de 15 años hemos propiciado mediante un libro de texto [1] que la enseñanza de la Química Analítica debe empezar por los fundamentos de la misma, con la intención de que se establezca una base sólida para que el mensaje docente subsiguiente de la descripción de técnicas y métodos analíticos esté bien fundamentado.

La experiencia que hemos acumulado nos indica que se trata de un tema bien recibido por los estudiantes, pero que es difícil de asimilar dada su complejidad. Por ello, se ha creído conveniente establecer una nueva estrategia docente-discente teniendo en cuenta el rechazo de plano de los estudiantes a las diapositivas-guión, que, en ocasiones, sirven más para los profesores que para ellos.

La estrategia propuesta se materializará en un libro atípico [2] compuesto por nueve capítulos clasificados en tres bloques: Introducción a la Química Analítica (3 capítulos), El proceso analítica (3 capítulos) y Proyección socio-económica de la Química Analítica (3 capítulos). El libro se completa con dos anexos: uno dedicado al glosario de términos y otro a la resolución de las cuestiones planteadas en cada capítulo.

Lo verdaderamente atípico de esta propuesta editorial es su planteamiento técnico. Cada capítulo constará de un texto (resumen, contenido-esquema, descripción de cada diapositiva, cuestiones, bibliografía recomendada y comentada) y de 30-40 diapositivas en un CD para su reproducción.

En esta comunicación se expondrán los rasgos esenciales de esta nueva apuesta docente, que pretende fomentar una enseñanza correcta de la Química Analítica de modo que los estudiantes sean conscientes desde el primer momento de la importancia de esta disciplina en el contexto de la Química [3] y de la Ciencia y Tecnología.

[1] M. Valcárcel. *Principles of Analytical Chemistry*. Springer-Verlag, Berlin (2000).

[2] M. Valcárcel, A.I. López-Lorente, M.A. López-Jiménez. *Fundamentos de Química Analítica. Una aproximación docente*. Reverté-UCOPRESS, en prensa.

[3] M. Whitesides. "Reinventing Chemistry". *Angewandte Chemie Int.*, 54 (2015) 3196-3207.

The text is framed by a decorative graphic consisting of two L-shaped lines. The inner line is shorter and positioned closer to the text, while the outer line is longer and extends further to the left and bottom, creating a sense of depth and enclosure.

COMUNICACIONES FLASH

USE OF DISPERSIVE LIQUID-LIQUID MICROEXTRACTION FOR THE DETERMINATION OF BENZIMIDAZOLES IN MEAT SAMPLES BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS TANDEM MASS SPECTROMETRY

**Carmen Tejada-Casado*, David Moreno-González,
Monsalud del Olmo-Iruela, Ana M. García-Campaña**

Department of Analytical Chemistry, Faculty of Sciences, University of Granada, Av. Fuentenueva s/n, E-18071 Granada, Spain. *carmentc@ugr.es

Benzimidazoles (BZs) are veterinary drugs widely used in the prevention and treatment of parasitic infections in agriculture and aquaculture. Some BZs are used as fungicidal agents in the control of spoilage of crops during storage and transport. In this communication, a novel method based on capillary zone electrophoresis-tandem mass spectrometry (CZE-MS/MS) has been proposed and validated for the identification and simultaneous quantification of twelve BZs in meat samples. Different parameters were optimized in order to obtain an adequate separation combined with the highest sensitivity, using 300 mM formic acid (pH 2.5) as separation buffer, applying a voltage of 25 kV at 25°C. In order to improve the sensitivity, stacking mode injection was applied, using as injection solvent a mixture of 30:70 acetonitrile/water at 50 mbar for 75 s. Under optimum conditions, sensitivity enhancement factors from 74 to 317 were obtained. Different parameters were optimized in MS/MS using an ion trap as analyzer, operating in multiple reaction monitoring (MRM) mode. The sheath liquid consisted of ethanol/water/formic acid (50:49.5:0.5, v/v/v) and was delivered at a flow rate of 1.6 $\mu\text{L min}^{-1}$. The ESI voltage was set to 4500 V. Other electrospray parameters at optimum conditions were: nebulizer pressure, 6 psi; dry gas flow rate, 8 L min^{-1} ; and dry gas temperature, 250 °C. The method was applied to poultry and porcine muscle samples. BZs were extracted and deprotonated with acetonitrile (MeCN) and MgSO_4 and NaCl were added as salting-out agents. Subsequently, dispersive liquid liquid microextraction (DLLME) was applied. The organic layer (MeCN, 1700 μL , used as dispersant) containing the BZs was mixed with the extractant (chloroform, 950 μL) and were injected in water, producing the cloudy solution. Recoveries for fortified samples higher than 70 %, with relative standard deviations lower than 16% were obtained. The limits of detection were below 2.8 $\mu\text{g L}^{-1}$, demonstrating the applicability of this fast, simple, and environmentally friendly method.

Acknowledgements: Excellence Project Ref: P12-AGR-1647 for the financial support and the predoctoral fellowship of Carmen Tejada Casado.

DISOLVENTES SUPRAMOLECULARES VOLÁTILES PARA SIMPLIFICAR EL ANÁLISIS DE SALIVA EN EL ESTUDIO DEL EFECTO COMBINADO DE BISFENOLES Y DERIVADOS EN HUMANOS

Encarnación Romera-García, Noelia Caballero-Casero, Soledad Rubio

Departamento de Química Analítica, Edificio Anexo Marie Curie, Campus Universitario de Rabanales, Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba, España
q02rogae@uco.es, www.uco.es/sac

El número de compuestos químicos a los que el ser humano está expuesto ha aumentado de forma exponencial en las últimas décadas. La legislación ha establecido límites máximos permitidos para aquellos compuestos considerados tóxicos, sin embargo, muchos estudios científicos han aportado claras evidencias de que la exposición humana a diferentes compuestos químicos, cada uno de los cuales se encuentra a concentraciones por debajo de los límites establecidos, puede tener efecto sobre la salud debido al efecto combinado o sinérgico de los mismos. Como consecuencia, la Unión Europea está estudiando la posibilidad de legislar sobre la base de grupos de compuestos químicos, lo que conlleva la previa evaluación de la exposición humana a los mismos a través de la estimación de la ingesta o el análisis de muestras biológicas.

Uno de los grupos de compuestos que cumplen con los requisitos de la Unión Europea para ser considerado grupo prioritario de estudio son los bisfenoles y derivados, que exhiben propiedades estrogénicas y antiandrogénicas. La principal fuente de contaminación humana por bisfenoles es la dieta debido a su migración desde los envases de plástico. La UE sólo ha establecido límites de migración para bisfenol A, bisfenol A diglicidil éter y sus productos de hidrólisis y derivados clorados de BADGE, pero existen al menos 30 bisfenoles y derivados cuya presencia se ha detectado en humanos y/o los sistemas ambientales. Para evaluar los riesgos de la exposición humana al efecto combinado de bisfenoles y derivados, lo cual es requerido para dar soporte científico al desarrollo de la legislación pertinente, se requiere el estudio epidemiológico de amplios segmentos de la población. Como consecuencia, es necesario el desarrollo de metodologías que permitan la cuantificación simultánea de los bisfenoles y sus derivados clorados y diglicidil éteres en matrices biológicas que sean simples, económicos y no invasivos.

En este trabajo, proponemos por vez primera el uso de saliva, como alternativa a orina, sangre o suero, para la evaluación de la exposición humana a bisfenoles y derivados. La toma de muestras de saliva es sencilla y no invasiva, los materiales requeridos tienen un costo accesible, no se requiere de personal altamente capacitado, y el transporte y almacenamiento es muy simple. El tratamiento de muestras se realiza con un disolvente supramolecular volátil sintetizado espontáneamente en la saliva mediante la adición de hexanol y tetrahidrofurano. Dadas sus propiedades de acceso restringido, la extracción de 21 bisfenoles y derivados y limpieza de la muestra se realiza en una etapa simple. La volatilización del hexanol evita su coelución con los analitos que son determinados mediante cromatografía de líquidos y espectrometría de masas en tándem. El método se ha aplicado a la determinación de bisfenoles y derivados en saliva y se ha evaluado su utilidad para el estudio de la exposición humana al efecto combinado de los mismos.

Agradecimientos: Los autores agradecen al MINECO el Proyecto CTQ2014-53539-R y a los Fondos FEDER. N. Caballero-Casero agradece al MINECO la beca BES-2012-052170.

ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE pH Y TEMPERATURA EN LA RACEMIZACIÓN DE (-)-HIOSCIAMINA A (+)-HIOSCIAMINA EN SEMILLAS DE ESTRAMONIO

Jesús Marín Sáez^{1*}, Roberto Romero González¹, Ana Romera Torres, José Luis Martínez Vidal, Antonia Garrido Frenich¹

¹ Departamento de Química y Física, Facultad de Ciencias Experimentales, Centro de Investigación en Biotecnología Agroalimentaria (BITAL), Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3, Universidad de Almería, Carretera Sacramento s/n, E-04071 Almería, España.

* email: jms485@inlumine.ual.es

El estramonio es una planta de la familia de las *Solanaceae*, del género *Datura*, que crece como maleza junto a campos de cultivo. Debido a su toxicidad y sus efectos sobre la alimentación y la seguridad de los piensos animales y alimentos para los humanos, la determinación de sustancias tóxicas en estas plantas está ganando interés. Los principales componentes tóxicos son la escopolamina y la atropina (mezcla racémica de (+) y (-)-hiosciamina). Aunque la atropina sea una mezcla racémica, solo el enantiómero encontrado naturalmente, la (-)-hiosciamina, tiene actividad farmacológica, siendo un potente anticolinérgico [1,2]. La racemización ocurre en el proceso de extracción de la (-)-hiosciamina, con temperaturas elevadas y prolongadas y pH básico, siendo muy escasos los estudios realizados en este sentido [3].

Así mismo resulta de interés conocer las condiciones en las que se produce la racemización de un compuesto en otro, ya que las mismas son también de aplicación en procesos del cocinado (cocción u horneado) de alimentos que contengan pequeñas cantidades de semillas de plantas de la familia de las *Solanaceae*.

En la presente comunicación se realiza un estudio de la influencia del pH y la temperatura en dicho proceso. A tal fin se realizaron experiencias a valores de pH de 3, 5, 7 y 9 y temperaturas de 30, 50 y 80°C. Así mismo se estudió la influencia del mantenimiento de algunas condiciones (pH 5 y 9 a 80°C) en el proceso de conversión de racemización.

Para estudiar estos factores se hace uso de un método basado en cromatografía de líquidos de alto rendimiento acoplada a espectrometría de masas en tándem (HPLC-MS/MS), empleando una columna quirál, Chiralpak-AY3. La separación se realiza en modo isocrático usando etanol al 0,1% dietanolamina como fase móvil, en un tiempo de 10 minutos. La extracción de la hiosciamina de las semillas de estramonio se realiza mediante el método QuEChERS.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) y al Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) (Referencia CTQ2015-69899-R) el apoyo financiero.

Referencias

- [1] R. Kumar, J. Martens, R. Bhushan, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 38 (2015) 111-116.
- [2] EFSA. *The EFSA Journal*, 11 (2013) 3386-3499.
- [3] G. Blaschke, E. Lamparter, J. Schluter, *Chirality*, 5 (1993) 78-83.

METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE CONTAMINANTES EMERGENTES EN AGUAS SUPERFICIALES. DISTRIBUCIÓN Y EVALUACIÓN DE RIESGOS EN EL RÍO GUADIAMAR

Eva Garrido, Julia Martín, Antonio Santos, Juan Luis Santos, Irene Aparicio, Esteban Alonso

Departamento de Química Analítica. Escuela Politécnica Superior. Universidad de Sevilla. C/ Virgen de África, 7. 41011 Sevilla

La presencia en el agua de sustancias contaminantes puede ser considerada como la mayor razón para la disminución de su calidad. Hasta el momento los mayores esfuerzos han sido orientados a los llamados contaminantes "prioritarios. Sin embargo, éstos son sólo una pequeña parte del amplio espectro de sustancias que, diariamente, se incorporan al medio acuático. El continuo desarrollo de nuevos productos como materiales plásticos, productos de limpieza e higiene, fármacos, antiadherentes, etc. a dado lugar a la descarga al medioambiente de una amplia variedad de contaminantes orgánicos cuya presencia en los sistemas acuáticos está constituyendo un nuevo problema medioambiental [1]. Muchos autores coinciden en que, si bien la mayoría de contaminantes emergentes no presentan elevadas concentraciones en muestras medioambientales, su continua incorporación al medio acuático requiere y requerirá una especial atención desde las organizaciones internacionales de salud y de medio ambiente y desde el mundo científico, en aras a establecer su dinámica de comportamiento, evaluar su toxicidad y predecir su impacto ambiental [2].

De acuerdo con ello, los objetivos de este trabajo fueron proponer una metodología analítica para la determinación de varias familias de contaminantes emergentes en aguas superficiales, establecer la distribución de estos contaminantes en la cuenca del río Guadamar y evaluar sus riesgos ambientales. Los contaminantes emergentes seleccionados fueron principios activos farmacológicos de uso humano y veterinario, surfactantes, plastificantes, parabenos, compuestos orgánicos perfluorados y retardantes de llama bromados..

El método propuesto, basado en extracción en fase sólida y determinación mediante cromatografía de líquidos con detector de espectrometría de masas, presentó recuperaciones entre el 62 y el 102 % para la mayoría de compuestos. La precisión, medida en unidades de desviación estándar relativa, fue inferior al 18 % y los límites de detección se situaron en el rango 0.04 y 98 ng/L. El método propuesto se empleó para evaluar la distribución y riesgos ambientales de estos contaminantes en la cuenca del río Guadamar. Las mayores concentraciones en las muestras analizadas se encontraron en el caso de los plastificantes (hasta 930 ng/L), cafeína (623 ng/L) y ácido salicílico (318 ng/L).

[1] R. Meffe, I. Bustamante, *The Science of the Total Environment* 481 (2014) 280-295

[2] M.O. Barbosa, N.F.F. Moreira, A.R. Ribeiro, M.F.R. Pereira, A.M.T. Silva, *Water Research* 91 (2016) 257-279

Agradecimientos:

Los autores desean agradecer la financiación recibida del Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto no. CGL2013-44402-R).

ESTUDIO METABOLÓMICO PARA EVALUAR LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL USANDO *SCROBICULARIA PLANA* COMO BIOINDICADOR

Gema Rodríguez Moro^{1,2,3}, Tamara García Barrera^{1,2,3}, Julián Blasco Moreno⁴, José Luis Gómez Ariza^{1,2,3}.

1. Departamento de Química, Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Huelva, Campus de El Carmen, 21007, Huelva
2. *Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario CEIA3. CIDERTA. Universidad de Huelva. Parque Huelva Empresarial, 21007, Huelva*
3. *Centro de Investigación en Salud y Medio Ambiente (CYSMA). Universidad de Huelva. Campus de El Carmen, 21007, Huelva*
4. *Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (CSIC), Campus Rio San Pedro, 11510 Puerto Real, Cádiz*

Los bioindicadores pueden reflejar los efectos de los contaminantes sobre su metabolismo, siendo ampliamente utilizados para evaluar el estrés ambiental [1]. En este sentido, se ha aplicado al bivalvo *Scrobicularia plana* un “workflow” metabolómico basado en el uso complementario de dos técnicas de espectrometría de masas orgánica, mediante infusión directa a un espectrómetro de masas de alta resolución (DI-ESI-QqQ-TOF-MS) y cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) [2], con el objetivo de evaluar la contaminación en la desembocadura del río Guadalquivir (suroeste de España).

Para este propósito, se comparó la respuesta del órgano con mayor actividad metabólica (glándula digestiva) del bivalvo *Scrobicularia plana* de una zona de mayor contaminación (La Pantoca, PAN) con respecto a otra zona de menor contaminación (Brazo de la Torre, BLT). Para el análisis de las muestras mediante infusión directa se obtuvieron los extractos polares y apolares y se analizaron en modo de adquisición positivo y negativo con el objetivo de obtener un mayor número de metabolitos, mientras que para su análisis por GC-MS se procedió a la derivatización de las muestras [2].

Los resultados se trataron estadísticamente por análisis multivariante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA), obteniéndose una clara separación entre los grupos de estudio. Asimismo, los metabolitos con influencia significativa en la clasificación se identificaron mediante bases de datos. Finalmente, se establecieron los metabolitos que podían usarse como posibles marcadores biológicos de la contaminación.

Puede concluirse, por tanto, que el uso combinado de DI-ESI-QqQ-TOF-MS y GC permite una visión más profunda sobre la respuesta metabólica del organismo frente a la contaminación.

Referencias:

- [1] A. Beeby, *Environ Poll* 112 (2001) 285–298.
- [2] M.A. García-Sevillano, T. García-Barrera, F. Navarro, N. Abril, C. Pueyo, J. López-Barea, J.L. Gómez-Ariza, *J.Chromatogr. B* 985 (2015) 75-84.

IMPROVED SPE–LC–MS/MS PLATFORMS FOR DETERMINATION OF VITAMIN D AND ITS METABOLITES

A. Mena-Bravo^{a,b,c}, F. Priego-Capote^{a,b,c}, M. D. Luque de Castro^{a,b,c}

^aDepartment of Analytical Chemistry, Annex Marie Curie Building. Campus of Rabanales, University of Córdoba, Córdoba, Spain.

^bUniversity of Córdoba Agroalimentary Excellence Campus, ceiA3, Córdoba, Spain.

^cMaimónides Institute of Biomedical Research (IMIBIC), Reina Sofía University Hospital, University of Córdoba, Córdoba, Spain.

The analysis of vitamin D status, with special emphasis on 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D, is gaining interest in clinical studies due to the classical and new effects attributed to this prohormone. The developed research involved three steps: (1) the in-depth study of the two steps preceding determination (viz. sample collection and sample preparation) of vitamin D: both D2 and D3 and its main metabolites —monohydroxylated vitamin D (25-hydroxyvitamin D2 and 25-hydroxyvitamin D3) and dihydroxylated metabolites (1,25-dihydroxyvitamin D2, 1,25-dihydroxyvitamin D3 and 24,25-dihydroxyvitamin D3)— in human serum [1]; (2) optimization of the analysis step of the target analytes [2]; and (3) improvement of the method to include quantification of the C3-epimer of 25(OH)D3 with the rest of bioactive metabolites of vitamin D.

(1) Statistical analysis revealed that serum and plasma provided similar physiological levels for vitamin D3, 24,25-dihydroxyvitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D3, while significantly different levels were obtained for 1,25-dihydroxyvitamin D3, always higher in plasma than in serum. Two preparation approaches, deproteination and SPE, were evaluated in terms of sensitivity, thus establishing that detection of 1,25-dihydroxyvitamin D cannot be addressed by protein precipitation. Therefore, sample collection and treatment proved to be significant in the analysis of vitamin D and its relevant metabolites.

(2) The quantitative method was based on direct analysis of serum by an automated platform using the on-line coupling of a solid-phase extraction (SPE) workstation to a liquid chromatograph–tandem mass spectrometer. Detection of the seven analytes was carried out by the selected reaction monitoring (SRM) mode, and quantitative analysis was supported on the use of stable isotopic labeled internal standards (SIL-ISs).

(3) Finally, a new approach based on automated SPE coupled to two-dimensional liquid chromatographic with tandem mass spectrometry detection was developed for discrimination of 25 hydroxyvitamin D3 epimers. Two-dimensional LC was configured with two complementary analytical columns, pentafluorophenyl (PFP) and C18 phases, for determination of C3-epimer-25 hydroxyvitamin D3 and the rest of bioactive metabolites of vitamin D (D3 and D2) —25 hydroxyvitamin D3, 25-hydroxyvitamin D2, 1,25-dihydroxyvitamin D3, 1,25-dihydroxyvitamin D2 and 24,25-dihydroxyvitamin D3. The method was externally validated according to the vitamin D External Quality Assurance Scheme (DEQAS) through the analysis of ten serum samples provided by this organism, and also by analysis of a standard reference material certified by the National Institute of Standards & Technology (NIST-972a).

The analytical features of the method support its applicability in nutritional and clinical studies targeted at elucidating the role of vitamin D metabolism.

[1] A. Mena-Bravo, F. Priego-Capote, M.D. Luque de Castro, *Anal. Chim. Acta* 879 (2015) 69–76

[2] A. Mena-Bravo, C. Ferreira-Vera, F. Priego-Capote, M.A. Maestro, A.Mouriño, J.M. Quesada- Gómez, M.D. Luque de Castr, *Clin. Chim. Acta* 442 (2015) 6–12

ANÁLISIS DE PARABENOS Y BISFENOL A EN MUESTRAS DE LECHE HUMANA MEDIANTE UPLC-MS/MS PREVIA EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDOS Y LIMPIEZA DEL EXTRACTO CON ADSORBENTES DISPERSIVOS

Alberto Zafra-Gómez⁽¹⁾, Rocío Rodríguez-Gómez⁽¹⁾, Alberto Navalón⁽¹⁾

¹ *Research Group of Analytical Chemistry and Life Sciences, Department of Analytical Chemistry, Campus of Fuentenueva, University of Granada, E-18071 Granada, Spain*
**(email-azafra@ugr.es)*

Los primeros años de nuestra vida son un período muy vulnerable del desarrollo humano, pudiendo aparecer importantes alteraciones que se manifestarán a lo largo de la vida originando cambios estructurales y funcionales que pueden manifestarse en forma de deterioros de la función cognitiva, enfermedades crónicas, en el desarrollo puberal o incluso en el desarrollo de obesidad en la edad adulta [1,2]. En las últimas décadas, el crecimiento social ha dado lugar a un aumento del número de compuestos químicos que se utilizan para mejorar los niveles de vida. Es de particular importancia el caso de los disruptores endocrinos químicos (DEQs), grupo que abarca una amplia gama de sustancias químicas, capaces de alterar la función hormonal normal de seres los animales causando efectos adversos para la salud. El bisfenol A (BPA) y los parabenos (PBS), pertenecen a este grupo de compuestos [3,4].

En este trabajo se propone y valida un método analítico sensible y preciso para la determinación de metil-, etil-, propil- y butilparabeno y bisfenol A en muestras de leche humana. La combinación de la extracción asistida por ultrasonidos (UAE) empleando acetonitrilo como disolvente y un paso simplificado y rápido de limpieza del extracto obtenido con un sorbente C18, permite la obtención de muestras analíticas altamente limpias para su análisis posterior mediante cromatografía de líquidos de ultra-resolución acoplada a espectrometría de masas tándem (UHPLC-MS/MS). El análisis se llevó a cabo en modo de ionización electrospray Negativo (ESI). Como patrones internos (surrogates) se emplearon los compuestos deuterados etilparabeno-d₅ (EPB-d₅) y bisfenol A-d₁₆ (BPA-d₁₆). Los límites de cuantificación obtenidos variaron entre 0.4 y 0.7 ng mL⁻¹, mientras que la variabilidad inter e intra-día fue menor del 12 % en todos los casos. Dada la falta de materiales de referencia certificados, se utilizaron ensayos de calibración y recuperación con muestras enriquecidas para la validación del método. Los porcentajes de recuperación variaron entre el 94% y el 112 %. El método propuesto se aplicó de manera satisfactoria para la determinación de cinco EDC en muestras de leche humana obtenida de madres lactantes de la provincia de Granada.

El método analítico desarrollado está siendo usado actualmente para el desarrollo de nuevos estudios en profundidad sobre la exposición prenatal y biomonitorización de estos compuestos en muestras reales.

- [1] M. Schlumpf, K. Kypke, M. Wittassek, J. Angerer, H. Mascher, D. Mascher, C. Vökt, M. Birchler, W. Lichsteinsteiger, *Chemosphere* 81 (2010) 1170–1183.
- [2] I. Pan, J.L. Daniels, A.H. Herring, W.J. Rogan, A.M. Siega-Riz, B.D. Goldman, A. Sjödin, *Paediatr. Perinat. Ep.* 24 (2010) 262–271.
- [3] US-EPA, 2003, <http://www.epa.gov/osp/mypp/edc.pdf> (Visited: 25/04/2016)
- [4] F. Paris, P. Balaguer, B. Térouanne, N. Servant, C. Lacoste, J.P. Cravedi, J.C. Nicolas and C. Sultan, *Mol. Cell. Endocrinology* 193 (2002) 43-49.

ELECTRODELESS SECONDARY ELECTROSPRAY IONIZER: A NEW HIGH-PERFORMANCE TOOL FOR METABOLOMIC KINETIC STUDIES.

Guillermo Vidal de Miguel¹, Miriam Macia¹, Javier Laserna², José Miguel Vadillo²

¹Fossil Ion Technology (FIT). C/ Jimenez Fraud 4, 29071 Málaga, Spain

²UMA-LASERLAB, C/ Jimenez Fraud 4, 29071 Málaga, Spain

El descubrimiento por J. Fenn¹ de la ionización por electrospray¹ (ESI, electrospray ionization), que permitía la generación directa de iones en medio líquido, fue seguido del desarrollo de la técnica SESI (secondary electrospray ionization). En esta técnica, la mezcla de los iones generados por electrospray y la moléculas neutras presentes en el gas induce una transferencia de carga similar a la ionización química. Las aplicaciones inmediatas en detección de explosivos con presiones de vapor muy bajas (en el rango de la ppt)², permitieron demostrar el potencial de la técnica. En la actualidad, la técnica ha permitido explorar espacios científicos de difícil acceso para la química analítica, como la detección directa de compuesto exhalados considerados hasta la fecha como no volátiles³. Estos trabajos pioneros abrieron las puertas al seguimiento cinético de metabolitos y medicamentos⁴ in vivo, con la ventaja de no perturbar la muestra.

Fruto de los primeros estudios fundamentales⁵, las primeras configuraciones optimizadas de ionizadores SESI perseguían aumentar el flujo de iones entrantes al espectrómetro de masas (MS) mediante una configuración optimizada de flujos y campos eléctricos que permitieron mejorar considerablemente la eficiencia de ionización^{6,7}. Como contrapartida, estos sistemas aumentaban la complejidad de la geometría y precisaban de elevados voltajes para su operación. En la práctica, esto daba lugar a sistemas menos robustos, con los consiguientes problemas de efectos memoria en las zonas de acumulación de contaminación, de fondos elevados, y de difíciles y frecuentes operaciones de limpieza.

El presente trabajo muestra un nuevo desarrollo que mantiene las fortalezas de los diseños SESI anteriores, y que resuelve sus debilidades. Se ha partido de una concepción revolucionaria en el enfoque de los iones: realizar el guiado mediante un flujo de gas de enfoque sin el curso de campos eléctricos. Así, el sistema se ha diseñado apoyándose un modelo multi-físico detallado en el que se han modelizado los flujos, la expansión de la pluma de electrospray, y las diferentes reacciones de transferencia de carga. La nueva configuración acelera del gas de enfoque en dirección radial, de tal manera que los iones son enfocados hacia la entrada del MS sin perturbar la zona de ionización. La eliminación de los electrodos se traduce en una cámara diáfana y libre de zonas de remanso, muy fácil de limpiar y manejar, y libre de efectos memoria o de señales de fondo.

Este ionizador es compatible con MS comerciales de tipo ESI-MS. Sus prestaciones mejoradas lo convierten en una herramienta muy poderosa para la determinación sensible de compuestos volátiles o semivolátiles en condiciones ambientales, con límites de detección por debajo de la ppt. De modo particular, se está trabajando en el seguimiento a tiempo real de metabolitos con objeto de desarrollar herramientas analíticas no invasivas para la caracterización de procesos metabólicos y farmacocinéticos en pacientes, ratones, y cultivos celulares.

Referencias:

- (1) Fenn, J. B.; et al. *Science* (80-.). **1989**, 246 (4926), 64–71.
- (2) Martínez-Lozano, P.; de la Mora J.; et al. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2009**, 20 (2), 287–294.
- (3) Chen, H.; Zenobi, R.; et al. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2007**, 46 (4), 580–583.
- (4) Li, X.; Zenobi, R.; et al. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2015**, 54 (27), 7815–7818.
- (5) Vidal-De-Miguel, G.; Herrero, A. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2012**, 23 (6), 1085–1096.
- (6) Vidal-de-Miguel, et al. *J. Anal. Chem.* **2012**, 84 (20), 8475–8479.
- (7) Barrios-Collado, C.; Vidal-de-Miguel, G.; et al. *Sensors Actuators B Chem.* **2015**, 223, 217–225.



SESIÓN DE CARTELES

Agroalimentación

USE OF SALTING OUT ASSISTED LIQUID-LIQUID EXTRACTION FOR THE DETERMINATION OF TETRACYCLINES IN FISH MUSCLE BY UHPLC-MS/MS**Ángel Grande Martínez¹, David Moreno González², Francisco J. Arrebola Liébanas¹, Antonia Garrido French¹, Ana M. García Campaña²**

¹University of Almería, Agrifood Campus of International Excellence, Research Centre for Agricultural and Food Biotechnology (BITAL), Department of Chemistry and Physics, ceiA3, E-04120 Almería, Spain

²University of Granada, Department of Analytical Chemistry, Faculty of Sciences, Av. Fuentenueva s/n, 18071 Granada, Spain

The changes in food habits in the last decades and the increasing demand for fish as one of the most consumed products in the world made aquaculture an emerging industry. Tetracyclines (TCs) are a class of broad spectrum antibiotics widely used in aquaculture to treat infections, so the presence of TC residues in food samples derived from this kind of production (fish, crustaceans and derived products) could pose potential risks, such as allergies, toxic effects or the appearance of bacterial resistance. In order to protect human health, a maximum residue level (MRL) for TCs in fish muscle of 100 µg kg⁻¹ has been established by the European Commission Regulation (EU) No 37/2010. This entails the development of rapid, sensitive and direct analytical methods to support their control in these matrixes.

In this work a sample treatment based on a salting-out assisted liquid–liquid extraction (SALLE) followed by dispersive solid phase extraction (dSPE) combined with ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) were applied to determine the residues of five common TCs in salmon and panga samples. The separation was achieved in less than 4 min, using a Zorbax Eclipse plus RRHD C18 column (50 mm × 2.1 mm, 1.8 µm), with a mobile phase of water (0.01% formic acid) and methanol. The analytes were detected in ESI+ with multiple reaction monitoring mode. Parameters affecting SALLE extraction and dSPE clean-up were optimized. The best results were obtained when 2.2 mL of EDTA-McIlvaine's buffer were added to 1.0 g of sample. Subsequently, 5.0 mL of acetonitrile and 50 mg of C₁₈ sorbent were added and the mixture was shaken and centrifuged. Then, the organic layer was transferred to a vial, dried under a N₂ stream and the final residue was re-dissolved with 500 µL of H₂O:MeOH (95:5 v/v) and injected into the UHPLC-MS/MS system. Matrix effect was studied, being lower than |20| % in all cases, showing that the proposed procedure provides very clean extracts. Limits of quantification were lower than 0.48 µg kg⁻¹ for the studied samples, being in compliance with the current legislation. The precision, expressed as relative standard deviation was below 10 % and the recoveries for fortified fish samples higher than 89.2%. These results revealed that the proposed method is simple, rapid, cheap and environmentally friendly, being successfully applicable for the determination of these residues in fish samples.

Acknowledgements: Financial support from Junta de Andalucía (Project Ref: P12-AGR-1647).

GC AND HPLC-(Q)TOF-MS PLATFORMS FOR THE DETERMINATION OF FREE AND BOUND BIOACTIVE COMPOUNDS IN RICE BRAN

Vito Verardo¹, Ana María Gómez-Caravaca^{2,3}, Emanuele Marconi^{4,5}, Antonio Segura-Carretero^{2,3}, Antonia Garrido-Frenich¹, Alberto Fernandez-Gutierrez^{2,3}

¹ Department of Chemistry and Physics (Analytical Chemistry Area) and Research Centre for Agricultural and Food Biotechnology (BITAL), Agrifood Campus of International Excellence, ceiA3, University of Almería, 04120 Almería, Spain.

² Department of Analytical Chemistry, University of Granada, 18071, Granada, Spain.

³ Research and Development of Functional Food Centre (CIDAF), 18007 Granada, Spain

⁴ Dipartimento Agricoltura, Ambiente e Alimenti, Università del Molise, 86100 Campobasso, Italy

⁵ Università Campus Bio-Medico di Roma, 00128 Roma, Italy

⁶ Inter-Departmental Centre for Agri-Food Industrial Research (CIRI Agroalimentare) and Department of Agro-Food Sciences and Technologies, University of Bologna, 47521 Cesena, Italy.

Rice bran is one of the most important rice by-products and represents about 10 % of rice production and it contains large amounts of bioactive compounds. Because of that, the impact of parboiling on the concentration of lipophilic bioactive compounds (free+esterified and bound sterols and triterpenic alcohols) and free and cell wall-bound phenolic compounds, were investigated.

Rice bran contains 14-22% oil and is used in diet preparation in several countries. One of the major bioactive components in rice bran oil, γ -oryzanol, is a mixture of ferulic acid esters of triterpene alcohols and sterols.

GC-QTOF-MS analysis of phytosterol and triterpenic alcohols allowed the determination of 14 compounds that were quantified in free and bound form; free phytosterol and triterpenic alcohol compounds represented the 10 and 43 % of total fraction in raw and parboiled rice bran, respectively.

Moreover, the impact of parboiling on the concentration of free and cell wall-bound phenolic compounds was investigated. The analysis of free and bound phenolic compounds was carried out by HPLC-DAD-TOF-MS. The TOF analyzer permitted the determination of 24 free and 27 bound phenolic compounds and some of them, to our knowledge, have been identified for the first time.

Parboiling treatment caused substantial changes in bioactive compounds distribution in rice grain. This was confirmed by the amounts of the bioactive compounds studied in this work. The results suggested that raw rice bran is a good ingredient for free phenolic compounds enrichment; instead parboiled rice bran is a source of phytosterols and triterpenic alcohols, and bound phenolic compounds.

Agradecimientos: The authors Ana María Gómez-Caravaca and Vito Verardo thank the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (MINECO) for “Juan de la Cierva” post-doctoral contracts.

TRANSFER OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM OLIVE FRUITS TO OLIVE OIL IN SIX DIFFERENT OLIVE CULTIVARS GROWN UNDER THE SAME AGRONOMICAL CONDITIONS

Nassima Talhaoui^{1,2}, **Ana María Gómez-Caravaca**^{1,2}, **Lorenzo León**³, **Raúl De la Rosa**³, **Alberto Fernández-Gutiérrez**^{1,2}, **Antonio Segura-Carretero**^{1,2}

¹ Department of Analytical Chemistry, University of Granada, Avda. Fuentenueva s/n, 18071 Granada, Spain;

² Research and Development of Functional Food Centre (CIDAF), PTS Granada, Avda. del Conocimiento s/n, Edificio Bioregión, 18016 Granada, Spain

³ IFAPA Center of "Alameda del Obispo", Avda. Menéndez Pidal s/n, E-14004 Córdoba, Spain;

Olive oil is considered the main fat source of the Mediterranean diet, and it is appreciated for its characteristics such as: aroma, taste, color, and nutritive properties that are distinguishable from other vegetable oils. Several of the positive effects of extra-virgin olive oil (EVOO) are due to antioxidants such as phenolic compounds. However, the amount of phenolic compounds in EVOO varies depending on several factors such as geographical zone, agro-climatic conditions, degree of fruit ripeness and the oil-extraction process. Additionally, the phenolic fraction of olive oil can greatly vary among cultivars and it is related to the initial content of phenolic compounds in the olive-fruit tissues and the activity of enzymes acting on these compounds during the industrial process to produce the oil.

Thus, the aim of this work was to study the transfer of single phenolic compounds from fruits to oil at the laboratory scale, using six different cultivars ('Arbosana', 'Koroneiki', 'Picual', 'Sikitita', 'Arbequina', and 'Changlot Real') grown in the same orchard under the same agronomical and environmental conditions. A total of 33 phenolic compounds were determined by HPLC-DAD-TOF-MS in olive fruits, whereas 20 phenolic compounds were determined in their respective olive oils. Sharp qualitative and quantitative differences were observed in phenolic compounds among the cultivars considered and among olive fruits and olive oils. New compounds appeared in oil after fruit processing, notably aglycone forms because of the partial or total degradation during oil process of some original compounds detected in fruits. Indeed, lignans appeared in oil. Very low percentages of total phenols were transferred from fruits to oils for all cultivars (0.38%–1.95%). No clear differences were detected in the transfer rates of simple phenols among cultivars (0.06%-0.10% of total transfer rate). However, high differences were registered for secoiridoids (4.36%-65.63% of total transfer rate) and for flavonoids (0.18%-0.67% of total transfer rate) in terms of transfer rates. Principal-component analysis confirmed a strong genetic effect on the basis of the phenolic profile both in the olive fruits and in the oils.

Agradecimientos: Ana María Gómez-Caravaca thanks the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (MINECO) for "Juan de la Cierva" post-doctoral contract.

CARACTERIZACIÓN SENSORIAL Y DISCRIMINACIÓN GEOGRÁFICA DE ACEITES DE OLIVA VIRGEN EXTRA DE ORIGEN ESPAÑOL

Ana Sayago, Ángeles Fernández-Recamales, Raúl González-Domínguez, Mercedes Becerra, María Beltrán y Rafael Beltrán

Dpto. Química y Ciencia de los Materiales, Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Huelva, Campus de «El Carmen», Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (CEIA3), Avda. de las Fuerzas Armadas, S/N. 21071 Huelva

La calidad de un aceite de oliva es el conjunto de propiedades o atributos que él posee y que determina el grado de aceptación del consumidor. En el caso del aceite de oliva virgen, a diferencia del resto de las grasas vegetales comestibles, las cualidades organolépticas, es decir su olor y sabor especialmente, son de singular importancia ya que según su propia definición se considera a este producto el auténtico zumo de un fruto, con atributos sensoriales propios que lo hacen verdaderamente diferente. Además el consumo de aceite de oliva proporciona una serie de beneficios a quien lo consume habitualmente, a la vez que hace mucho más apetecibles los alimentos que se condimentan con él.

El análisis sensorial evalúa y cuantifica los atributos positivos (frutado, amargo, picante y otros) y negativos (Atrojado/Borras, Moho/Húmedo/Terroso, avinado/Avinagrado/Ácido/Agrio, Madera húmeda, Rancio y otros), de forma normalizada y con fiabilidad estadística. Constituye, por tanto, una herramienta imprescindible para la clasificación y caracterización del aceite de oliva virgen. Los atributos positivos derivan de los constituyentes químicos de la aceituna en el momento de su cosecha y posterior evolución. También algunas operaciones tecnológicas en las almazaras (principalmente la molturación de la aceituna y el batido de las pasta) pueden causar variaciones en estos atributos.

Para la realización de este estudio, se seleccionaron un total de 50 muestras de aceite de oliva virgen extra procedentes de diferentes áreas geográficas de la península, las cuales fueron analizadas organolépticamente por un panel acreditado de catadores. Todos los atributos fueron puntuados de 1 a 5. Prácticamente la totalidad de las muestras, salvo casos puntuales, obtienen puntuaciones de cero para los atributos negativos, por lo que estas variables no fueron incluidas en el estudio estadístico. Tampoco se incluyeron las variables: alcachofa, tomate, y otros positivos, por la misma razón; ni las variables categóricas referidas al tipo de atributo (verde, maduro).

Las muestras pertenecientes a una misma categoría (origen geográfico) fueron primero analizadas mediante procedimientos univariantes (ANOVA, LSD, y gráficos de araña), seguidos de técnicas multivariantes: no supervisadas (ACP) y supervisadas (LDA y PLS-DA).

El análisis múltiple de la varianza (MANOVA) de los datos obtenidos revela que el origen geográfico no tiene un efecto significativo sobre los atributos estudiados ($p\text{-value} > 0,05$), aunque el análisis univariante muestra diferencias significativas entre las muestras para los atributos amargo y dulce ($p\text{-value}$ igual a 0,09873 y 0,014396, respectivamente). El test LSD pone de manifiesto que las muestras de Navarra presentan un sabor más dulce y las de Ciudad Real más amargo comparadas con el resto de muestras de aceites, mientras que los aceites procedentes de Huelva tiene un flavor a higuera ligeramente superior al resto.

[1] Aparicio, R., & Harwood, J. (2002). *Manual del Aceite de Oliva*. Madrid.

PESTICIDE RESIDUE ANALYSIS IN GRAPE AND WINE SAMPLES BY ELISA AND AN INTEGRATED ON SILICON INTERFEROMETER SENSOR

**Ana Uclés¹, C. Ferrer¹, M.J. Martinez Bueno¹, Zoi Tsiaila², Panagiota Petrou²
Sotirios Kakabakos², Raptis Ioannis³ and A.R. Fernández-Alba¹**

¹ EURL-FV. Universidad de Almería, Agrifood Campus of International Excellence (ceiA3).

² Immunoassays-Immunosensors Lab., INRaSTES, NCSR «Demokritos», Aghia Paraskevi, Greece

³ INN, NCSR 'Demokritos', Aghia Paraskevi, Greece

Benzimidazole fungicides, such as thiabendazole, are pesticides widely used on a broad range of crops as systemic fungicides to control pre-harvest diseases and post-harvest spoilage during storage. As a consequence, residues of these substances can be found in food commodities implying a potential risk for human health. For this reason, maximum residue limits (MRLs) in these products have been established by European Union legislation [1].

In this work, we aim to develop and validate a new pesticide residues direct competitive ELISAs and LC-QqQ-MS/MS for quantitative detection of chlorpyrifos, imazalil and thiabendazole in grape and wine samples. The results were also compared with those received by integrated on silicon chips Mach-Zehnder interferometric immunosensor arrays [2]. For sample preparation 15 g of sample was mixed with 3 mL of acetonitrile and 12 mL of milliQ water, centrifuged for 5 min, diluted with solvent for LC-MS/MS or diluted with de assay buffer for the ELISA analysis and analysed by injecting 10 µl into the system or by following manufacturers' protocol for ELISA.

The analysis in the sensor was performed for wine sample after 30-times dilution with assay buffer while for the grape samples, the homogenate was first centrifuged and then diluted 100-times with assay buffer. Chips were coated with a thiabendazole-bovine serum conjugate and blocked, prior to the fluidic module application. For the assay, mixtures of calibrators or diluted samples with the mouse monoclonal anti-thiabendazole antibody are run over the sensor for 5 min. The assay in matrix had a detection limits ranging from 0.2-0.6 ng/mL, IC₅₀ of 6-10 ng/mL, dynamic range 0.6-83 ng/mL, and was precise (CVs<10%). For thiabendazole, matrix effects below 20% were obtained when grape and wine were diluted 25-fold in assay buffer. Concerning thiabendazole detection with the sensor, no matrix effect was observed when wine and grape samples dilution of 30- and 100-times, was adopted. The limit of detection in the diluted sample was 0.1 ng/mL, the dynamic range 0.2-5 ng/mL, CVs of 9 and 13% and recovery values ranging from 86-108%. Grapes and wine samples were analyzed by ELISAs and the integrated sensor and confirmed with LC-QqQ-MS/MS, obtaining a good correlation.

Acknowledgements: The authors acknowledge funding support from the European Commission under grant agreement number 318319 (FOODSNIFFER PROJECT, FP7-ICT-2011-8).

References:

[1] Regulation (EC) No. 396/2005 of the European Parliament and of the Council of 23 February 2005 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC

[2] Misiakos K, Raptis I, Salapatas A, Makarona E, Botsialas A, Hoekman M, Stoffer R, Jobst G, Optics Express, 2014 22, 8856–8870.

**ANALYTICAL DIFFICULTIES FOR SPECIFIC PESTICIDE-MATRIX COMBINATIONS
ENCOUNTERED IN THE EUROPEAN UNION PROFICIENCY TESTS IN FRUITS
AND VEGETABLES**

**Ana Uclés, Ana Lozano, Sonia Herrera, Samanta Uclés, Carmen Ferrer,
Amadeo R. Fernández-Alba**

EURL-FV. University of Almería, Agrifood Campus of International Excellence
(ceiA3). Almería, Spain.

Participation in proficiency tests, as set out in ISO/IEC 17025, is mandatory for pesticide residue laboratories and has become a very common practice in order to assess the quality of the analytical results, being one of the most relevant activities concerning quality control carried out by pesticide residue laboratories. Proficiency tests are a valuable tool for the laboratories to evaluate their performance, but moreover, they are effective procedures in order to overcome analytical problems.

Over the last 21 years, the European Commission's Directorate-General for Health and Food Safety (DG-SANTE) has organised the European proficiency tests for pesticide residues in fruits and vegetables (EUPT-FV) under the auspices of the European Union Reference Laboratories (EURL). Since 2004 the EURL for Pesticide Residues in Fruits and Vegetables (EURL-FV) in the University of Almería, Spain, has organised them on behalf of DG SANTE. These EUPT-FVs have been carried out on a yearly basis. All official laboratories within the European Union undertaking pesticide residue analyses within the frame of National and EU official controls are obliged to take part in them. From 2009 there are two new proficiency test schemes in fruits and vegetables: one based on screening methods and another one on difficult matrices.

The collection of information during the past years (EUPT-FV06 to EUPT-FV18) involving European official laboratories for pesticide residue control has generated an important database of more than 25 000 pesticide residue results using Multi-residue Methods (MRMs), and has led to very valuable achievements in areas such as sample preparation, data dispersion and statistical evaluation; as well as giving an overview as to the effectiveness of proficiency tests as an important tool in the development of quality control results in laboratories involved in food control. Is from this experience where specific analytical problems have been detected for certain matrix-pesticide combinations. One example is the case of diafenthiuron. That pesticide was present in the EUPT-FV-SM07 test item (broccoli), but only 9% of the laboratories were able to report it. Further investigation was carried out by the EURL-FV and the results thereof will be presented. Another example where the extraction method applied in the proficiency test for a specific compound in a certain matrix influenced the results obtained is the one of chlorothalonil in coriander (EUPT-FV-FH01). In this case, bimodality was observed: one mode with the results obtained by acidifying the sample prior to extraction or using acetone as the extraction solvent, and the other one without acidifying before the extraction using acetonitrile or ethyl acetate based extraction methods.

Acknowledgements: The authors acknowledge funding support from the European Commission, DG SANTE (Specific Agreement No. 7 to Framework Partnership Agreement No. SANCO/2005/FOOD SAFETY/0025-Pesticides in fruit and vegetables).

APROVECHAMIENTO DE EXCEDENTES DE FRESAS PARA LA ELABORACIÓN DE BEBIDAS FERMENTADAS: FACTIBILIDAD ENOLÓGICA

Laura Guerra, Ángeles Fernández-Recamales, Ana Sayago, Raúl González-Domínguez y Rafael Beltrán

Dpto. Química y Ciencia de los Materiales, Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Huelva, Campus de «El Carmen», Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (CEIA3), Avda. de las Fuerzas Armadas, S/N. 21071 Huelva

De acuerdo con los últimos datos publicados por la FAO correspondientes al año 2013-2014, España es el primer país exportador de fresa del mundo (266.450 t) y el cuarto en producción (312.500 t). Cada año, parte de la cosecha, es descartada por diversas razones, incluyendo el tamaño o deformaciones de las bayas, la caída de los precios del producto en fresco o sobreproducción, lo que lleva a excedentes. El uso de estos excedentes se destina, por lo general, a la industria alimentaria para la elaboración de productos manufacturados. En Huelva, el principal destino de estas fresas de industria, es la empresa HUDISA Desarrollo Industrial, la cual se encarga de llevar a cabo los diversos tratamientos requeridos para transformar el fruto, en su conjunto, en un producto adecuado para su posterior utilización en la elaboración de yogures, mermeladas, compotas, batidos u otros acabados de productos que incluyen la fresa.

En este trabajo se estudia la posibilidad de proporcionar otra salida al mercado de estos excedentes. Para ello, se ha evaluado la factibilidad enológica de los distintos tipos de purés (cremogenados) de fresa proporcionados por la empresa HUDISA S.A. Inicialmente se caracterizó la materia prima para valorar la viabilidad del ensayo determinando el contenido en azúcar, pH y viscosidad. Los valores obtenidos fueron adecuados para llevar a cabo una fermentación alcohólica. Se realizaron diferentes ensayos en los que se varió la dilución y tipo de materia prima. Se llevó a cabo la fermentación siguiendo los métodos tradicionales de elaboración del vino.

Durante el proceso de fermentación se realizó el control diario de la temperatura, °Brix, pH, acidez total y densidad. Una vez finalizada la fermentación se procedió a la filtración, trasvase y adición de metabisulfito potásico para la conservación del fermentado. Los productos obtenidos presentaron una elevada turbidez que finalmente se eliminó por centrifugación. La caracterización de los mismos se realizó siguiendo diferentes métodos, en su mayoría espectrofotométricos y volumétricos, para determinar su color, el contenido total en antocianos monoméricos (libres), los polifenoles totales, el índice de polifenoles totales, la actividad antioxidante, la acidez total, el grado alcohólico, el SO₂ libre, total y combinado, así como el perfil fenólico. La investigación realizada ha permitido la obtención de una bebida con una graduación alcohólica de 12° con un intenso y agradable olor a fresa, un color llamativo naranja con tonos rojizos y poseedora de propiedades químicas beneficiosas para la salud, como la actividad antioxidante derivada en parte de su contenido en compuestos fenólicos propios de la materia prima utilizada, la fresa.

Agradecimientos: se agradece a la empresa HUDISA S.A. el suministro de la materia prima.

[1] FAO. (2014). URL <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>.

ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE VINOS DE BAJA GRADUACIÓN ALCOHÓLICA A PARTIR DE CREMOGENADO DE FRESAS.

Ángeles Fernández-Recamales, Ana Sayago, Raúl González-Domínguez, Ikram Akhatou, Juan Carlos Santos-Bermejo y Rafael Beltrán

Dpto. Química y Ciencia de los Materiales, Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Huelva, Campus de «El Carmen», Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (CEIA3), Avda. de las Fuerzas Armadas, S/N. 21071 Huelva

El Real Decreto 1650/1991, de 8 de noviembre, sobre la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la elaboración y venta de zumos de frutas y de otros productos similares, en su artículo 2 del Título Primero, define el puré, pulpa o cremogenado de la manera siguiente: **Puré o pulpa o cremogenado de fruta**, es el producto susceptible de fermentación pero no fermentado obtenido mediante molturación o tamizado de la parte comestible de frutas, enteras o peladas sin eliminar el zumo. También en el mismo artículo define el **puré o pulpa o cremogenado concentrado de fruta** como: *el producto obtenido a partir del puré, la pulpa o el cremogenado de fruta eliminando mediante procedimientos físicos una parte del agua que lo constituye*. Han sido estos purés o cremogenados la materia prima elegida para el desarrollo de un nuevo producto de valor añadido obtenido mediante fermentación.

La elaboración de estos “vinos” se ha realizado siguiendo los métodos tradicionales de vinificación en blanco partiendo de cremogenado con aquenios de 7 ° Brix al que se adicionó agua y azúcar para alcanzar los 12 °Brix que permitiesen obtener un producto fermentado con una graduación alcohólica entre 6-7°.

Durante todo el proceso de vinificación se realizaron controles periódicos de densidad, temperatura, pH, acidez, y °Brix. Una vez finalizado este proceso se adicionó metabisulfito potásico para la estabilización del producto.

El “vino de fresa” obtenido fue caracterizado mediante la determinación de parámetros relacionados con calidad organoléptica, nutricional y nutracéutica (perfil fenólico y volátil, ácidos y azúcares, capacidad antioxidante y parámetros cromáticos). Los resultados obtenidos se compararon con los de muestras de vinos de fruta comerciales (sauco, grosella y cereza).

Agradecimientos: se agradece a la empresa HUDISA S.A. el suministro de la materia prima.

[1] Real Decreto 1650/1991, de 8 de noviembre, por el que se aprueba la reglamentación técnico-sanitaria para la elaboración y venta de zumos de frutas y de otros productos similares. BOE 278, 20 de noviembre de 1991.

LIQUID CHROMATOGRAPHY HIGH RESOLUTION MASS SPECTROMETRY WITH DIELECTRIC BARRIER DISCHARGE IONIZATION FOR MULTICLASS LIPID PROFILING

Felipe J. Lara-Ortega¹, José Robles-Molina¹, Juan F. García Reyes¹,
Joachim Franzke³ Antonio Molina-Díaz^{1,2}

¹ Analytical Chemistry Research Group, University of Jaén, Jaén, 23071 Spain
amolina@ujaen.es

² Center for Advanced Studies in Olives Grove and Olive Oils (CEAOAO), Science and Technology park GEOLIT, E-23620 Mengibar, Spain

³ Leibniz-Institut für Analytische Wissenschaften, Dortmund, Germany

Lipids define a wide group of diverse non-polar substances with essential biological functions like storing energy (triglycerides), regulating (steroids) and cell membranes components (phospholipids). Lipid profiling is an important tool to metabolism processes knowledge, foodstuff quality control, adulteration detection (e.g. seed oils in olive oil) or dietary habits in ancient civilizations. Recently, an ionization source for liquid chromatography/mass spectrometry (LC-MS) -based on dielectric barrier discharge (DBD) principle- was reported by Franzke and co-workers [1]. Due to the different species generated in the plasma jet, DBDI source offers the ability to generate ionizing species in both the positive and negative ionization modes, covering a wide range of polarity. The aim of this work is to explore the potential of HPLC-DBDI-MS for lipid analysis/profiling.

An Agilent 1290 HPLC system equipped with a C18 column (4.6 mm × 150 mm, 1.8 μm particle size) column was used. This system was connected to an Agilent 6220 time-of flight mass spectrometer equipped with a DBDI source integrated in a commercial APCI-housing and mounted in an orthogonal position with respect to the atmospheric pressure mass spectrometer inlet. A helium flow of 500 mL min⁻¹ and a square wave voltage of 3.5 kV were applied to the frontal electrode of DBDI probe. Twenty microliters were injected in each run using a LC flow rate of 0.4 mL min⁻¹ using a gradient of methanol and isopropanol. Ten representative lipids were used (monostearin, monopalmitin (monoglycerides); trimyristin, tristearin triolein, tripalmitin, trilinolein (triglycerides); cholesterol, stigmaterol and sitosterol (sterols). RSD (%) were below 2%, and limits of detection better than 10 μg L⁻¹ were obtained in all cases. A high linearity ($R^2 > 0.998$) was obtained for all lipids over the studied concentration range. The performance of the DBDI method was compared with the commercial APCI source with the aim to show the real application of DBDI source. The comparison was made using solvent standards of lipids and also using lipidic extracts from ancient potteries from Iberian settlements (eighth century BC). The results obtained with DBDI were consistent with those APCI results. Further work is currently undertaken to optimize and improve the results using axial configuration of the DBDI probe. Additional studies are being conducted with edible oil extracts for quality control/authentication purposes.

References

[1] H. Hayen, A. Michels, J. Franzke. Anal. Chem. 81 (2009) 10239-10245.

Acknowledgements. The authors acknowledge funding from Junta de Andalucía through Research Project Ref. AGR-6182, and the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) through Project Ref. CTQ-2012-34297, partially co-financed with FEDER funds.

HIGH-THROUGHPUT METHODOLOGY FOR THE DETERMINATION OF CARBAMATES IN NUTRACEUTICAL PRODUCTS BY UHPLC–MS/MS

**David Moreno-González¹, Edouard Akono Nantia², Faustin P.T. Manfo³,
Ana M. García-Campaña¹, Laura Gámiz-Gracia¹**

¹Dept. of Analytical Chemistry, Faculty of Sciences, University of Granada, Av. Fuentenueva s/n, 18071 Granada, Spain;

²Dept. of Biochemistry, Faculty of Science, University of Bamenda, PO Box 39 Bamibli, Cameroon;

³Dept. of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Science, University of Buea, PO Box 63 Buea, Cameroon.

The term nutraceutical, derived from 'nutrition' and 'pharmaceutical', refers to a food or part of food playing a significant role in providing health and medical benefits, including preventing and treating of disease, correcting or modifying physiological functions in human beings. The importance of nutraceutical in nutritional and pharmaceutical industry is also significantly growing since last decade. From their origins, nutraceuticals can be made up of compounds derived from agricultural activity (such as herbs) which uses increasingly quantity of pesticides to produce more foods and preserve them from pest attacks. Thus, these residues could be present in nutraceutical products.

In this work a modified QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) extraction and ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) were used to determine 23 carbamate pesticides in different nutraceutical products based on artichoke, *Garcinia cambogia*, horsetail, soybean seeds, Black Tang, *floressance fenouil fucus* and aloe vera. The separation was achieved in less than 6 min, using a Zorbax Eclipse plus RRHD C18 column (50 mm × 2.1 mm, 1.8 µm), with a mobile phase of water and methanol, both of them with 0.01% formic acid. The analytes were detected in ESI+ with multiple reactions monitoring mode; fragmentation conditions were optimized in order to obtain the highest sensitivity. QuEChERS methodology was chosen and optimized as sample clean-up. The best results in terms of recovery and matrix effect were obtained using 75 mg of PSA and 25 mg of C18 as sorbents for dispersive solid phase extraction. Full validation was performed with a nutraceutical product based on artichoke, while recovery studies were performed in other samples. Limits of quantification (LOQ) ranged from 0.03-2.80 µg kg⁻¹. The method allowed recoveries between 70 and 110 %, with relative standard deviations lower than 18%. Moreover, pirimicarb (11.9 ± 1.0 µg.kg⁻¹) was found above the LOQ in *floressance- fenouil fucus* sample. The proposed method combines the advantages of QuEChERS methodology (such as simplicity and effectiveness for cleaning-up complex samples) and the high sensitivity, selectivity, short analysis time and identification capability of UHPLC-MS/MS, showing its usefulness for the simultaneous monitoring of these residues in a wide range of nutraceutical products.

Acknowledgements:

The authors acknowledge funding Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (Project Ref: AGL2015-70708-R). DMG thanks the Strengthening Program of I+D+i of the University of Granada for a postdoctoral contract.

SELECTIVE ULTRASOUND-ENHANCED ENZYMATIC HYDROLYSIS OF OLEUROPEIN TO ITS AGLYCON IN OLIVE (OLEA EUROPAEA L.) LEAF EXTRACTS

**María del Mar Delgado Povedano^{1,2,3}, María Dolores Luque de Castro^{1,2,3},
Feliciano Priego Capote^{1,2,3}**

¹ Department of Analytical Chemistry, Annex Marie Curie Building, Campus of Rabanales, University of Córdoba, 14071 Córdoba, Spain.

² ceiA3 Agroalimentary Excellence Campus, University of Córdoba, 14071 Córdoba, Spain.

³ Maimónides Institute of Biomedical Research (IMIBIC), Reina Sofía University Hospital, 14004 Córdoba, Spain.

Olive leaves, a residue generated in the production of virgin olive oil, are characterized by a high phenolic content. The most abundant compound in olive leaves is oleuropein. The aglycon form of oleuropein, obtained by enzymatic hydrolysis, has been widely studied because of its proved pharmacological effects. A preliminary study was carried out to select the most suitable hydrolase among the three more frequently used in the literature. β -glucosidase from *Aspergillus niger* was selected as the enzyme with the highest catalytic activity. Then, the applicability of ultrasound (US) energy to accelerate this enzymatic hydrolysis was tested with the aim of developing a method to obtain oleuropein aglycon from oleuropein in olive leaf extracts in a time as short as possible and with the minimum production of other compounds. A Box-Behnken design (BBD) was used to optimize the US variables duty cycle, amplitude, and cycle time for maximum acceleration of the hydrolysis of oleuropein standard, and the optimum US conditions for achieving maximum yield of oleuropein aglycon were 0.5 s s⁻¹ duty cycle, 50% amplitude and 45 s cycle. After multivariate optimization of the variables involved in the USAEH method, a kinetics study showed that the hydrolysis reaction of oleuropein was complete in only 18.75 min. A drastic shortening of the time required for complete hydrolysis was achieved as compared with a traditional method based on enzymatic incubation, which requires 2 h. US-assisted enzymatic hydrolysis of oleuropein was used as sample preparation strategy prior to quantitative analysis of oleuropein and its aglycon in olive leaves by LC-MS/MS with selected reaction monitoring. The method was applied to obtain oleuropein aglycon from commercial and laboratory extracts obtained from olive leaves, which may be tested in pharmacological applications supported on the bioactivity of oleuropein aglycon.

Acknowledgements: The Junta de Andalucía and FEDER programme are gratefully acknowledged for financial support through project FQM-1602. F.P.C. is sponsored by Ministerio de Ciencia e Innovación (MICINN) through a Ramón y Cajal Contract (RYC-2009-03921). M.M. Delgado Povedano also thanks Ministerio de Educación, Cultura y Deporte (MECD) for an FPU scholarship (FPU14/03068).

PREDICCIÓN DEL PARAMETRO DE SCOVILLE EN PIMENTONES PICANTES A PARTIR DE SU ESPECTRO UV-VIS

Ana Palacios-Morillo, Fernando de Pablos, José Marcos Jurado, Ángela Alcázar, Félix Fernández, Mario Olías

Departamento de Química Analítica, Facultad de Química, Universidad de Sevilla

El pimentón es un condimento natural que se prepara a partir de los frutos de algunas de las variedades de *Capsicum annuum* L., secados por distintos procedimientos y molidos hasta la obtención del producto final en forma de polvo rojo. Este condimento se emplea ampliamente en la industria alimentaria y en la cocina tradicional para aportar color y sabor a carnes, sopas, salsas y guisos. Las especies químicas responsables del color del pimentón son principalmente capsorubina, capsantina y una veintena de pigmentos carotenoides [1]. En cuanto a su sabor, hay que destacar la presencia de capsacinoides, como capsaicina e hidrocapsaicina, que le confieren distintos grados de picor. La determinación de estos compuestos suele llevarse a cabo mediante cromatografía líquida de alta eficacia previa extracción con acetonitrilo y limpieza del extracto mediante extracción en fase sólida [2]. Es común el empleo de una escala organoléptica, la denominada escala Scoville, para cuantificar el grado de picor de los pimientos y salsas derivadas de los mismos. El valor asignado en dicha escala se denomina SHU (Scoville Heat Units) y puede relacionarse con el contenido en capsaicina [3].

En este trabajo se ha utilizado un método cromatográfico para la determinación de capsacinoides en pimentón picante. En primer lugar se realiza una extracción de los capsacinoides con acetonitrilo en un baño de ultrasonido. El extracto se diluye con agua y se hace pasar a través de un cartucho de extracción en fase sólida de C18, recogiendo los capsacinoides con acetonitrilo. La cuantificación se lleva a cabo mediante cromatografía líquida de alta eficacia en fase inversa midiendo la absorbancia a 280 nm. Posteriormente se calcula el parámetro SHU para las muestras analizadas y se clasifican según la escala Scoville. Se desarrollan además varios modelos basados en regresión de componentes principales (PCR), regresión múltiple mediante mínimos cuadrados parciales (PLS-MLR), análisis en componentes principales combinado con redes neuronales artificiales (PCA-ANN) y mínimos cuadrados parciales con redes neuronales artificiales (PLS-ANN) para predecir el intervalo de la escala Scoville al que pertenecen las muestras utilizando el espectro de absorción entre 215 y 315 nm. Los mejores resultados se obtienen con el modelo PLS-ANN con una eficacia del 80%.

[1] A. Palacios-Morillo, J. M. Jurado, A. Alcázar, F. Pablos, *Food Chem.* 62 (2016) 243-249.

[2] J. Juangsamoot, C. Ruangviriyachai, S. Techawongstien, S. Chanthai, *Int. Food Res. J.* 19 (2012) 1217-1226.

[3] J. D. Batchelor, B.T. Jones, *J. Chem. Educ.* 77 (2000) 266-267.

EXTRACCIÓN ASISTIDA POR MICROONDAS DE ANTOCIANINAS Y COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES EN ENDRINAS (*PRUNUS SPINOSA*)

Gerardo Fernández Barbero¹, Ángel Caballero Foncubierta¹, Isabel Jaramillo Rodríguez¹, Ceferino Carrera Fernández², Marta Ferreiro González¹, Miguel Palma Lovillo¹, Carmelo García Barroso¹

¹ Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (ceiA3), IVAGRO, P.O. Box 40, 11510 Puerto Real, Cádiz, España.

² Centro Andaluz de Investigaciones Vitivinícolas, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (ceiA3), IVAGRO, Universidad de Cádiz, Campus de Puerto Real, 11510 Puerto Real, Cádiz, España.

Las endrinas (*Prunus spinosa*) son una baya producidas por los endrinos, de tamaño generalmente comprendido entre 10-12 mm, de color azulado-púrpura y de sabor astringente. Son un fruto valorado ampliamente por sus propiedades antioxidantes debido a su alto contenido en compuestos fenólicos y antocianinas [1]. La elevada concentración de estos compuestos en las endrinas hace que el consumo de éstas tenga unos marcados efectos antioxidantes, antiinflamatorios y anticancerígenos [2,3]. Estos frutos se emplean para la elaboración del pacharán, dándole sus características organolépticas y de color a esta bebida. Debido a su extendido uso para la elaboración de esta bebida, y a la elaboración de otros productos como mermeladas o jaleas, se hace necesario contar con técnicas de extracción y análisis rápidas y cuantitativas de sus principales compuestos de interés biológico como son los compuestos fenólicos y las antocianinas. Para el desarrollo de la extracción asistida por microondas se ha empleado arándanos liofilizados convenientemente molidos. La identificación de las antocianinas se ha realizado mediante UHPLC-Q-ToF-MS y su análisis por UHPLC-UV-Vis. Los compuestos fenólicos totales han sido cuantificados mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. En el desarrollo de las técnicas de extracción de antocianinas y compuestos fenólicos en los arándanos, se ha utilizado un diseño de experimentos de tipo Box-Behnken. Este diseño de experimentos ha empleado 4 variables independientes: temperatura, porcentaje de metanol en el disolvente de extracción, pH del disolvente de extracción, y relación cantidad de muestra/volumen de disolvente. Se ha observado que para la extracción de antocianinas totales el parámetro que más influye es el porcentaje de metanol en el disolvente de extracción. A la hora de extraer los compuestos fenólicos totales el parámetro que más influye es la temperatura de extracción seguido por el disolvente de extracción. Una vez desarrollados ambos métodos se ha realizado un estudio sobre la cinética de extracción. Los dos métodos de extracción desarrollados han presentado una alta repetitividad y reproducibilidad. Paralelamente se ha realizado un seguimiento sobre la elaboración del pacharán durante 6 meses, realizándose un estudio sobre el proceso de extracción de las endrinas mensualmente. Las técnicas de extracción desarrolladas se han aplicado para el análisis de los residuos de las endrinas obtenidos en cada punto de control del estudio de la cinética de elaboración del pacharán.

[1] R. Guimarães, L. Barros, M. Dueñas, A.M. Carvalho, M.J.R.P. Queiroz, C. Santos-Buelga, I.C.F.R. Ferreira, *Food Chem.* 141 (2013) 3721-3730.

[2] R. Pinacho, R.Y. Cavero, I. Astiasarán, D. Ansorena, M.I. Calvo, *J. Funct. Foods* 19 (2015) 49-62.

[3] R. Guimarães, L. Barros, R.C. Calhelha, A.M. Carvalho, M.J.R.P. Queiroz, I.C.F.R. Ferreira, *Plant Foods Hum. Nutr.* 69 (2014) 37-42.

DESARROLLO DE TÉCNICAS DE ANÁLISIS PARA LA DETECCIÓN DE ADULTERACIÓN DE MIELES CON SIROPE DE MAÍZ

Isabel Jaramillo Rodríguez¹, Estrella Espada Bellido¹, Gerardo Fernández Barbero¹, Marta Ferreiro González¹, Miguel Palma Lovillo¹, Carmelo García Barroso¹

¹ Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (ceiA3), IVAGRO, P.O. Box 40, 11510 Puerto Real, Cádiz, España.

La miel es un fluido dulce y viscoso producido por las abejas a partir del néctar de las flores o de secreciones de partes vivas de plantas o de excreciones de insectos chupadores de plantas. Las abejas lo recogen, transforman y combinan con la enzima invertasa que contiene la saliva de las abejas y lo almacenan en los panales donde madura. Las características físicas, químicas y organolépticas de la miel vienen determinadas por el origen botánico del néctar que recogen las abejas. La miel es un alimento ampliamente consumido a nivel mundial lo que le hace tener una enorme importancia económica. La mayor parte del contenido de la miel corresponde a azúcares (glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa, entre otros), siendo también un componente importante de ella el agua (14-22%). El hecho de que la miel sea un alimento relativamente costoso, hace que en determinadas ocasiones pueda ser objeto de adulteración con azúcares más refinados y baratos como pueden ser siropes provenientes de la hidrólisis del maíz [1]. Dado la existencia de esta práctica, se hace necesario el desarrollo de técnicas analíticas rápidas y fiables para la detección de estos fraudes en la miel. Para llevar a cabo este estudio se han empleado 50 mieles comerciales de distinta procedencia y origen, a las cuales se les ha añadido un sirope de glucosa y fructosa proveniente del maíz, a dos niveles de adulteración (20 y 40%). Las técnicas analíticas empleadas para el estudio han sido la espectroscopía en el infrarrojo cercano (NIRS) [2] y la espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) [3]. Para poder identificar las adulteraciones, fue necesario aplicar técnicas quimiométricas no supervisadas como el Análisis de Componentes Principales (PCA) y Análisis de Clúster (CA), y técnicas quimiométricas supervisadas fundamentalmente, Análisis Discriminante (DA). Mediante espectroscopía NIR se ha medido cada muestra y sus adulteraciones en un rango de longitudes de onda comprendido entre los 400 y los 2500 nm. Mediante ICP-MS se ha realizado un análisis cualitativo de metales en las mieles y sus adulteraciones, evaluando los siguientes metales: calcio, cobre, hierro, magnesio, manganeso, fósforo, potasio, sodio, zinc, plomo y cadmio, entre otros. Para estandarizar los valores cualitativos obtenidos se han empleado dos patrones de metales prácticamente inexistentes en las mieles, como el rodio y el escandio.

De las 150 muestras totales (mieles puras y adulteradas), se han empleado 120 para el desarrollo de los métodos y 30 para la validación. Tanto la técnica NIRS como ICP-MS han sido capaces de discriminar la adulteración de las mieles a los niveles estudiados mediante el empleo de las técnicas quimiométricas.

[1] S. Wang, Q. Guo, L. Wang, L. Lin, H. Shi, H. Cao, B. Cao, *Food Chem.* 172 (2015) 669-674.

[2] G. Bázár, R. Romvári, A. Szabó, T. Somogyi, V. Éles, R. Tsenkova, *Food Chem.* 194 (2016) 873-880.

[3] G. Di Bella, V. Lo Turco, A.G. Potorti, G.D. Bua, M.R. Fede, G. Dugo, *J. Food Comp. Anal.* 44 (2015) 25-35.

MULTIRESIDUE ANALYSIS OF VETERINARY DRUGS IN FOOD SAMPLES BY NANOFLOW LIQUID CHROMATOGRAPHY HIGH RESOLUTION MASS SPECTROMETRY

**Jaime Alcántara-Durán¹ David Moreno-González¹, Antonio Molina-Díaz¹
Juan F. García-Reyes¹**

¹Analytical Chemistry Research Group, Department of Physical and Analytical Chemistry, University of Jaén, 23071 Jaén (Spain) jaduran@ujaen.es

The presence of veterinary drugs residues in the food chain is of increasing concern provided the adverse effect for human health, such as allergic reactions in hypersensitive individuals, their potential carcinogenic character and the possible development of antibiotic resistance. To safeguard human health, the European Union (EU) has established a maximum residue limit (MRL) for some antibiotics in foods from animal origin. Downsizing the flow stream in liquid chromatography electrospray tandem MS has been proven to be an interesting alternative to standard analytical size approaches, provided the significant benefits in terms of sensitivity and matrix effect reduction. In this sense, the use of nanoflow liquid chromatography coupled to nanospray MS detection has been restricted so far to selected bioanalytical applications (eg. proteomics). The introduction of more robust and reproducible ultra-high pressure nanoflow LC instrumentation along with new column technology integrating nanoLC column and nano-ESI spray emitter in an easy-to-use plug-and-run fashion has made accessible such sophisticated approach to routine work, avoiding typical nanoLC issues. In this work, a new nanoLC-MS method has been developed for the multiresidue determination of veterinary drugs in different food matrices.

A Thermo Scientific EASY-nLC 1000 nano-LC system was used. An EASY-Spray column PepMap® (RSLC, C18, 3 µm, 100Å, 75 µm x 150 mm) was employed. Mobile phases A and B were water and MeCN, respectively, both of them with 0.1 % formic acid. The injection volume was 1 µL. Flow rate was set at 300 nL min⁻¹. A Thermo Q-Exactive Orbitrap mass spectrometer equipped with an Easy-Spray nano-electrospray ion source was used. The ESI parameters in positive polarity were as follows: spray voltage: 2.2 kV; capillary temperature: 220°C; S-lens RF level: 60. Q-Exactive worked in all ion fragmentation (AIF) and full scan mode. To obtain a satisfactory separation with the shortest analysis time, different elution gradients were checked. The gradient was as follows: The eluent gradient profile was as follow 8 % B at the beginning; 27 % B from 0 to 7 min; 95 % B from 7 to 22 min; 100 % B from 22 to 30 min; this 100 % B was maintained for 5 min; 2% B from 30 to 31min. The proposed method for the determination of veterinary drugs was examined in food samples or animal origin, such milk, honey, egg, beef and tuna. QuEChERS procedure was selected as sample treatment. The use of nanoLC allowed a significant improvement in terms of LOQs. Thus, a dilution factor of 1:20 was implemented in the method to minimize matrix effects. Preliminary data shows that the LOQs for all compounds studied were lower than their correspond MRL establishing for the current legislation.

Agradecimientos:

The authors acknowledge funding from the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) through Project Ref. CTQ-2015-71321, partially co-financed with FEDER funds. D.M.G. thanks the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) for a *Juan de la Cierva* postdoctoral contract.

COMPUESTOS VOLÁTILES COMO MARCADORES DE TRAZABILIDAD DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN

I. Romero del Río¹, C. Oliver-Pozo², N.Tena², R. Aparicio-Ruiz¹, D.L. García-González², R. Aparicio², M.T. Morales¹

¹Dpto. Química Analítica. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla.
c/ Prof. García González 2, 41012-Sevilla

²Instituto de la Grasa (CSIC). Edificio 46, Campus Universitario Pablo de Olavide.
Ctra. de Utrera, Km. 1, 41013-Sevilla

La trazabilidad de los alimentos es un tema relevante en seguridad alimentaria, que necesita de herramientas analíticas para conseguir rastrear sus productos. Las metodologías analíticas deben centrarse en la determinación de analitos marcadores de trazabilidad y poseer el grado de validación adecuado para la obtención de resultados fiables.

Los compuestos volátiles son responsables del aroma del aceite de oliva virgen, juegan un papel importante en su calidad y aceptabilidad, pero su utilidad es más amplia y pueden ser utilizados como marcadores tanto de calidad como de trazabilidad. La composición volátil depende de muchos factores, que incluyen desde la variedad de aceituna y las condiciones ambientales a los aspectos tecnológicos utilizados para la producción del aceite. Los volátiles pueden proporcionar información útil para la caracterización y evaluación de las prácticas de fabricación y frescura del aceite. El perfil volátil del aceite de oliva virgen de alta calidad es drásticamente diferente de los obtenidos mediante la aplicación de prácticas inadecuadas en diferentes puntos de la cadena de producción. Los compuestos son diferentes dependiendo de las prácticas empleadas, principalmente las relacionadas con el procesamiento de la aceituna, proceso de extracción y condiciones de almacenamiento del aceite [1-3].

El objetivo del trabajo es establecer los compuestos volátiles que pueden servir como marcadores de trazabilidad de los aceites utilizando métodos analíticos validados. Diferentes prácticas que originan aceites de oliva virgen con defectos sensoriales son evaluadas en este trabajo. Los perfiles de volátiles de las muestras de aceite sometidas a diferentes malas prácticas han sido analizados mediante métodos validados basados en DHS-GC, SPME-GC y SPME-GC-MS y se sugieren posibles marcadores para los principales defectos sensoriales. Varios tipos de compuestos pueden estar asociados con los procesos sufridos por el aceite, que pueden ayudar a realizar la trazabilidad del aceite "desde el árbol a la mesa".

Los resultados experimentales han sido validados utilizando un conjunto de muestras sometidas a diferentes tratamientos para evaluar la solidez de los resultados.

El estudio de la composición de compuestos volátiles característica de cada defecto sensorial facilita marcadores útiles que permiten la comprensión no sólo el origen químico o bioquímico del defecto sensorial, sino también del tratamiento sufrido por la aceituna y/o el aceite durante el proceso de producción, por lo que ayuda a rastrear la historia de los aceites de oliva vírgenes.

[1] M.T. Morales; G. Luna; R. Aparicio. *Food Chemistry* 91 (2005) 293-301.

[2] R. Aparicio; M.T. Morales; L. García-González. *European Journal of Lipid Science and Technology* 114 (2012) 1114-1125.

[3] I. Romero; D.L. García-González, R. Aparicio-Ruiz, M.T. Morales. *Talanta* 134 (2015) 394-401.

**PARALLEL HILIC/REVERSED-PHASE CHROMATOGRAPHY FOR
COMPREHENSIVE LC-MS METHODS FOR PESTICIDE RESIDUE ANALYSIS IN
FOOD**

**José Robles-Molina¹, Rocío Nortes-Méndez¹, Juan F-García-Reyes¹,
Antonio Molina-Díaz^{1,2}**

¹ Dirección University of Jaén, Analytical Chemistry Research Group, Department of Physical and Analytical Chemistry, Campus Las Lagunillas, 23071, Jaén,

² Centro de Estudios Avanzados en Oliver y Aceite de Oliva (CEAOAO), University of Jaén, Parque Científico Tecnológico Geolit, E-23620, Mengíbar, Jaén, Spain

jrobles@ujaen.es

Pesticide testing of foodstuffs is usually accomplished with generic wide-scope multi-residue methods based on liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). However, this approach does not cover some special pesticides, the so called "single-residue method" compounds, that are hardly compatible with standard reversed-phase (RP) separation due to their specific properties. Hence, they are mostly excluded from comprehensive multiresidue methods. In this article, we have developed a comprehensive strategy for the integration of single residue method compounds and standard multiresidue pesticides within a single run. It is simply based on the use of a parallel LC column assembly with two different LC gradients performing orthogonal hydrophilic interaction chromatography (HILIC) and reversed-phase (RPLC) chromatography within one analytical run. Two sample aliquots were simultaneously injected on each column, using different gradients, being the eluents merged post-column prior to mass spectrometry detection. The approach was tested with ca. 45 multiclass pesticides covering a wide range of physicochemical properties across several orders of log Kow (from -7 to +6). With this assembly, distinct separation from the void was attained for all the pesticides studied, keeping the same performance in terms of sensitivity, peak area reproducibility (< 6 % in most cases) and retention time stability of standard single column approaches. The application of the proposed approach using parallel HILIC/RPLC and RPLC/aqueous normal phase (Obelisc) were assessed in tomato and leek using LC-TOFMS and LC-MS/MS. For this purpose, a novel sample treatment approach was proposed and evaluated based on solvent extraction with MeOH and acetonitrile followed by dispersive solid-phase extraction, which provided appropriate recoveries (between 45 and 134 %) for most of the pesticides included in the study within the log Kow range from -4 to + 5.5). The proposed strategy can be applied to other fields such as sport drug testing or environmental analysis, where the same type of variety of analytes and poor retention within a single chromatographic separation is found.

APLICACIÓN DE TÉCNICAS DE RECONOCIMIENTO DE PATRONES A LA AUTENTICACIÓN DE LA ALIMENTACIÓN DEL CERDO IBÉRICO

**José Marcos Jurado^{1,2}, Manuel León-Camacho^{1,3}, Fernando de Pablos^{1,2},
Mónica Narváez-Rivas³, Ángela Alcázar^{1,2}**

¹ Grupo de Caracterización y Quimiometría de Grasas Animales. Unidad Asociada CSIC-Universidad de Sevilla

² Departamento de Química Analítica, Facultad de Química, Universidad de Sevilla

³ Departamento de Caracterización y Calidad de Lípidos, Instituto de la Grasa-CSIC, Sevilla

El sistema tradicional de producción del cerdo Ibérico ha sobrevivido gracias a las características de aroma y sabor que confiere a sus productos derivados, en especial el jamón curado, muy apreciado por los consumidores. El sistema de cría al aire libre tiene además un impacto positivo en el consumidor porque aumenta el bienestar animal, reduce el impacto ambiental y protege los sistemas de ganadería tradicionales [1, 2]. Los animales se crían en el campo, alimentándose de bellotas y pasto, en un sistema denominado montanera (M), que da lugar al producto denominado de bellota. En muchas ocasiones la alimentación del animal se puede complementar con piensos compuestos durante el periodo final de crianza en un sistema denominado de cebo. Si se alterna la alimentación con pastos al aire libre con la alimentación a base de pienso se habla de cebo extensivo (CE), mientras que si la alimentación es a base de piensos con los animales estabulados se conoce como cebo intensivo (CI). Con lo cual es frecuente hablar de forma general de sistemas de alimentación extensivo (E) refiriéndose a la montanera y cebo extensivo y de sistema intensivo (I) para referirse exclusivamente al cebo intensivo [3,4]. Obviamente, los productos más apreciados, y por tanto los de mayor precio, son aquellos que provienen del sistema extensivo, especialmente los de montanera.

La importancia económica de estos productos hace que sea necesaria la búsqueda de herramientas que permitan asegurar la autenticidad de los mismos. El análisis químico puede aplicarse a la diferenciación de productos obtenidos de animales alimentados mediante los sistemas descritos. En ese sentido es necesario caracterizar químicamente el producto y usar los componentes determinados como descriptores químicos para crear modelos matemáticos de diferenciación. Entre los perfiles químicos empleados con el fin de diferenciar sistemas de alimentación se encuentran los metil esteroides, triglicéridos y compuestos volátiles que se encuentran en la grasa subcutánea de los productos derivados. La etapa de clasificación se lleva a cabo empleando técnicas de análisis multivariante y de reconocimiento de patrones como el análisis de componentes principales (PCA), análisis discriminante lineal (LDA), modelado suave independiente por analogía de clases (SIMCA) y redes neuronales artificiales (ANN). En este trabajo se presentan los resultados obtenidos a partir de los compuestos citados empleando diferentes técnicas de reconocimiento de patrones.

[1] J. M. Jurado, A. Jiménez-Lirola, M. Narváez-Rivas, E. Gallardo, F. Pablos, M. León-Camacho, *Talanta* 106 (2013) 14-19.

[2] M. Narváez-Rivas, F. Pablos, J. M. Jurado, M. León-Camacho, *Anal. Bioanal. Chem.* 399 (2011) 2115-2122.

[3] M. Narváez-Rivas, E. Gallardo, J. M. Jurado, I. Vieira, F. Pablos, M. León-Camacho, *Grasas y Aceites*, 64 (2013) 127-137

[4] E. Gallardo, M. Narváez-Rivas, F. Pablos, J. M. Jurado, M. León-Camacho, *J. Agric. Food Chem.* 60 (2012) 1645-1651

EVALUATION OF ZIRCONIA-BASED QuEChERS FOR DETERMINATION OF CARBAMATES IN HIGH-FAT CHEESES BY ULTRA-HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY–TANDEM MASS SPECTROMETRY

A.M. Hamed, D. Moreno-González, A.M. García-Campaña, L. Gámiz-Gracia

Department of Analytical Chemistry, Faculty of Sciences, University of Granada,
Campus Fuentenueva s/n, 18071 Granada, Spain
(lgamiz@ugr.es)

Carbamates (CRBs) are pesticides widely used for agricultural activities and the presence of their residues in processed foods could have adverse health effects. Due to their high lipid content, cheese may be considered a good indicator of indirect contamination of foodstuffs by CRB residues. However, the determination of CRB residues in cheeses is still a challenge, as these matrices are highly complex, including as main components fat, protein, salt and carbohydrates, and requiring sample treatments with exhaustive clean-up.

In this work a selective and sensitive multiresidue method based on QuEChERS methodology has been evaluated and validated for the determination of 28 CRB residues in high-fat cheeses using ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS). The separation of CRBs was achieved in less than 6 min, using a Zorbax Eclipse plus RRHD C18 column (50 mm × 2.1 mm, 1.8 µm), with a mobile phase of water and methanol, both of them with 0.01% formic acid (flow rate 0.5 mL min⁻¹, 25 °C). The analytes were detected in ESI+ with multiple reaction monitoring (MRM) mode.

QuEChERS methodology has been proposed as a good alternative for extraction and clean-up. Moreover, a new sorbent, SupelTM QuE Z-Sep⁺ has been tested for dispersive solid phase extraction (dSPE), after extraction of CRB with acetonitrile. Z-Sep⁺ was compared with other sorbents previously reported for dSPE of fatty matrices (i.e. mixture of C18 and PSA), resulting in reduced matrix effects (ME) without a significant decrease of analyte recoveries. Thus, ME was studied in different samples (Gorgonzola, Roquefort and Camembert cheeses) being ≤ 31% for all the studied pesticides. Matrix matched calibration were performed with R² > 0.991 and linear dynamic ranges between 5–150 µg kg⁻¹. Under optimum conditions, recoveries ranged from 70-115%, with relative standard deviations (RSD) lower than 13%, obtaining limits of quantification within the range of 0.5-5.4 µg kg⁻¹, lower than those usually permitted by current European regulations in food matrices.

As a conclusion, UHPLC–MS/MS combined with a modified QuEChERS based on the use of Z-Sep⁺ could be used as a rapid, convenient and high throughput method for clean-up and analysis of pesticide residues in high-fat cheese samples at trace concentrations. The results in terms of sensitivity, selectivity, precision, cleanliness of extracts and ME indicated that this new sorbent is an interesting alternative for dSPE of matrices with a high fat content.

Acknowledgements: Financial support from Junta de Andalucía (Project Ref: P12-AGR-1647). AMH thanks the “Erasmus Mundus - Al Idrisi II program” for a predoctoral grant.

DETERMINACIÓN DE FOSFOLÍPIDOS EN ALIMENTOS MEDIANTE UHPLC-(ORBITRAP)MS

Lucía Valverde Som¹, Cristina Ruíz Samblás¹, Luis Cuadros Rodríguez¹

¹ Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, C/ Fuentenueva s/n C.P. 18071

Los fosfolípidos son compuestos esenciales en las membranas celulares y están presentes en todas las especies vivas de las que proceden los alimentos (tejidos animales y vegetales). Las matrices alimentarias en las que se encuentran los fosfolípidos son: leche, carne, pescado, huevos, cereales y aceites. Estos ofrecen un alto valor nutricional, siendo favorables para la salud humana por reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, reducir los niveles de colesterol en sangre y mejorar las funciones cerebrales. Además presentan propiedades antioxidantes.

La denominación de lecitina engloba un amplio grupo de lípidos saponificables, cuyos componentes más abundantes son los fosfolípidos.

La lecitina se encuentra en alimentos de origen animal como los huevos y el hígado. Así como en plantas y frutos secos: nueces de Brasil, semillas de opio, semillas de lino, semillas de calabacín, semillas de girasol, semillas de sésamo, soja, lenteja negra, cacahuete, etc. Entre ellos destaca la lecitina de soja por ser comercializada como complemento alimenticio en herbolarios, centros dietéticos y, en general, en tiendas de alimentación. Además está presente en muchos alimentos puesto que se usa como emulsionante, capaz de mezclar de forma homogénea el aceite y el agua en productos como chocolate, pasteles, caramelos, quesos procesados, preparados para ensaladas, etc.

Los fosfolípidos presentes en la lecitina de soja son: fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol y ácido fosfatídico. Estos fosfolípidos son muy abundantes, pudiendo alcanzar hasta el 97% del total de la composición de la lecitina de soja.

Cada uno de ellos presenta un tipo de fosfolípido u otro en función de los ácidos grasos que aparecen en los enlaces *sn-1* y *sn-2* del esqueleto central de glicerol en la estructura de los fosfolípidos. Debido a ello, es adecuado el uso de equipos de alta resolución para su determinación.

En bibliografía existen numerosos artículos que describen métodos para la determinación de fosfolípidos mediante cromatografía de líquidos en fase normal, principalmente en matrices biológicas (tejidos, células, sangre), en menor medida aparecen publicaciones en alimentos y son pocos los antecedentes publicados en lecitina de soja y en el uso de la fase invertida.

En esta comunicación se presenta el método cromatográfico optimizado en fase invertida con un equipo de cromatografía líquida acoplado a un detector de espectrometría de masas de alta resolución, con analizador orbitrap™ para la determinación de fosfolípidos en lecitina de soja comercial.

HIGH-RESOLUTION MASS SPECTROMETRY AND ACCURATE MASS MEASUREMENTS FOR THE CHARACTERIZATION OF NIAS FROM NEW ANTIMICROBIAL FOOD PACKAGING MATERIALS

M.J. Martinez Bueno¹, L. Rajski¹, S. Uclés¹, M.D. Hernando², C. Silvestre³, S. Cimmino³ and A.R. Fernández-Alba¹

¹ EURL-FV. University of Almeria, Agrifood Campus of International Excellence (ceiA3).

² National Institute for Agricultural and Food Research and Technology (INIA)

³ Institute for Polymers, Composites and Biomaterials, Consiglio Nazionale delle Ricerche (IPCB)-CNR

One important function of food packaging materials (FPMs) is to prevent food deterioration, extending shelf-life, maintenance of quality and assurance of safety by control or inhibition of pathogen growth.

Over the last decade, a wide variety of functional packaging based on polymeric materials has been developed and introduced into the market. Functional packaging materials (FPMs) may include functional additives, among them organic chemicals, such as antioxidants, antimicrobial agents, antistatic agents, anti-fog agents, clarifying agents, or stabilizers. FPMs are intended to come into contact with food products and need to be tested for potential leach out of the plastic material, at levels harmful to human health. Only substances included under EU regulation can be used intentionally in the manufacturing of plastic materials [1]. Non-intentional added substances (NIAS), namely substances with a molecular weight below 1000 Da, may be released because of degradation processes, due to interaction between constituents of the packaging material or because they are impurities of the raw materials.

Migration test conditions and simulants used for the packaging materials assays were selected according to Regulation 10/2011/EU [1]. Packaging materials evaluated consisted in monolayer nanomaterials which present an improved barrier properties, as an alternative to the multilayer packaging materials (complex production, high cost and generally not recyclable nature).

This work presents a multi-analytical approach by High-Resolution Mass Spectrometry (HRMS) for investigation of both GC and LC amenable NIAS consisted of initial peak detection, and structural characterization based on accurate mass acquisition of both full-scan and fragmentation spectra. Workflow for unknown screening comprised retrospective analysis and data processing using both mass spectral library and databases. The screening approach provided tentative identification of LC-amenable NIAS: 2,4,6 triamino-1,3,5-triazine; azepan-2-one; (2E)-3-phenylprop-2-enal and GC-amenable NIAS: diethyl phthalate (DEP).

Agradecimientos: The authors wish to thank the financial support given by the EU's Seventh Framework Programme for Research FP7-ERANET-SUSFOOD "CEREAL Project" and by the National Institute for Agricultural and Food Research and Technology Ref. ERA35-CEREAL-INIA.

Referencias:

[1] Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food.

**ANALYSIS OF PESTICIDES IN FRUITS AND VEGETABLES
BY SIMULTANEOUS MS AND MS² WORKFLOWS OF LC/Q-ORBITRAP**

Ł. Rajski¹, MdM. Gómez Ramos¹, M.J. Martínez Bueno¹, A. R. Fernández-Alba¹

¹European Union Reference Laboratory for Pesticide Residues in Fruit & Vegetables. University of Almeria, Agrifood Campus of International Excellence (ceiA3).

During last decade high resolution accurate mass spectrometers have improved qualitative (resolution, mass accuracy) as well as quantitative (sensitivity, linear range) aspects. HARMS instruments are well known for their high selectivity in full MS mode. Nevertheless even spectrometers which have very high resolution may produce false positive results. Isotopic pattern and alternative adducts not always can correctly discard false positives. A solution to reduce number of false positive results is application of simultaneous full MS and MS².

The objective of this work was to compare three workflows of simultaneous MS and MS²: All Ion Fragmentation (no precursor ion selection, ions from entire mass range fragmented at the same time), variable Data Independent Acquisition (no precursor ion selection, mass range divided into smaller segments before fragmentation) and data dependent MS² (selection of precursor ion). Acetonitrile extracts (blanks and spiked with 166 pesticides) of 11 fruits and vegetables were used for the evaluation. Blank extracts were used to evaluate potential false positives (considering retention time window of 0.2 min) whereas spiked extracts (at 0.01 mg/kg and 0.1 mg/kg) to evaluate the false negatives. Samples were analysed with Q-Orbitrap working with resolution of 70,000 (at m/z 200) in full scan MS and 17,500 or 35,000 in MS² mode.

Detection and quantitation were carried out in full MS. MS² data were used for identification. Dd MS² provided the highest number of points per chromatographic peak and by that peak area repeatability was the best. AIF and vDIA were characterised by longer cycle times thus obtained peak area repeatability was slightly worse but acceptable. All workflows showed very good linearity in the range 0.01 - 0.5 mg/kg. Dd MS² had the highest identification rate (96-100%, depending on the matrix). In vDIA it was 86-100% and in AIF 81-100%. But, these two last mode offer high screening capabilities.

In terms of identification the best results were obtained with dd MS². Problems were observed only when precursor ion had low abundance. In AIF and vDIA more false negative results were obtained. AIF and vDIA are less selective than dd MS² thus more interfering ions is present in MS² spectra. However great advantage of AIF and vDIA over dd MS² is non-targeted acquisition of the workflow. For analysis of routine samples dd MS² seems to be better solution because MS² identification is more infallible.

ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE LA CAPACIDAD DE LA ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CERCANO PARA LA PREDICCIÓN DE NUTRIENTES EN HOJA DE OLIVO

Francisco Comino Romero¹, Ana Domínguez Vidal¹, Víctor Aranda Sanjuán², María José Ayora Cañada¹, Antonio Díaz Aguilar³

¹ Departamento de Química Física y Analítica, Universidad de Jaén, Campus Las Lagunillas s/n, 23071-Jaén, España.

² Departamento de Geología, Universidad de Jaén, Campus Las Lagunillas s/n, 23071-Jaén, España.

³ Agroconsulting. Olivicultura de precisión. C/Huelma, s/n, 23009-Jaén, España.

La producción de aceite de oliva es un negocio de gran importancia a nivel mundial, especialmente en Andalucía, y sobre todo en la provincia de Jaén. La demanda de este producto crece año a año, en gran parte debido a los efectos beneficiosos que este alimento tiene sobre la salud. Para satisfacer esta demanda, el cultivo de olivar se ha intensificado durante las últimas tres décadas, a costa de utilizar gran cantidad de recursos [1]. Para conseguir maximizar la producción de este cultivo, minimizando el coste ambiental, es necesario realizar un abonado adaptado a las necesidades reales de la planta, cuyo estado nutricional es determinado a través del análisis de la hoja. Los análisis de hoja para macro (N, P, K, Ca y Mg) y micronutrientes (Mn, Zn y B) requieren de la utilización de equipos de absorción atómica, espectrofotómetros, así como otros equipos, lo que conlleva un elevado coste en tiempo y dinero. La espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR) es una técnica que podría reemplazar eficazmente a los típicos análisis de laboratorio para la hoja de olivo, ya que esta técnica ha demostrado ser efectiva a la hora de predecir la concentración de nutrientes en hojas de otras plantas, con buenos resultados para macronutrientes, y resultados más discretos para micronutrientes, si bien los resultados difieren según la planta utilizada [2]. En el caso de la hoja de olivo solo se ha estudiado la capacidad de esta técnica para predecir niveles de Nitrógeno [3]. En nuestro estudio realizamos un primer acercamiento a la predicción de macro y micronutrientes en hoja de olivo mediante espectroscopía de infrarrojo cercano con transformada de Fourier (FT-NIR), para lo cual medimos los espectros NIR de 434 muestras de hojas de olivo, cogidas en diferentes parcelas durante diferentes épocas del año. Estos espectros, debidamente preprocesados para disminuir el ruido, fueron sometidos a una regresión de mínimos cuadrados parciales (PLSR), con validación cruzada de bloques aleatorios. Los resultados obtenidos son bastante prometedores para la mayoría de nutrientes, con ajustes en la validación cercanos a 0.8 (N, K y Ca) y 0.7 (P y B), presentando algunos nutrientes mayor dificultad a la hora de su predicción. Estos resultados demuestran que esta técnica tiene potencial para predecir el estado nutricional del olivo, si bien es necesario un estudio más completo para desarrollar modelos que sean capaces de sustituir al análisis de laboratorio.

Referencias:

- [1] G. Camarsa, S. Gardner, W. Jones, J. Eldridge, T. Hudson, E. Thorpe, & E. O'Hara, LIFE among the olives Good practice in improving environmental performance in the olive oil sector. European Commission, Luxembourg, (2010)
- [2] H. Liao, J. Wu, W. Chen, W. Guo, & C. Shi, Journal of Plant Nutrition 35(11) (2012) 1725-1734.
- [3] N. Rotbart, Z. Schmilovitch, Y. Cohen, V. Alchanatis, R. Erel, T. Ignat, C. Shenderay, A. Dag U. Yermiyahu, Biosystems Engineering, 114(4) (2013) 426-434.

EVALUATION OF A MOLECULAR IMPRINTED SOLID PHASE EXTRACTION PROCEDURE AND CAPILLARY LIQUID CHROMATOGRAPHY METHOD FOR THE DETERMINATION OF 5-NDZ RESIDUES IN AQUACULTURE PRODUCTS

Maykel Hernández Mesa*, David Moreno González, Carmen Cruces-Blanco, Ana M. García-Campaña

Department of Analytical Chemistry, Faculty of Sciences, University of Granada, Campus Fuentenueva s/n, E-18071 Granada, Spain. **maykelhm@ugr.es*

5-nitroimidazoles (5-NDZs) are a wide-spectrum antibiotic class used for treating infections due to anaerobic protozoan and bacteria. Their importance in human medicine has been evidenced by the inclusion of metronidazole (MNZ), which is the most representative 5-NDZ compound, in the 'World Health Organization (WHO) Model List of Essential Medicines'. Nevertheless, carcinogenic, genotoxic and mutagenic properties have been attributed to these compounds, and as a consequence, their use in veterinary medicine has been restricted within European countries. Although 5-NDZ residues are not allowed in food of animal origin according to Regulation (EU) No 37/2010, alerts about their presence in animal products destined to human consumption are still notified by the Rapid System of Food and Feed (RASFF) portal. Consequently, analytical methods are required for 5-NDZ determination in order to ensure food safety.

In this work, the optimization of a capillary liquid chromatography (CLC) method coupled to UV detection has been carried out. Parameters affecting the separation such as mobile phase composition, mobile phase flow rate, separation temperature and gradient program as well as the type of chromatographic column, have been evaluated. Finally, the separation of eleven 5-NDZ compounds has been performed in a C18 (150 × 0.5 mm, 5 μm) column, using a mobile phase consisted of water (eluent A) and acetonitrile (eluent B) and supplied at a flow rate of 7 μL/min. Column was thermostated at 20°C during the analysis and 320 nm was established as detection wavelength. Furthermore, full loop injection mode (8 μL) was selected and water was considered as injection solvent. Finally, the optimized method has been applied to the analysis of 5-NDZ residues, including three metabolites, in aquaculture products, namely crab, salmon, prawn and swimming velvet crab. A molecular imprinted solid phase extraction (MISPE) procedure has been assayed for sample clean-up, resulting in extraction recoveries higher than 67% for all considered compounds. The method was characterized in all the matrices in terms of linearity ($R^2 \geq 0.9964$), precision (repeatability, $RSD \leq 7.9\%$ and reproducibility, $RSD \leq 11.1\%$) and trueness (recoveries between 80.4 - 108.7%). Decision limits, $CC\alpha$, ranging from 0.2 to 1.5 μg/L and detection capabilities, $CC\beta$, from 0.2 to 1.8 μg/kg, were obtained.

Acknowledgement: The "Junta de Andalucía" has supported this work (Excellence Project Ref: P12-AGR-1647). MHM thanks to the Plan Propio of the University of Granada for a pre-doctoral fellowship.

ETIQUETA RFID MULTISENSORA PARA ENVASADO INTELIGENTE

**M.M. Erenas¹, A. Martínez-Olmos², N. López-Ruiz², I. de Orbe-Payá¹,
A.J. Palma², L.F. Capitán-Vallvey¹**

lcapitan@ugr.es

¹ECsens, Departamento de Química Analítica, Campus Fuentenueva, UGR.

²ECsens, Departamento de Electrónica y Tecnología de Computadores, CITIC-UGR.

Los sistemas de empaquetado inteligente permiten el sensado, detección y registro de las variaciones tanto internas como externas de la atmósfera en la que se encuentran productos envasados, como indicador de la calidad y/o seguridad del alimento. Los parámetros más comúnmente usados para detectar el estado de dichos productos son los contenidos en gases como oxígeno (0.5-2.0%), dióxido de carbono (5.0-20.0%), amoníaco (<15 mg/L en pescado) o humedad (sobre un 85% para fruta y vegetales) presentes en la atmósfera del envase.

En el presente trabajo presentamos una tarjeta flexible HF RFID [1] para la determinación simultánea de los cuatro gases antes mencionados. La tarjeta se ha diseñado y fabricado por serigrafía sobre un sustrato flexible transparente. La tarjeta muestra sobre una de sus caras los componentes electrónicos necesarios como son: LED blanco, cuatro detectores de color para la medida óptica, microcontrolador y antena RFID, tal como se puede observar en la figura. Por la cara opuesta, incorpora las membranas selectivas para oxígeno, dióxido de carbono, amoníaco y humedad. La tarjeta RFID trabaja en modo pasivo sin necesidad de batería externa, ya que cosecha energía del propio lector RFID.

La química empleada para la determinación de los gases puede clasificarse en dos grupos: por un lado medida de atenuación de fluorescencia para oxígeno, usando como parámetro analítico la coordenada R del espacio de color RGB y para el resto, cambio de color empleando como parámetro analítico la coordenada tonal H del espacio de color HSV.

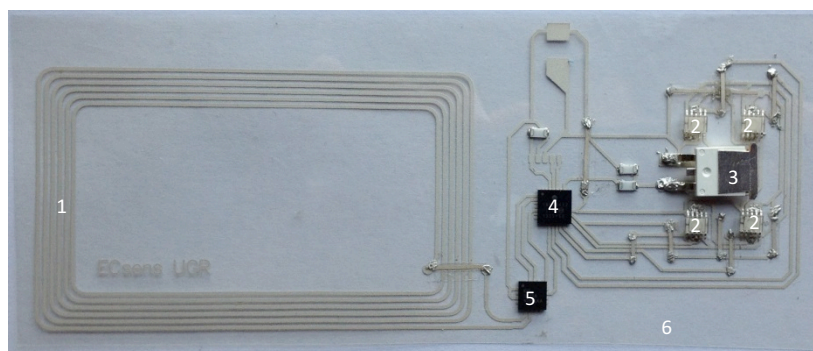


Figura 1. Etiqueta RFID para envasado inteligente. 1) Antena RFID; 2) Detectores de color; 3) LED blanco; 4) Microcontrolador; 5) Chip RFID; 6) Sustrato flexible

Agradecimientos: Este trabajo se ha realizado con financiación del Ministerio de Economía y Competitividad CTQ2013-44545-R, proyecto parcialmente financiado por los Fondos de Desarrollo Regional de la Unión Europea (ERDF).

[1] A. Martínez-Olmos, J. Fernández-Salmerón, N. López-Ruiz, A. Rivadeneyra Torres, L. F. Capitán-Vallvey, and A. J. Palma, *Anal. Chem.* 85 (2013) 11098–11105

DETERMINACIÓN DE HIDROCARBUROS EN ACEITE DE OLIVA VIRGEN EXTRA Y SU PAPEL EN LA DIFERENCIACIÓN GEOGRÁFICA

M^a Dolores Malavé, Ana Sayago, Ángeles Fernández-Recamales, Raúl González-Domínguez, María Beltrán y Rafael Beltrán

Dpto. Química y Ciencia de los Materiales, Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Huelva, Campus de «El Carmen», Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (CEIA3), Avda. de las Fuerzas Armadas, S/N. 21071 Huelva

En los últimos años el aceite de oliva ha ganado en popularidad dentro y fuera de nuestras fronteras tanto por su calidad, como por los potenciales beneficios para la salud derivados de su consumo. Este auge se ha traducido en un mayor interés en el conocimiento de su composición química, ya que resulta de suma importancia para la determinación de su calidad y procedencia, para garantizar el cumplimiento de la normativa vigente, así como para detectar posibles adulteraciones o fraudes. Dentro de los aceites de oliva, el compuesto mayoritario de la fracción de hidrocarburos del insaponificable es el escualeno, constituyendo entre el 85-90% de ésta. El 10-15% restante contiene información útil no solo para determinar el origen de la grasa o si ha sufrido procesado industrial, sino también la variedad e incluso la procedencia, a nivel nacional y latitudinal [1]. La fracción de alcanos es relativamente única sobre todo en los aceites vírgenes, llegando a ser comparado como huellas dactilares de cada cultivo. Esta fracción está constituida principalmente por n-Alcanos dentro del rango C8-C35, siendo los más abundantes entre C21 y C-35. Los n-Alcanos con longitud de cadena de C27, C29 y C31 predominan en todos los aceites vegetales, excepto en el aceite de oliva donde C23, C25 y C27 son los más significativos, aunque hay variedades en las que pueden predominar cadenas más largas, con 29 y 31 átomos de carbono. Estas diferencias se pueden justificar por los diversos factores que influyen en la composición del aceite: variedad de aceituna, grado de maduración, condiciones agronómicas y características tecnológicas de producción [1].

Para el desarrollo de este trabajo, los n-alcanos de 20 muestras de aceite de oliva virgen extra de diferentes variedades de aceitunas (arbequina, picual y verdial) y de distinta procedencia (Beas, Niebla, Sanlúcar de Guadiana y Gibrleón) fueron analizados por cromatografía de gases. La fracción insaponificable se obtuvo mediante la saponificación y posterior extracción con hexano. Se optimizó un nuevo método de saponificación amigable con el medioambiente debido a la minimización en el uso de disolventes. La fracción insaponificable fue fraccionada por HPLC con una columna RezexTM ROA-Organic Acid H⁺, y un índice de refracción como detector. Para la determinación de los alcanos se utilizó un cromatógrafo de gases acoplado a un detector de ionización de llama, empleando como patrón interno, nonadecano. En las muestras analizadas se identificaron: undecano, tridecano, dodecano, pentadecano, hexadecano, octadecano, eicosano, heneicosano, docosano, tricosano, tetracosano, pentacosano, hexacosano, octacosano y escualeno. Se han aplicado técnicas estadísticas de análisis multivariante tales como el análisis de componentes principales y el análisis discriminante lineal obteniéndose modelos que permiten clasificar los aceites de oliva virgen extra en función de la procedencia

[1] Bueno EO, Casas JS, García AM, González LG. 2005. Discriminating power of the hydrocarbon content from virgin olive oil of extremadura cultivars. J. Am. Oil Che. Soc. 82, 1-6.

EVALUATION OF DIFFERENT CLEANUP SORBENTS FOR MULTIRESIDUE PESTICIDE ANALYSIS IN FATTY VEGETABLE MATRICES BY LIQUID CHROMATOGRAPHY TANDEM MASS SPECTROMETRY

**Rafael López Blanco¹, Rocío Nortes-Méndez¹, José Robles-Molina¹,
David Moreno-González¹, Bienvenida Gilbert-López³,
Juan Francisco García Reyes¹, Antonio Molina-Díaz^{1,2*}**

¹ Analytical Chemistry Research Group,
University of Jaén, Campus Las Lagunillas, B-3, 23071 Jaén, Spain

* amolina@ujaen.es, (+34) 953-21-21-47

² Center for Advanced Studies in Olives Grove and Olive Oil (CEAOAO),
Science and Technology Park GEOLIT, E-23620 Mengíbar, Spain

³ Institute of Food Science Research CIAL (CSIC-UAM)
Nicolás Cabrera, 9, 28049 Madrid, Spain

The determination of pesticide residues in fatty matrices such as edible oils or fatty vegetables constitute a challenging application, provided the high percentage of lipid components that may be coextracted during the sample treatment stage using generic multi-residue methods such as QuEChERS adapted for fatty matrices. In this article we have evaluated the performance of different sorbents for the cleanup step in multiresidue pesticide analysis in fatty vegetable matrices using QuEChERS methodology. The three different matrices tested (olive oil, olives and avocado) were partitioned using acetonitrile prior to cleanup step. Afterwards, the supernatant was purified using different sorbents: C18+PSA (primary secondary amine), Z-Sep⁺ (zirconium oxide and C18 dual bonded to silica), Z-Sep (zirconium oxide bonded to silica) and a novel sorbent Enhanced Matrix Removal-Lipid (EMR) whose composition has not been disclosed. The different cleanup strategies were compared for a group of 67 representative pesticides in terms of recovery rates, matrix effects, extract cleanliness and precision using ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS).

The best extraction efficiencies in olive oil matrix were obtained using EMR, while the results for olives and avocado were pretty similar amongst the different sorbents with an overall lower performance in terms of matrix effects and recovery rates compared to olive oil data, particularly in olives due to the higher complexity and concentration of coextracted species. On the other hand, the average reproducibility was clearly better when EMR sorbent was employed in all selected matrices for most pesticides (RSD < 10 % for 45, 52, and 56 pesticides in avocado, olives and olive oil respectively). The best results in terms of matrix effects were also obtained with EMR; with signal suppression lower than 20 % for 79%, 16 % and 51% of pesticides tested in olive oil, olives and avocado respectively. Using EMR as cleanup sorbent, limits of quantification using UHPLC-MS/MS, ranged from 0.10 to 94 $\mu\text{g kg}^{-1}$, allowing their determination at the low concentration levels demanded by current olive oil regulations in most cases.

Acknowledgements:

The authors acknowledge funding support from the Regional Government of Andalusia (Spain), Junta de Andalucía (Projects AGR-6066, AGR-6182 and Research Group FQM-323).

**DETERMINATION OF POLAR PESTICIDES IN OLIVE OIL AND OLIVES BY
HYDROPHILIC INTERACTION LIQUID CHROMATOGRAPHY COUPLED TO
TANDEM MASS SPECTROMETRY AND HIGH RESOLUTION MASS
SPECTROMETRY**

**Rocío Nortes-Méndez¹, José Robles-Molina¹, Rafael López-Blanco¹,
Andrea Vass^{1,2}, Antonio Molina-Díaz^{1,3} and Juan F. Garcia-Reyes¹**

¹ Analytical Chemistry Research Group, Department of Physical and Analytical Chemistry, University of Jaén, Campus Las Lagunillas, Edif. B-3, 23071 Jaén, Spain.
rnortes@ujaen.es, Tel: +34-953-213-051

² Department of Applied Chemistry, Faculty of Food Science, Szent István University, Villányi út 29-43, H-1118, Budapest, Hungary

³ Center for Advanced Studies in Olives Grove and Olive Oils (CEAOAO), Science and Technology park GEOLIT, E-23620 Mengíbar, Spain

The presence of polar pesticides in virgin olive oil is unlikely given their different physicochemical properties and, thus the relative preference of polar pesticides towards the aqueous-phase during virgin olive oil production instead of the oil phase. With the aim to estimate the behaviour of these pesticides, and the extent of their transfer to olive oil during olive oil production (processing factor) [1], two HPLC-MS methods have been developed for the determination of these polar and challenging compounds in olive oil and olive samples by hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) separation -with a 1.8 µm particle size HILIC column- followed by mass spectrometry detection with tandem mass spectrometry using a triple quadrupole instrument operated in multiple reaction monitoring mode (HILIC-MS/MS) or electrospray time-of-flight mass spectrometry (HILIC-TOFMS). The selected polar pesticides included in the study were: amitrol, cyromazine, diquat, paraquat, mepiquat, trimethylsulfonium (trimesium, glyphosate counterion) and fosetyl aluminium. The simple sample treatment procedure was based on liquid partitioning with methanol, adapted from QuEPe-Method for polar pesticides [2]. The performance of the sample extraction was evaluated in terms of recovery rates and matrix effects in both olive oil and olives matrices. The results obtained for olive oil were satisfactory while, due to the high complexity of olives, poor recovery rates were obtained for the extraction of diquat, paraquat and amitrol, although with a reasonable precision enabling its use in routine analysis. Similarly, matrix effects were minor in the case of olive oil (ca. 20 % suppression average), while significantly higher suppression was observed for olives (30-50 % suppression average). The studied approaches were found to be useful for the determination of the pesticides studied in olive oil and olives with limits of quantitation below 5 µg Kg⁻¹ in most cases when tandem mass spectrometry was used, thus being in compliance with MRLs set by current EU legislation.

[1] Commission implementing Regulation (EU) No 400/2014 of 22 April 2014, Official Journal of the European Union, L 119/44, 2014.

[2] M. Anastassiades, D.I. Kolberg, E. Eichorn, A. Benkestein, S. Lukacevic, D. Mack, C. Wildgrube, I. Sigalova, D. Dörk, A. Barth, Quick method for the analysis of residues of numerous highly polar pesticides in foods of plant origin involving simultaneous extraction with methanol and LC-MS/MS determination (QuPpe-Method) Version 8.0, 2015, <http://www.crl-pesticides.eu/>

Acknowledgements. The authors acknowledge funding from Junta de Andalucía through projects P10-AGR-6066 and P10-AGR-6182.

**A SENSITIVE AND EFFICIENT METHOD FOR ROUTINE PESTICIDE
MULTIRESIDUE ANALYSIS IN BEE POLLEN SAMPLES USING GAS AND LIQUID
CHROMATOGRAPHY COUPLED TO TANDEM MASS SPECTROMETRY**

**Samanta Uclés¹, Piedad Parrilla Vázquez¹, Ana Lozano¹, M. M. Gómez
Ramos¹, Amadeo R. Fernández-Alba¹**

¹ EURL-FV. University of Almería, Agrifood Campus of International Excellence (ceiA3).

Several clean-up methods were evaluated for 253 pesticides in pollen samples concentrating on efficient clean-up and the highest number of pesticides satisfying the recovery and precision criteria. These were: (a) modified QuEChERS using dSPE with PSA + C18; (b) freezing-out prior to QuEChERS using dSPE with PSA + C18; (c) freezing-out prior to QuEChERS using dSPE with PSA + C18 + Z-Sep; and (d) freezing-out followed by QuEChERS using dSPE with PSA + C18 and SPE with Z-Sep. Determinations were made using LC-MS/MS and GC-MS/MS. The modified QuEChERS protocol applying a freezing-out followed by dSPE with PSA + C18 and SPE clean-up with Z-Sep was selected because it provided the highest number of pesticides with mean recoveries in the 70–120 % range, as well as relative standard deviations (RSDs) typically below 20 % (12.2 % on average) and ensured much better removal of co-extracted matrix compounds of paramount importance in routine analysis. Limits of quantification at levels as low as 5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ were obtained for the majority of the pesticides. The proposed methodology was applied to the analysis of 41 pollen bee samples from different areas in Spain. Pesticides considered potentially toxic to bees ($\text{DL}_{50} < 2 \mu\text{g/bee}$) were detected in some samples with concentrations up to 72.7 $\mu\text{g kg}^{-1}$, which could negatively affect honeybee health.

APPLICATION OF ACCURATE MASS DATABASE FOR IDENTIFICATION AND QUANTIFICATION OF PESTICIDES IN FRUIT AND VEGETABLES EMPLOYING GAS CHROMATOGRAPHY COUPLED TO HIGH RESOLUTION ORBITRAP MASS SPECTROMETRY

Samanta Uclés¹, M. J. Martínez Bueno¹, Amadeo R. Fernández-Alba¹

¹ EURL-FV. University of Almería, Agrifood Campus of International Excellence (ceiA3).

To protect and prevent damages to fruit and vegetable crops, the addition of some pesticides may be needed, thus pesticide residues can be present in the final product. For this reason, to assess the food safety for consumers in fruit and vegetables is an important issue in laboratories.

Typically food samples are analyzed by using high performance or ultra high performance liquid chromatography (HPLC or UHPLC) and/or gas chromatography (GC) coupled to mass spectrometry (MS) to identify and quantify target compounds. The most common MS systems in routine analysis are based on triple quadrupole (QqQ) analyzers. But, even reaching low detection limits, these techniques have some limitations consequence of their unit mass resolution. That limitation can drive to analytical difficulties consequence of interferences from the matrix. That can represent an incorrect identification and quantification. This limitation can be overcome by applying high resolution accurate mass spectrometers (HRAMS) instruments such as Orbitrap-MS.

The present work is focused in the evaluation of GC-Orbitrap-MS, which has a high resolving power (working routinely at 60000 resolution FWHM at m/z 200, but able to achieve up to 120000) with mass accuracies < 5 ppm, according to European Union analytical quality control (EU AQC) procedures, but they were usually < 1 ppm. This evaluation was done by analyzing different representative commodities of fruits and vegetables spiked with a wide range of pesticides.

The GC-Orbitrap-MS obtained very low LOQs, below $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ in all cases, good linearity (residuals < 20 % for every calibration level and $R^2 > 0.99$) and extremely good mass accuracy (< 1 ppm for around 90 %) for almost all combinations compound/matrix. Repeatability also met criteria described in EU AQC procedures (RSD < 20 %).

This first evaluation shows the power of identification and quantification for pesticide residues in fruit and vegetables of this HRAMS platform, being able to evaluate all target selected compounds at $10 \mu\text{g}/\text{kg}$, in agreement with the EU AQC procedures.

Agradecimientos: The authors acknowledge to Dominic Roberts, from Thermo Fisher Scientific.

ANÁLISIS DE CONTAMINANTES POLARES EN PRODUCTOS NUTRACEÚTICOS DERIVADOS DE SOJA MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS ACOPLADA A UN ANALIZADOR DE TRIPLE CUADRUPOLO

A. Romera Torres, R. Domingo Alves, R. Romero González, R. López-Ruiz, M. López García, A. Garrido Frenich

Departamento de Química y Física, Facultad de Ciencias Experimentales, Centro de Investigación en Biotecnología Agroalimentaria (BITAL), Universidad de Almería, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3, E-04120, Almería, e-mail: anaromeratorres@hotmail.es

Hoy en día, la mayoría de residuos y contaminantes suelen analizarse mediante métodos multiresiduo. Sin embargo, hay una serie de sustancias que debido a su alta polaridad no se pueden incluirse en los mismos, bien porque no son extraídas empleando un método genérico, o bien, por qué su separación cromatográfica no es óptima [1]. Es por ello que es necesario el desarrollo de métodos específicos para este tipo de compuestos. Entre estas sustancias destacan plaguicidas y contaminantes como fosetil-aluminio, etefón, hidrazida maleica, perclorato y clorato, que son altamente polares y pueden encontrarse en una amplia variedad de matrices alimentarias y ambientales [2].

Aunque se han desarrollado algunos métodos para su determinación en matrices vegetales [3], no se han aplicado a matrices más complejas como los productos nutraceuticos, cuyo mercado ha crecido enormemente en los últimos años. Pese a que en la actualidad no hay límites máximos de residuos en dichos productos, es necesario disponer de metodologías analíticas que permitan su determinación con objeto de mejorar la seguridad alimentaria de los nutraceuticos.

En el presente trabajo se presenta un método para la determinación simultánea de fosetil-aluminio, etefón, hidrazida maleica, perclorato y clorato, en productos nutraceuticos derivados de soja, empleando cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas de triple cuadrupolo (LC-QqQ-MS/MS). El tratamiento de muestra consiste en una extracción sólido-líquido usando como disolvente acetonitrilo acidificado con ácido fórmico (1 %). En relación a la separación cromatográfica, se evaluaron distintas fases estacionarias, obteniendo mejores resultados con una columna Hypercarb de 100 mm de longitud, 2.1 mm de diámetro interno y 5 µm de tamaño de partícula. El tiempo de análisis es inferior a 10 minutos, usando como fase móvil una disolución acuosa de ácido acético (1 % v/v) y acetonitrilo (5 % v/v), y como disolvente orgánico acetonitrilo acidificado con ácido acético (1 % v/v).

El método fue validado evaluando límites inferiores, recuperación, precisión y efecto matriz. Los límites de cuantificación del método estuvieron comprendidos entre 8 y 100 µg/kg, mientras que la precisión inter-día fue en todos los casos inferior al 17 %. Finalmente, el método fue aplicado a 14 nutraceuticos obtenidos en comercios locales, detectando clorato en 5 de las muestras analizadas en concentraciones comprendidas entre 63 y 1641 µg/kg.

Referencias

- [1] H. G. J. Mol, R. C. J. Van Dam. *Anal. Bioanal. Chem.* 406 (2014) 6817-6825.
- [2] J. A. Padilla-Sánchez, P. Plaza-Bolaños, R. Romero-González, A. Grande-Martínez, E. M. Thurman, A. Garrido-Frenich. *J. Mass Spectrom.* 47 (2012) 1458-1465.
- [3] M. Anastassiades, D. I. Kolberg, D. Mack, C. Wildgrube, I. Sigalov, D. Dörk. Method for the analysis of residues of numerous highly polar pesticides in foods of plant origin involving simultaneous extraction with methanol and LC-MS/MS determination (QuPPE-Method). EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides. Single Residue Methods. 2013.

CONTROL DE MÁS DE 500 RESIDUOS DE PLAGUICIDAS EN MUESTRAS VEGETALES MEDIANTE LC-MS/MS Y GC-MS/MS

Rosalía López Ruiz¹, Juan Carlos López Martínez², Laura Díaz Moreno², María Elena Hernández Torres², Alejandra Ferrer Aguirre², José Luis Martínez Vidal¹, Antonia Garrido Frenich¹

¹Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias Experimentales, Centro de Investigación en Biotecnología Agroalimentaria (BITAL), Universidad de Almería, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3, Universidad de Almería, Carretera Sacramento s/n, E-04071 Almería, España;

²Laboratorio Analítico Bioclínico LAB, Parque Científico-Tecnológico de Almería (PITA), E-04131, Almería
e-mail: rlr468@inlumine.ual.es

El uso de plaguicidas en la producción de alimentos está ampliamente extendido y autorizado. Por ello, la producción y comercialización de alimentos de origen vegetal requiere disponer de servicios analíticos avanzados para satisfacer su variada demanda que incluso llega hasta la certificación de productos ecológicos (<3 µg/kg). De hecho, a pesar de que el control de residuos de plaguicidas se realiza desde la década de los 70, la determinación sigue representando un desafío para los laboratorios que demandan una continua revisión de los métodos existentes. Por ejemplo a fin de incorporar los plaguicidas en uso, sus productos de transformación y otros compuestos que puedan estar presentes en muestras procedentes de terceros países. Además no hay que olvidar la necesidad de desarrollar nuevos métodos que simplifiquen el tratamiento de muestra junto con un menor consumo de disolventes y reactivos. Por tanto, los laboratorios requieren métodos de análisis que satisfagan tanto los requisitos reglamentarios, por ejemplo atendiendo a la disminución de los límites de cuantificación hasta los límites legales armonizados, como los de los propios clientes, por ejemplo en cuanto a rapidez en la entrega de resultados, dar información de un número elevado de compuestos y si es posible a precios no elevados. Además el laboratorio tiene que hacer todo ello compatible con el uso de métodos suficientemente rápidos y robustos que puedan ser aplicados dentro de sistemas de aseguramiento de la calidad como la Norma ISO 17025.

El objetivo de este trabajo es desarrollar métodos multi-residuo que cumplan los requisitos anteriores y que permitan el control de >500 plaguicidas mediante LC-MS/MS y GC-MS/MS con analizadores de triple cuadrupolo (QqQ) en tres grupos de matrices (pepino, naranja y aguacate). La extracción se basa en la metodología QuEChERS [1], modificando la etapa de limpieza según la matriz. El método se validó siguiendo las directrices de la Guía SANTE 11945/2015 [2], y cumpliendo los requisitos para su acreditación mediante la norma ISO/IEC 17025:2005.

Referencias

[1] P. Paya, M. Anastassiades, D. Mack, I. Sigalova, B. Tassdelen, J. Oliva, A. Barba, Anal. Bioanal. Chem. 389 (2007) 1697-1714.

[2] Document No. SANTE/11945/2015. Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed.

http://ec.europa.eu/food/plant/docs/plant_pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_11945_en.pdf

**SCREENING OF PESTICIDE IN LIPID RICH FOOD MATRICES BY USING
RESOLUTION GC/Q-TOF AND ACCURATE MASS PESTICIDE LIBRARY****José Juan Rivero**

Agilent Technologies Spain Ltd

e-mail: jose.rivero@agilent.com

With increased international trade in food and food ingredients, there is even more emphasis on food safety. State-of-the-art pesticide screening requires the consideration of more than 1,000 pesticides and their metabolites. Of these, as many as 600 to 700 compounds can be included in routine monitoring programs. Testing approaches must be able to handle many compounds at a time whilst being able to avoid matrix interferences coming from many different food matrices. The increasing global emphasis on pesticide screening is reflected in the implementation of European Union (EU) guideline SANCO/12571/2013. The most recent revision specifies criteria for qualitative screening without the use of expensive standards for each pesticide in each batch of samples. An accurate-mass approach in pesticide screening using quadrupole time-of-flight mass spectrometry (Q-TOF) ensures reliable pesticide identification under this approach, and allows for a virtually unlimited number of compounds to be screened simultaneously. For many of the most important compounds gas chromatography (GC) coupled to a Q-TOF mass spectrometer is the ideal analytical tool for screening, confirmation, and quantification of both target and unexpected compounds at trace levels, even in complex matrices. The screening of a broad scope of pesticides in various food commodities is considered as one of the most demanding GC/MS applications in modern pesticide residue analysis laboratories. This application requires untargeted acquisition of full scan mass spectra of all GC amenable pesticides present in a sample, which offers the benefits of a more comprehensive data analysis, particularly in cases when unexpected or new contaminants emerge. The ability to identify pesticides of low concentration in complex matrices is also imperative to meet strict regulatory requirements on maximum residue levels (MRL). High resolution accurate mass GC/Q-TOF serves as a fit-for-purpose tool in pesticide screening as it improves compound identification and reduces screening detection limits. In this study, we demonstrate a novel GC/Q-TOF based workflow to screen pesticides in lipid-rich food matrices with added confidence. For any unexpected compounds the user can quickly verify the identities of such compounds with high resolution accurate mass data, and if subsequent quantitative screening is considered important for future work then they can easily export the critical ion information into a quantitative method, if necessary hundreds of pesticides can be quantified in a single analysis. The 7200 Series GC/Q-TOF combined with the MassHunter Qual and the GC/Q-TOF Pesticide PCDL, can be used effectively to screen for pesticide residues in a variety of matrices. The advantages of the GC/Q-TOF include the increased confidence in compound confirmation provided by accurate mass-high resolution data, the ability to perform retrospective analysis (particularly for unexpected peaks) and the ability to seamlessly go from qualitative to quantitative analysis. This is encouraging because as new compounds appear on our laboratory's radar, we cannot only re-interrogate data we collected in the past but we will also have a quick way to create and expand optimized quantitative methods for the future.

Bioanálisis y técnicas ómicas

ESTUDIO METABOLÓMICO DE LA ACCIÓN PROTECTORA DE MICROALGAS MARINAS SOBRE LA PSORIASIS

**Adrián Rodríguez Fernández^{1,2,3}, Tamara García Barrera^{1,2,3}, Elena Talero⁴,
Virginia Motilva-Sánchez⁴, José Luis Gómez Ariza^{1,2,3}.**

1. Departamento de Química, Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Huelva. Campus de El Carmen, 21007, Huelva
2. *Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario ceiA3. Universidad de Huelva*
3. *Centro de Investigación en Salud y Medio Ambiente (CYSMA). Universidad de Huelva.*
4. *Departamento de Farmacología. Universidad de Sevilla.*

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica caracterizada por la afección de la piel, la cual está acompañada de la hiperproliferación de queratinocitos, infiltración dérmica de leucocitos y aumento de la angiogénesis. En este estudio, 39 ratones Swiss hembra recibieron exposición cutánea a 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) en el área dorsal para inducir procesos inflamatorios. Previamente, los animales fueron tratados con extractos de microalgas (MD y A-11) y un medicamento convencional para la inflamación (dexametazona, DEX). El tratamiento se repitió durante 3 días, seguido del sacrificio de los ratones. Se extrajo el suero, riñones e hígado de los especímenes y se trataron mediante un análisis metabolómico basado en el uso de la cromatografía de gases con detector de masas (GC-MS).

Para la extracción de metabolitos en suero, se mezclaron 100 µL de este fluido con 400 µL de una mezcla metanol/etanol 1:1, posteriormente se centrifugó y se llevó a sequedad con una corriente de N₂. Las muestras se derivatizaron con 50 µL de clorhidrato de metoxiamina (20 mg en 1 mL de piridina) a 80° C durante 15 min, seguido de 50 µL de MSTFA a 80°C durante 15 min. El análisis de riñón e hígado fue similar, pero extrayendo los metabolitos de 30 mg de tejido con 300 µL de metanol. El análisis por GC-MS se realizó mediante una metodología previamente publicada [1], y la identificación de metabolitos se basó en los tiempos de retención coincidentes con patrones comerciales o buscando en bases de datos (Mass Spectral Library NIST) Finalmente, se realizó un análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) para identificar los potenciales cambios metabólicos causados por los diferentes tratamientos del proceso inflamatorio.

El análisis multivariante muestra una clara clasificación entre los 5 grupos de ratones: control, tratados con TPA y tratados con TPA y los diferentes agentes anti-inflamatorios a partir de microalgas (MD y A-11) y el tratamiento convencional (DEX), encontrándose unos 30 metabolitos alterados entre los diferentes grupos. Los perfiles metabolómicos de los tratamientos DEX y MD tienen un efecto significativo contra la acción inflamatoria del TPA, y la respuesta de los metabolitos es análoga a la del grupo control. Por otro lado, la respuesta del grupo TPA es claramente diferente al grupo control, lo cual sirve para reforzar la hipótesis anterior sobre la actividad anti-inflamatoria de los fármacos DEX y MD.

[1] M.A. García-Sevillano, T. García-Barrera, F. Navarro, N. Abril, C. Pueyo, J. López-Barea, J.L. Gómez-Ariza. 2012, . *J. Chromat. B*, 985 (2015) 75–84

Los autores agradecen al Ministerio de Economía y Competitividad (España) la financiación del proyecto CTM2012-38720-C03-01 y CTM2015-67902-C-1-P, y a la Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa (Junta de Andalucía) por el proyecto P012 FQM- 0442. Los autores agradecen, asimismo, a los fondos FEDER (Comunidad Europea) por la ayuda recibida.

DETERMINACIÓN DE BENZOFENONAS EN LECHE MATERNA MEDIANTE UPLC-MS/MS PREVIA EXTRACCIÓN CON ULTRASONIDOS Y LIMPIEZA DEL EXTRACTO CON ADSORBENTES DISPERSIVOS

Alberto Zafra-Gómez^{(1)*}, Rocío Rodríguez-Gómez⁽¹⁾, Alberto Navalón⁽¹⁾

¹ *Research Group of Analytical Chemistry and Life Sciences, Department of Analytical Chemistry, Campus of Fuentenueva, University of Granada, E-18071 Granada, Spain*
**(email-azafra@ugr.es)*

Las benzofenonas (BPs) son excelentes filtros de la radiación ultravioleta. Por este motivo son ampliamente empleados entre otras aplicaciones en la fabricación de protectores solares. Hoy en día, existe una clara evidencia y se ha demostrado ampliamente su actividad biológica como disruptores endocrinos. Los disruptores endocrinos químicos (DEQs) son un grupo de compuestos de síntesis que pueden interferir en el funcionamiento normal del sistema endocrino [1, 2]. Estudios *In vitro* han demostrado que las BPs estimulan la proliferación de la línea celular de cáncer de mama MCF-7 y que presentan además actividad antiandrogénica [3]. También se ha observado actividad carcinogénica y capacidad para producir malformaciones de órganos reproductivos en ratones expuestos [4].

En el trabajo que se presenta, se desarrolla un nuevo método de preparación de muestra para la determinación de 5 BPs en leche materna humana. El tratamiento de la muestra comienza con un proceso de liofilización previo a la extracción asistida por ultrasonidos con acetonitrilo. Con el fin de reducir el efecto matriz producido por los componentes de la leche extraídos simultáneamente (proteínas, azúcares y lípidos), se aplica un proceso de limpieza con una mezcla de sorbentes empleados habitualmente en SPE dispersiva (C18 y PSA). Se han optimizado los principales parámetros de la extracción utilizando técnicas de diseño experimental. La cuantificación se llevó a cabo empleando cromatografía de líquidos de ultra-resolución acoplada a espectrometría de masas en tándem (UPLC-MS/MS) en el modo ESI positivo. Los analitos se separaron en 10 min. Como patrón interno (surrogate) se empleó BP-d₁₀. Los límites de cuantificación fueron entre 0.3 y 0.6 ng mL⁻¹. La variabilidad inter e intra-día fue menor del 12% en todos los casos. El método fue validado mediante ensayos de calibración y recuperación en muestras enriquecidas. La recuperación obtenida fue entre 90.9% y 109.5%. Una vez validado, el método fue aplicado con éxito para la determinación de estos compuestos en muestras de leche humana recogidas de madres lactantes voluntarias sin exposición ocupacional a estos compuestos.

El método presentado está siendo usado actualmente para el desarrollo de nuevos estudios en profundidad sobre la exposición prenatal y biomonitorización de estos filtros UV de uso común.

- [1] U.S. Environmental Protection Agency, 2003. <http://www.epa.gov/osp/myr/edc.pdf>
- [2] F. Paris, P. Balaguer, B. Térouanne, N. Servant, C. Lacoste, J.P. Cravedi, J.C. Nicolas and C. Sultan, *Mol. Cell. Endocrinology* 193 (2002) 43-49.
- [3] T. Suzuki, S. Kitamura, R. Khota, K. Sugihara, N. Fujimoto, S. Ohta, *Toxicol. Appl. Pharm.* 203 (2005) 9-17.
- [4] M.C. Rhodes, J.R. Bucher, J.C. Peckham, G.E. Kissling, M.R. Hejtmancik, R.S. Chhabra, *Food Chem. Toxicol.* 45 (2007) 843-851.

**BIODISPONIBILIDAD Y METABOLISMO DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DE
ROSMARINUS OFFICINALIS**

David Arráez-Román^{1,2}, Álvaro Fernández-Ochoa^{1,2}, Isabel Borrás-Linares², Almudena Pérez-Sánchez³, Enrique Barrajón Catalán³, Vicente Micol³, Antonio Segura Carretero^{1,2}

¹ Departamento de Química Analítica, Universidad de Granada. Avda. de la Fuente Nueva s/n, 18071, Granada.

² Centro Tecnológico de Investigación y Desarrollo del Alimento Funcional, CIDAFA. Avda. del Conocimiento 37, 18016, Granada.

³ Instituto de Biología Molecular y Celular, Universidad Miguel Hernández, Avda. Universidad s/n, 03202, Elche.

El objetivo de esta investigación ha sido estudiar de manera *in situ* la biodisponibilidad y las reacciones de metabolización de los compuestos fenólicos presentes en un extracto de romero con propiedades bioactivas demostradas frente a adenocarcinoma de colon [1].

Para ello, se planteó un estudio de perfusión *in situ* utilizando ratas Wistar como modelo animal. Dichos ensayos, consistieron en la inyección inicial de una disolución del extracto de romero y la posterior recolección de muestras de contenido intestinal a lo largo del ensayo así como de plasma sanguíneo al final de éste. Las muestras biológicas fueron tratadas y posteriormente analizadas mediante cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (HPLC-ESI-qTOF-MS).

Los resultados de las muestras de contenido intestinal demostraron la existencia de reacciones de metabolización mediante la identificación de los metabolitos ácido carnósico sulfatado, 5-6-7-10-tetrahidro-7-hidroxirosmariquinona, ácido carnósico cisteína, y los derivados glucuronizados del ácido carnósico, carnosol y rosmanol.

En las muestras de plasma, los resultados mostraron la biodisponibilidad de los diterpenos fenólicos, procedentes del extracto suministrado, carnosol, ácido carnósico, rosmadial, rosmanol, epirosmanol, epiisorosmanol y ácido 12-metóxicarnósico. Entre ellos, el ácido carnósico fue el que se encontró en una mayor concentración (20±5 µg/ml) hecho que está estrechamente relacionado con la bioactividad demostrada en estudios previos [2]. Por otra parte, se encontraron cuatro metabolitos en las muestras de plasma correspondientes a los derivados glucuronizados del ácido carnósico, carnosol y rosmanol y el derivado 5-6-7-10-tetrahidro-7-hidroxirosmariquinona. Además, para estos compuestos se observó una tendencia a producir estas reacciones de glucuronización dado que la concentración de los metabolitos fue significativamente superior a la concentración de los diterpenos en plasma.

En conclusión, los resultados obtenidos han contribuido a aumentar los conocimientos acerca de la biodisponibilidad y el metabolismo de los compuestos fenólicos del romero, reflejando que los compuestos que presentan reacciones de metabolización y son biodisponibles en plasma son los compuestos pertenecientes a la familia de diterpenos fenólicos de tipo abietano, a los cuales se les han atribuido, entre otras, capacidades antioxidantes y anticancerígenas.

[1] I. Borrás-Linares, *Int. J Mol. Sci.* 15 (11) (2014) 20585-20606.

[2] E.H.A. Doolaeage, *Plant. Foods. Hum. Nutr.* 66 (2011) 196-2020.

INFLUENCE OF SAMPLE PREPARATION IN LIPIDOMIC ANALYSIS OF ADIPOSE TISSUE

M.A. López-Bascón^{1,2,3}, M. Calderón-Santiago^{1,2,3}, A. Fernández-Vega^{3,4,5}, J. Sánchez-Ceinos^{3,4,5}, M.M. Malagon^{3,4,5}, J. López-Miranda^{3,5,6}, F. Priego-Capote^{1,2,3}

¹Department of Analytical Chemistry, University of Córdoba, Córdoba, Spain

²CeiA3 Agroalimentary Excellence Campus, University of Córdoba, Córdoba, Spain

³Maimónides Institute for Biomedical Research (IMIBIC), Reina Sofía Hospital, University of Córdoba, Córdoba, Spain

⁴Department of Cell Biology, Physiology and Immunology, IMIBIC/HURS/UCO

⁵Obesity and Nutrition Physiopathology CIBER (CIBERobn), ISCIII, Spain

⁶Lipids and Atherosclerosis Unit, IMIBIC/ HURS/UCO

The main families of lipids are glycerophospholipids, fatty acyls, glycerolipids, sterol lipids and sphingolipids [1]. The main problems in lipidomic analysis are the chemical complexity of different lipid species, the range of concentrations at which they are present and the different matrixes frequently analyzed. For these reasons, lipids are a class of biomolecules that remained for a long time in the shadow of the ongoing 'omics' trend in biology [2].

In this research it has been studied the influence of sample preparation protocols in the lipidomics analysis of the main families of lipids by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). For this purpose, samples of subcutaneous adipose tissue from morbidly obese patients undergoing bariatric surgery selected by the Lipids and Atherosclerosis Unit of the Reina Sofia University Hospital (Cordoba, Spain) were used. Two different buffers UTAH-COMLETE (Urea 7M, thiourea 2M, CHAPS 4%, 45 mM Tris, 60 mM DTT, pH 7.5, and protease inhibitors) and Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (D-PBS) were tested for homogenization of the sample. Concerning lipids extraction, two different extractants were compared: (1:1) methanol:chloroform and methyl *tert*-butyl ether (MTBE). Finally, a solid phase extraction (SPE) step for selective isolation of glycerophospholipids was assayed prior LC-MS/MS analysis to evaluate its incidence on lipids detection coverage as compared to direct analysis.

The main conclusions of this research were: (i) 98 different lipids pertaining to 13 families were identified in adipose tissue; (ii) the implementation of the SPE protocol allowed increasing the detection coverage by identification of 32 lipids non-detected by LC-MS/MS direct analysis of the extract; (iii) each family of lipids showed a different behavior as function of the buffer or extractant used. The combination of UTAH buffer and MTBE as extractant led to the lower detection results while the use of D-PBS buffer with both extractants provided the best detection coverage. Particularly, acylglycerides (mono, di and triacylglycerides) and phosphatidylethanolamines (PEs) were better detected by combination of D-PBS buffer and methanol:chloroform while the use of MTBE improved the detection coverage for ceramides, lysoPE, phosphatidic acids (PAs), phosphatidylcholines (PCs), phosphatidylinositols (PIs) and sphingomyelins (SMs). This study demonstrates the relevance of sample preparation on lipidomics analysis of adipose tissue dealing with different families of lipids.

Referencias

- [1] C. Chitraju, M. Trötz Müller, J. Hartler, H. Wolinski, G.G. Thallinger, A. Lass, R. Zechner, R. Zimmermann, H.C. Köfeler, F. Spener, *J. Lipid. Res.* 53 (2012) 2141–52.
 [2] A. Shevchenko, K. Simons, *N. Rev. Mol. Cell Bio.* 11 (2010) 593–598.

BIOMONITORIZACIÓN DE ESPECIES DE ARSÉNICO EN ORINA EN LA POBLACIÓN ADULTA DE ANDALUCÍA

F. Arellano Beltrán^{1,2,3}, T. García Barrera^{1,2,3*}, B. González Alzaga⁴, I. López Flores^{5,6,7}, I. Aroca Siendones^{4,8}, M. Lacasaña^{4,5,6*}, J. L. Gómez Ariza^{1,2,3*}

¹ Departamento de Química. Facultad de Ciencias Experimentales. Universidad de Huelva. Campus de El Carmen. 21007. Huelva.

² Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario ceiA3. CIDERTA. Universidad de Huelva. Parque Huelva Empresarial. 21007. Huelva.

³ Centro de Investigación en Salud y Medio Ambiente (CYSMA). Universidad de Huelva. Campus de El Carmen. 21007. Huelva.

⁴ Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs. GRANADA). Granada.

⁵ Escuela Andaluza de Salud Pública. Granada.

⁶ CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP). Madrid.

⁷ Departamento de Genética. Universidad de Granada.

⁸ Biobanco del Sistema de Salud Público de Andalucía.

*Investigadores responsables de los proyectos indicados al final del resumen.

El Arsénico (As) es uno de los elementos de mayor toxicidad para el ser humano y su exposición prolongada, a través del consumo de agua y alimentos, puede causar cáncer y lesiones cutáneas. Las formas inorgánicas de arsénico (arsenato (As (V)) y arsenito (As (III))) son las más tóxicas, mientras que las formas metiladas (ácido monometilarsónico (MMA) y ácido dimetilarsínico (DMA)) son consideradas moderadamente tóxicas. Otras especies de este elemento como la arsenobetaina (AsB) y los arsenoazúcares son considerados inocuas. Por ello, es importante determinar qué especies de arsénico están presentes en biofluidos como la orina, ya que pueden informar sobre los mecanismos de detoxificación que se generan ante la presencia de este elemento y, por supuesto, las posibles repercusiones sanitarias derivadas del consumo de alimentos que contengan arsénico.

En el presente estudio se ha llevado a cabo la especiación analítica de As en 150 muestras de orinas procedentes de todo el territorio andaluz. Para ello, se ha utilizado la metodología propuesta por Contreras-Acuña et al [1], que de forma reducida se expone a continuación: la orina se diluye (1:5) con HNO₃ al 5% (v/v) y las especies de As presentes en el extracto (As (V), As (III), MA, DMA y AsB) se separan mediante cromatografía líquida de intercambio aniónico (HPLC-AEC) acoplada a un detector ICP-MS. El procedimiento se ha validado utilizando un material de referencia ClinCheck-(level II) que contenía las especies estudiadas.

Los resultados muestran que las especies de As con mayor abundancia en las muestras de orinas son: AsB>DMA>As(V)>As(III)>MA, representando la concentración de AsB el 85% del As total. Este hecho es de gran interés ya que demuestra la ausencia de posibles problemas de salud pública derivados de la alimentación en la Comunidad Autónoma de Andalucía por el carácter inocuo de la AsB. Como detalles relevantes puede indicarse que la provincia andaluza cuya población presenta una mayor concentración de As total en la orina es Málaga y la de menor concentración Córdoba.

[1] M. Contreras-Acuña, T. García-Barrera, M.A. García-Sevillano, J.L. Gómez Ariza, *MicroChem. J.* 112 (2014) 56-64.

Los autores agradecen al Ministerio de Economía y Competitividad (España) la financiación del proyecto CTM2012-38720-C03-01 y CTM2015-67902-C-1-P, y a la Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa (Junta de Andalucía) por el proyecto P012 FQM- 0442. Proyecto Exp. PI0530/2011 financiado por la Consejería de Salud. Los autores agradecen, a los fondos FEDER (Comunidad Europea) por la ayuda recibida.

DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO EN PAPEL PARA LA DETERMINACIÓN COLORIMÉTRICA DE GLUTATION BASADA EN LA REACCIÓN Ag(I)-TMB

I. Ortiz-Gómez A. Salinas-Castillo, I. de Orbe-Payá y L.F. Capitán-Vallvey

Ecsens, Departamento de Química Analítica, Campus Fuentenueva,
Universidad de Granada, 18071 Granada.

El glutatión (GSH) es un biotiol que está implicado en diversas funciones biológicas entre las cuales se encuentra la de antioxidante, eliminando especies reactivas del oxígeno que presentan un electrón no apareado. Altos niveles de GSH en suero y orina humanos están vinculados al diagnóstico de diferentes enfermedades [1].

En este trabajo, hemos desarrollado un método colorimétrico simple para la determinación de GSH utilizando un dispositivo microfluídico en papel (μ PAD). Este dispositivo se basa en el hecho de que la Ag (I) actúa como oxidante para la 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB). Sin embargo, la presencia de GSH causa la reducción del TMB oxidado a su forma reducida, además de formar complejo con la Ag(I). Sobre la base de este hecho, se propone un método para detectar visualmente GSH (Figura 1). Alternativamente, se utiliza una cámara fotográfica digital para el análisis cuantitativo de GSH usando la coordenada S del espacio de color HSV como parámetro analítico.

Los μ PAD desarrollados se fabrican con una impresora láser de corte y constan de tres zonas: una zona de muestreo, un canal de transporte y una zona de detección. El μ PAD se lamina para proteger los reactivos de la degradación.

Se han optimizado diferentes parámetros tales como la concentración de TMB y Ag(I), el pH de reacción, el volumen de muestra, el tiempo de reacción y la posición de los reactivos. En condiciones óptimas, se observa linealidad con la concentración de GSH hasta 350 μ M.

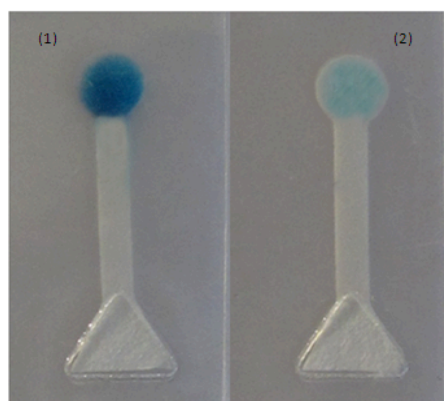


Figura 1. μ PAD reaccionado sin GSH (1) y tras la reacción con GSH (2).

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el proyecto CTQ2013-44545-R (MINECO), P10-FQM-5974 (Junta de Andalucía), el Programa de Fortalecimiento de Grupos y el Programa de Reincorporación de Doctores UGR.

Referencias

[1] S.C. Lu, *Mol. Aspects Med.* 30 (2009) 42-59.

MÉTODO MULTI-RESIDUO PARA LA BIOMONITORIZACIÓN DE CONTAMINANTES EN CABELLO HUMANO MEDIANTE CROMATOGRFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS

**Julia Martín¹, Monika Moeder², Juan Luis Santos¹, Irene Aparicio¹,
Esteban Alonso¹, Thorsten Reemtsma²**

¹Departamento de Química Analítica, Escuela Politécnica Superior, Universidad de Sevilla. C/ Virgen de África 7, 41011 Sevilla (España)

²Department of Analytical Chemistry, Helmholtz Centre for Environmental Research - UFZ, Permoserstraße 15, Leipzig (Germany)

La biomonitorización humana permite hacer una evaluación de la exposición a compuestos químicos que puede deberse tanto al ambiente de trabajo como a exposición diaria a través del medioambiente o la alimentación. En los últimos años existe un interés creciente por el empleo de técnicas de biomonitorización no invasivas como alternativa al tradicional empleo de muestras de sangre [1]. El empleo de matrices no invasivas permite solventar algunos de los inconvenientes asociados a la biomonitorización mediante muestras de sangre como son algunas de las complicaciones que se pueden presentar en el muestreo (hematomas y dolor) y dificultades para el muestreo en ciertos grupos de población (niños, ancianos o enfermos crónicos) [1]. Una de estas matrices, el cabello, ha sido ampliamente utilizada en la monitorización de la contaminación ambiental por metales pesados y drogas de abuso. Sin embargo, la información sobre su uso en la monitorización de contaminantes emergentes es escasa [2].

En este trabajo se presenta la optimización y validación de un método analítico para la extracción y determinación, mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, de distintas familias de contaminantes emergentes (retardantes de llama organofosforados, aditivos plásticos tales como ftalatos y bisfenol A, insecticidas, agentes antimicrobianos, conservantes y fragancias) en cabello humano. El tratamiento de la muestra consistió en tres etapas: lavado, hidrólisis y extracción. Se ensayaron diferentes reactivos en cada una de dichas etapas con el fin de eliminar en lo posible impurezas presentes en la muestra, y extraer con el mejor rendimiento posible los contaminantes. Los mejores resultados se obtuvieron mediante lavado de la muestra con agua e isopropanol, hidrólisis con una disolución metanol-ácido trifluoroacético y extracción líquido-líquido con hexano/acetato de etilo en baño de ultrasonidos.

El método propuesto permitió la determinación de 14 contaminantes con recuperaciones superiores a 77 % para la mayoría de analitos, desviaciones estándar relativas por debajo del 16 % y límites de detección entre 2 pg/mg (galaxolide) y 292 pg/mg (propilparabeno) utilizando 50 mg de cabello seco. En las muestras analizadas el bis-(2-etilhexil) ftalato y la fragancia galaxolide fueron los compuestos predominantes a concentraciones comprendidas entre 32 y 59 ng/mg y entre 0,8 y 13 ng/mg, respectivamente.

[1] A. Alves, A. Kucharska, C. Erratico, F. Xu, E. Den Hond, G. Koppen, G. Vanermen, A. Covaci, S. Voorspoels, *Anal. Bioanal. Chem.* 406 (2014) 4063-4088.

[2] S. Król, B. Zabiegała, J. Namiésnik, *Trends Anal. Chem.* 47 (2013) 84–98.

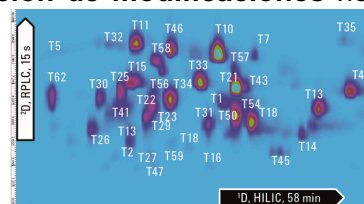
2D-LC/MS: CROMATOGRAFÍA MULTIDIMENSIONAL DE ANTICUERPOS MONOCLONALES (2D-LC/QTOF), PERFILES DE IMPUREZAS Y ENANTIÓMEROS, UTILIZANDO UNA ÚNICA PLATAFORMA

Isidre Masana¹, Melanie Metzloff², Sonja Krieger². Gerd Vanhoenacker³

¹ Agilent Technologies. C) Moll Barcelona s/n, World Trade Center, Edificio Sur, 08039-Barcelona. e-mail: isidre_masana@agilent.com ² Agilent Technologies. C) Hewlett-Packard-Str. 8, 76337 Waldbronn, GERMANY. ³ Research Institute for Chromatography, President Kennedypark 26, 8500 Kortrijk, Belgium

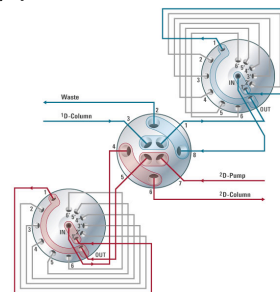
La **elevada capacidad de separación** que proporciona la **cromatografía multidimensional (2D-LC)**, permite **reducir las coeluciones** y mejorar la información obtenida en el **análisis de muestras muy complejas**, al combinar 2 condiciones de separación ortogonales. La simbiosis del **acoplamiento de un sistema 2D-LC con un espectrómetro de masa exacta (TOF o QTOF)**, aumenta extraordinariamente esa capacidad resolutive global. El análisis de digestiones enzimáticas de proteínas, como anticuerpos monoclonales (mAb's) mediante 2D-LC/QTOF es de gran interés; al permitir profundizar más y mejorar la caracterización de bio-fármacos (muchos de ellos basados en mAb's). **Incrementa la capacidad de detección de modificaciones no deseadas, y aumenta la seguridad del fármaco.**

La **combinación en "Comprehensive" 2D-LC (LCxLC)**, de una columna ¹D HILIC (2.1x100 mm 1.8µm) en la primera dimensión, y una ²D C18 (4.6x50 mm 3.5µm) en la segunda, **proporciona una excelente ortogonalidad** para la separación de los más de 100 péptidos procedentes de la digestión de Trastuzumab; un mAb que inhibe la proliferación de células humanas tumorales que sobreexpresan HER2. En LCxLC se analiza en continuo el efluente de la ¹D HILIC mediante continuos cortes, y un flujo elevado en la 2ª dimensión (4mL/min), para efectuar gradientes muy rápidos con máxima capacidad de separación. Ello requerirá utilizar un divisor de flujo para conectar al LC/QTOF.



La misma configuración instrumental, se ha utilizado en modo **"Heart-cutting"** (cortes selectivos LC-LC) para disponer de la **elevada capacidad de separación en la segunda dimensión** (²D: ChiralPak 1A 4.6x250 mm 5µm) que requiere la **separación de enantiómeros** de la talidomida (sedante: R-(+) // teratogénica: S-(-)). Combinando con una ¹D: Zorbax RRHD Eclipse Plus C18 (2.1x150mm 1.8µm) permite el **análisis de impurezas y enantiómeros mediante una única inyección**; aumentando así la eficiencia del laboratorio.

Cuando no hace falta un análisis en continuo de la primera dimensión (LCxLC), la sustitución de los 2 loops de la válvula 2D (ver fig. en resumen comunicación oral 2D-LC) por **2 válvulas MHC con 6 loops cada una**, permite la gestión inteligente del **almacenamiento temporal y posterior análisis de múltiples cortes, incluso consecutivos**; utiliza mayores tiempos ²D de análisis e incrementa la capacidad de separación en la segunda dimensión, Esta modalidad **"multiple heart-cutting"** mLC-LC, es **ideal para el análisis de impurezas**. Por ejemplo, el análisis de impurezas de DEET (N,N-dietil-m-toluamida) utilizando 2 columnas de fase reversa con distinta selectividad: Zorbax RRHD Eclipse Plus C18 (2.1x150mm 1.8µm) y Poroshell 120 Bonus RP (2.1x150mm 1.8µm).



METABOLÓMICA EN SUERO HUMANO PARA EL DIAGNÓSTICO PRECOZ DEL CÁNCER DE PULMÓN MEDIANTE INFUSION DIRECTA-ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Rocío Baya Arenas^{1,2,3}, Tamara García Barrera^{1,2,3}, Antonio Pereira Vega⁴, José L. Gómez Ariza^{1,2,3}

¹ Departamento de Química. Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Huelva, Huelva, España. ² Campus de excelencia internacional agroalimentario CEIA3, Universidad de Huelva, Huelva, España. ³ Centro de Investigación de Salud y Medioambiente (CYSMA) Universidad de Huelva, Huelva, España. ⁴ Área de Neumología del Hospital Juan Ramón Jiménez, Huelva, España.

El cáncer de pulmón (CP) es una de las formas más agresivas de cáncer, y es la causa más común de muerte por neoplasia en nuestra sociedad, con esperanzas de vida muy cortas desde la diagnosis de la enfermedad que en sus comienzos tiene un carácter asintomático. Por ello, es necesario investigar esta enfermedad y la búsqueda de marcadores que ayuden a su diagnóstico precoz [1] Actualmente, hay estudios metabolómicos anteriores en el suero de pacientes con cáncer de pulmón basados en la espectrometría de masas [2,3], sin embargo, solo se comparan pacientes de CP con personas sanas. En el presente estudio, se incluyen, además, los pacientes con otras enfermedades pulmonares, bajo la hipótesis de que el CP podría estar asociado con la progresión de otras enfermedades pulmonares, como el enfisema.

Se aplicó un enfoque metabolómico para comparar el perfil metabólico de los pacientes con cáncer de pulmón, pacientes con enfermedad pulmonar (sin cáncer) y personas sanas, con el fin de dilucidar los posibles cambios metabólicos causados por el cáncer. Se analizaron 14 muestras de suero procedentes de pacientes con cáncer de pulmón, 14 de pacientes con enfermedad pulmonar y 12 controles sanos, mediante infusión directa a un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo utilizando una fuente de ionización de electrospray (DI-ESI-QqQTOF) con un tratamiento previo de la muestra con disolventes orgánicos para la precipitación de proteínas.

Los resultados se trataron estadísticamente por análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA), mostrando una clara separación entre los tres grupos de estudio, lo que sugiere la existencia de metabolitos que causó la discriminación entre sí. Veintidós metabolitos alterados fueron identificados en cáncer de pulmón comparándolos con voluntarios sanos (urea, L-Thr, L-Orn, L-Gln, 4 LPL, 10 PL, y 4 TGS). Por otro lado, veintisiete metabolitos perturbados fueron identificados en cáncer de pulmón con respecto a los pacientes con enfermedad pulmonar (urea, L-Thr, L-Gln, C14-CAR, fosfocolina, 2 LPL, 16 PL, y 4 TGS). También se estudiaron las vías metabólicas alteradas en CP según esta investigación.

En conclusión, DI-ESI-QTOF-MS proporciona un enfoque rápido para la identificación de metabolitos relacionados con CP, con una muy amplia cobertura de los metabolitos y evita los inconvenientes asociados al filtro cromatográfico presente en los acoplamientos de HPLC-MS y GC-MS. Este hecho aumenta el potencial de esta técnica para la identificación de biomarcadores relacionados con el diagnóstico de cáncer de pulmón.

[1] [J Cancer Res Clin Oncol, 2015.141: 705-718]

[2] El cáncer de pulmón de 2011, 74, 284-292

[3] BioMed Investigación Internacional 2015, en prensa 9 pag.

**ESTUDIO DE SUSTANCIAS EXTRAÍBLES DE MATERIALES DE USO
FARMACÉUTICO DE POLIPROPILENO EN DMSO**

**M.J. Marín Jiménez, A.M. Jiménez Carvelo, N. Navas Iglesias, L. Cuadros
Rodríguez**

Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, C/
Fuentenueva, s/n, E-18071, Granada, mj93mj@hotmail.com

En la actualidad, existe una exposición continua a sustancias contaminantes sintéticas (xenobióticos) procedentes de diferentes fuentes, incluidos los medicamentos. Por ello, la industria farmacéutica tiene la obligación de limitar la exposición a impurezas que potencialmente sean perjudiciales para la salud de los pacientes. Un origen de impurezas en los productos farmacéuticos es el contacto entre los materiales contenedores y el propio medio en el que se encuentra el fármaco. Debido a esto existe una preocupación creciente por las entidades químicas de los componentes poliméricos que puedan migrar a las diversas formas de dosificación de los fármacos, en particular en las preparaciones y medicamentos que están constituidos por líquidos tales como parenterales, inyectables, oftálmicos y/o productos de inhalación.

En este trabajo se presenta el estudio de las sustancias que migran desde un polímero que se emplea habitualmente como material de los recipientes plásticos, el polipropileno (PP), hasta un disolvente que se emplea en inyectables, -el dimetilsulfóxido (DMSO)-, al someterlo a condiciones extremas (o de estrés) diferentes de su modo recomendado de uso.

Para llevar a cabo el estudio se emplean puntas de pipeta y tubos 'Eppendorf' de diferentes tamaños y colores para poder analizar las posibles diferencias en cuanto a sustancias extraíbles entre unas muestras y otras. La elección de dichas muestras se ha hecho en base a su similitud con las jeringas empleadas en medicamentos y preparaciones inyectables, entre otros criterios de selección. Estas muestras se someten a un proceso de extracción forzada mediante maceración de los materiales en el seno del disolvente, siguiendo dos estrategias diferentes: (i) unas muestras serán maceradas íntegras; y (ii) otras cortadas en trozos pequeños.

La extracción se realiza en las condiciones recomendadas en la norma UNE-EN ISO 10993-12:2013 [1]. Posteriormente se evapora el DMSO y los extractos se reconstituyen en la fase móvil. La técnica analítica empleada es la cromatografía líquida de alta resolución, en la modalidad de fase reversa empleando como fase móvil un gradiente de acetonitrilo-agua [2] y, acoplada a un detector de aerosol de partículas cargadas en corona (HPLC-CAD).

En la comunicación se presentarán los resultados obtenidos en este estudio.

[1] UNE-EN ISO 10993-12:2013. Evaluación biológica de productos sanitarios. Parte 12: Preparación de muestras y materiales de referencia. AENOR, 2013.

[2] Diane Paskiet, Laura Stubbs, and Alan D. Hendricker. Case study of a polypropylene: extractables characterization, quantitation, and control. En: Leachables and Extractables Handbook: Safety Evaluation, Qualification, and Best Practices Applied to Inhalation Drug Products; Douglas J. Ball, Daniel L. Norwood, Cheryl L. M. Stults, Lee M. Nagao; Wiley-VCH: New Jersey, 2012; pp 387-415.

A NOVEL ELECTROMEMBRANE MICRO-CHIP DEVICE FOR DETERMINATION OF NON-STEROIDEAL ANTI-INFLAMATORIES IN BIOLOGICAL SAMPLES**María Ramos Payán^{1,3}, Elia Santigosa², Julia Kazakova³, Andreu Llobera¹**¹ Microelectronic National Centre of Barcelona, Spain² Autonomous University of Barcelona, Spain³ University of Seville, Spain

This experimental work reports a novel device for electromembrane extraction (EME) lab-on-chip for the determination of five non-steroidal anti-inflammatories (NSAIs) in urine samples with an excellent clean-up and high efficiency extraction.

The Lab-on-a-chip (LOC) paradigm has been developed during the last 20 years. Major incentives for this concept are the reduction of sample volumes, reduction of solvents and chemicals, and portability of the analytical instrumentation. Supported liquid membranes (SLMs) have been used for analytical liquid-liquid extractions on different formats of SLM extraction¹⁻⁴, but very little attention has been directed towards the implementation of SLMs into the microfluidic chip format^{5,6}.

Compared with the conventional EME, in this work, we focus on sample miniaturization system in order to down-scaled the technique and require a volume sample 1000 times lower resulting in a very high enrichment capacity. This device contain as many channel as desired and is composed of two poly(methyl methacrylate) (PMMA) plates where the size of each channel is (2 mm width × 13 mm long × 0.08 mm deep) with a capacity of 2 µL. The extraction parameters were optimized and tested at different conditions. Five non-steroidal anti-inflammatories were extracted from alkaline sample solution (pH 12), through the SLM, and into alkaline solution functioning as acceptor phase (pH 12). Sample solutions were pumped into the EME-chip with a micro-syringe pump at a flow rate range of 1–30 µL min⁻¹. Both phases were separated by a SLM composed of 0.2 µL 1-octanol immobilized in the pores of a flat membrane of polypropylene (25 µm thickness) and the voltage was tested between 5 and 30 Volts. The acceptor phase was analyzed off-line by HPLC for exact quantification. The proposed method was successfully applied to urine samples demonstrating excellent selectivity and extraction efficiencies over 95 % at low flow rate and no interfering peaks were detected. This technique provides more advantages that the existing techniques for sample preparation by decreasing the organic solvent consumption, and a significantly decrease of the sample volume required for the analysis.

[1] G. Auduson, *Anal. Chem.* 58 (1986) 2714.

[2] E. Thordarson, S. Pálmarsdóttir, L. Mathiasson, J.Å. Jönsson, *Anal. Chem.* 58 (1996) 25

[3] W. Liu, L. Zhang, L. Fan, Y. Cai, Z. Wei, G. Chen, *J. Chromatogr. A* 1233 (2012) 1.

[4] S. Pedersen-Bjergaard, K.E. Rasmussen, *Anal. Chem.* 71 (1999) 2650.

[5] N.J. Petersen, H. Jensen, S.H. Hansen, S.T. Foss, D. Snakenborg, S. Pedersen- Bjergaard, *Microfluid Nanofluid* 9 (2010) 881.

[6] María D. Ramos Payán, Bin Li, Henrik Jensen, Nickolaj Jacob Petersen, Steen Honoré Hansen, and Stig Pedersen-Bjergaard. *Analytica Chimica Acta.* 735, 46-5

ESTUDIOS PRELIMINARES DE CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE LA PROTEÍNA DE FUSIÓN ROMIPILOSTÍM

**Raquel Pérez-Robles¹, Samuel González-Suárez¹,
Antonio Salmerón-García², José Cabeza-Barrera², Natalia Navas¹**

¹ Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, C/ Fuentenueva sn

² UGC Intercentro Interniveles Farmacia Granada, “San Cecilio Hospital”, Hospitales Universitarios de Granada, ibs.granada, E-18012 Granada, Spain.

Las proteínas de fusión, son aquellas sintetizadas a partir de la traducción de dos o más genes independientes que se han unido bien por algún proceso natural (en algunos tipos de cánceres) o artificial (en el laboratorio) [1]. A principios de la década de los 80, el enfoque preferido por la mayoría de las compañías biotecnológicas farmacéuticas ha sido producir proteínas recombinantes que sean estructuralmente lo más cercano posibles a las producidas naturalmente por el cuerpo humano, para minimizar así la antigenicidad. El desarrollo de proteínas de fusión promueve la unión de dos actividades diferentes en una sola molécula con un efecto sinérgico. Una aplicación amplia de este tipo de fármacos biotecnológicos ha sido la de fusionar una proteína de unión activa (o dominio) con el dominio Fc de una inmunoglobulina G. El dominio de unión confiere la actividad deseada, mientras que el dominio Fc sirve para incrementar el tamaño molecular y prolongar el tiempo de circulación. La primera proteína de fusión en ser aprobada fue el romiplostim en 2008.

El romiplostín es el principio activo del medicamento biotecnológico Nplate® (Amgen Inc). Está indicado para pacientes adultos con Púrpura Trombocitopénica Inmune (Idiopática) (PTI) crónica que son refractarios a otros tratamientos (por ejemplo, corticosteroides, inmunoglobulinas) [2]. La PTI es una de las enfermedades autoinmunes más frecuentes que se caracteriza por tener un bajo recuento plaquetario y es debida a una producción dañada de plaquetas y a su destrucción que llevan a cabo los anticuerpos presentes en la superficie de la membrana plaquetaria.

Desde el punto de vista estructural, romiplostim es una proteína de fusión en la que un péptido agonista de la trombopoyetina (TPO) se asocia con el dominio Fc de un anticuerpo humano. Consiste por tanto en dos subunidades idénticas formadas cada una de ellas por un dominio Fc de la inmunoglobulina humana IgG1 unida de forma covalente por el aminoácido 228 a un péptido que contiene dos dominios de unión al receptor de la TPO humana (Mpl). Tiene un peso molecular de aproximadamente 59 kDa y es producido por tecnología de ADN recombinante en *Escherichia coli*. Su fórmula molecular es C₂₆₃₄H₄₀₈₆N₇₂₂O₇₉₀S₁₈ [3].

En esta comunicación se presentarán los resultados preliminares obtenidos del análisis de esta proteína intacta mediante RP-UHPLC-DAD y UPLC-qTOF. Estos resultados incluyen la optimización del método de cromatografía líquida así como la caracterización estructural de la proteína intacta mediante espectrometría de masas de alta resolución.

[1] G. Walsh, *Pharmaceutical Biotechnology*, WILEY (2007)

[2] Ficha técnica Romiplostim, EMA, www.ema.europa.eu, (acceso 14 de marzo, 2016)

[3] Durg bank, <http://www.drugbank.ca>, (acceso 14 de marzo, 2016)

EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE INFLIXIMAB MEDIANTE LA COMPARACIÓN DE LA "HUELLA DACTILAR DE MASAS PEPTIDICAS"

**Raquel Pérez-Robles¹, Luis Cuadros-Rodríguez¹,
Antonio Salmerón-García², Natalia Navas¹**

¹ Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, C/ Fuentenueva sn.

² UGC Intercentro Interniveles Farmacia Granada, "San Cecilio Hospital", Hospitales Universitarios de Granada, E-18012 Granada.

Los anticuerpos monoclonales (mAbs) constituyen uno de los medicamentos de origen biotecnológico más usados en la actualidad [1]. Son biomacromoléculas de naturaleza proteínica de gran complejidad que se degradan fácilmente. Entre los cambios más frecuentes se encuentran las deamidaciones (pérdida del grupo amina), oxidaciones, etc, de los aminoácidos que forman parte de su estructura primaria. La importancia de estos cambios va venir dada en función del lugar donde tengan lugar. Cuando estos cambios se producen en el centro activo de la proteína, ésta podría dejar de ejercer su función como medicamento, y de ahí la importancia de estudiar su estabilidad en el tiempo. Detectar estas degradaciones particulares a partir del análisis de la proteína intacta es una tarea compleja y a veces imposible de llevar a cabo debido a las características técnicas inherentes a las técnicas analíticas disponibles a día de hoy. Por ello, para este tipo de estudios, se recurre al análisis detallado de un digerido de la proteína. Este digerido se puede asemejar a una "sopa" de péptidos procedentes de la fragmentación de la proteína por lugares específicos (aminoácidos que contiene el grupo amina) mediante una enzima (tripsina). Cuando la enzima localiza un grupo amino, "corta" el aminoácido y se genera un fragmento de masa menor que cuando se produce una deamidación [2].

Uno de los anticuerpos más usados a nivel mundial es el infliximab (INF). Se utiliza como medicamento para el tratamiento de la artritis reumatoide, enfermedad de Croh entre otras enfermedades. Es interesante estudiar la estabilidad de este medicamento debido a que en hospitales se desechan grandes cantidades y es muy caro.

En esta comunicación se presentan los resultados obtenidos en la evaluación de la estabilidad del INF en el medicamento Remicade®. Para ello, se prepararon muestras de INF en condiciones hospitalarias y se almacenaron durante 7 días en dos condiciones distintas, en frigorífico a 4°C y en congelador a -20°C. Cada día de control (día 0, 1, 3, 4 y 7) se realizó la digestión de las muestras con tripsina y se analizó el digerido mediante MALDI-TOF-MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Fly Mass Spectrometry). Finalmente se obtuvieron las denominadas "huellas dactilares de masas peptídicas" de las muestras de INF.

A partir de estos espectros de masas se ha estudiado la evolución de los péptidos a lo largo del tiempo y en función del modo de almacenamiento de las muestras. Para llevar a cabo estas comparaciones se ha hecho uso de técnicas multivariantes (PCA y MANOVA) y de la aplicación de índices de similitud que permiten asignar un valor numérico, autoescalado entre 0 y 1, al grado de cambio de la molécula en cada uno de los días de estudio con respecto al día 0, tomado como dato de referencia de estabilidad.

[1] G. Walsh, *Pharmaceutical Biotechnology*, WILEY (2007)

[2] N. Navas, *Analyst* 140 (2015) 1717-1730.

SIMULTANEOUS QUANTITATIVE DETERMINATION OF METFORMIN AND GLIMEPIRIDE IN HUMAN SERUM BY ULTRA HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH MASS SPECTROMETRY/QTOF DETECTION

Anca-Monica Strugaru¹, Elena Butnaru¹, Julia Kazakova², Manuel Callejon-Mochón² and Rut Fernandez-Torres²

¹“Grigore T. Popa” University of Medicine and Pharmacy, Faculty of Pharmacy, 16th University Str., 700115, Iasi, Romania

² Departamento Química Analítica. Facultad Química. Universidad Sevilla. (rutft@us.es)

Metformin and glimepiride are oral antidiabetic agents used in combination, due to their complementary mechanisms of action. This work proposes a simple, high performance simultaneous quantification method of the two antidiabetic compounds by ultra high performance liquid chromatography with detection by MS / QTOF. The method was validated and shown to be linear, selective, accurate and precise.

The chromatographic separation was performed on an Acquity UPLC BEH C18 column (50 mm x 2.1 mm, 1.7 µm). The mobile phase was 0.05% formic acid in water and acetonitrile using a gradient elution programme, at flow a rate of 0.3 mL/min. Detection was carried out at Xevo G2S QTOF mass spectrometer, in resolution, ESI positive mode.

Linearity range for metformin was 0.5-100 µg/L, using propranolol as internal standard and for glimepiride 1-100 µg/L using glibenclamide as internal standard. Detection and quantification limits were 0.5 µg/L and 1.7 µg/L for metformin and 1.0 and 3.3 µg/L, respectively, for glimepiride.

This method allows the efficient separation and quantitative analysis of the two compounds, metformin and glimepiride, with lower limits of detection and quantification than normal serum levels found in other previous works. The method was effectively used for the simultaneous determination of these compounds in human serum, with applicability in clinical pharmacokinetic and toxicology studies.

Acknowledgements: This work was realized under the frame of European Social Found, Human Resources Development Operational Programme 2007-2013, project no. POSDRU/159/1.5/136893 and project n° UNSE10-1E-429.

**UPLC-MS/QTOF METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF
SECOND GENERATION H₁-ANTIHISTAMINIC DRUGS: LORATADINE,
DESLORATADINE AND CETIRIZINE**

Grigoriu Ioana-Cezara¹, Elena Butnaru¹, Julia Kazakova², Miguel Ángel Bello-López² and Rut Fernandez-Torres²

¹“Grigore T. Popa” University of Medicine and Pharmacy, Faculty of Pharmacy, 16th University Street, 700115, Iasi, Romania, Department of Toxicology.

² Departamento Química Analítica. Facultad Química. Universidad Sevilla. (rufft@us.es)

Second generation H₁-antihistamines are highly effective in the treatment of allergic diseases, including seasonal and perennial allergic rhinitis, allergic rashes and dermatitis. They are taken without prescription in most countries in Europe. The literature describes various methods for quantitative determination of antihistamines in different pharmaceutical forms and in biological fluids, such as spectrophotometric methods, spectrofluorimetric, capillary electrophoresis method, polarographic methods, densitometry methods or liquid chromatography methods. The majority of liquid chromatographic methods reported in the literature are focused on the determination of concentrations of antihistamines and their metabolites. A few publications describe methods for simultaneous determination of a wide range of antihistamines.

The aim of this study was to develop and validate a simple and rapid analytical method for simultaneous determination of loratadine, desloratadine and cetirizine in human plasma using ultraperformance liquid chromatography Acquity system (UPLC Waters Corp., Milford) with detector Waters Xevo QTOF mass spectrometer G2S, in resolution, ESI positive mode. An Acquity UPLC BEH C18 column (50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm particle size) was used with a mobile phase consisting in a mixture of methanol and formic acid (0.05% in water), at a flow rate of 0.3 mL/min. The temperature of the column compartment was maintained constant at 20°C. Under these conditions, compounds were eluted in 10 min. The method developed was validated, parameters such as linearity, limit of detection and limit of quantification, precision, selectivity and robustness were studied. All the validation parameters were in agreement with ICH guidelines, which permits us to consider that the proposed method is simple, accurate, reliable, precise and suitable for the quantitative determination of loratadine, desloratadine and cetirizine in human plasma.

The method was applied for the simultaneous quantitative determination of these antihistaminic compounds in human serum, in pharmacokinetic and toxicology studies.

Acknowledgements: This paper was published under the frame of European Social Found, Human Resources Development Operational Programme 2007-2013, project no. POSDRU/159/1.5/136893 and project n° UNSE10-1E-429.

PERFILES METABOLÓMICOS PARA CARACTERIZAR EL EFECTO DEL ALMACENAMIENTO EN ATMÓSFERAS CONTROLADAS SOBRE LA CALIDAD DE LAS FRESAS

Sara Ramírez-Acosta^{1,2,3,4}, Ana Arias-Borrego^{1,2,3,4}, Tamara García-Barrera^{1,2,3}, José Luis Gómez-Ariza^{1,2,3}

1. Departamento de Química, Facultad de Ciencias Experimentales. Universidad de Huelva, Huelva.
2. Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario CEIA3, Universidad de Huelva, Huelva.
3. Centro de Investigación en Salud y Medioambiente (CYSMA), Universidad de Huelva, Huelva.
4. Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico de la Agroindustria (ADESVA), Lepe, Huelva.

Email: sara.ramirez@dqcm.uhu.es

La tecnología post-cosecha utilizada en la actualidad, mejora la calidad, presentación y vida útil de frutas y verduras. En este sentido, la técnica de atmósfera controlada (AC) permite mantener el producto vegetal en bajas concentraciones de O₂ y altas de CO₂. Por otro lado, la calidad de las fresas depende del perfil metabolómico de la fruta, el cual es el resultado de los cambios fisiológicos que ocurren durante el crecimiento y maduración de la fruta. Con el objetivo de investigar los cambios metabolómicos en la fresa tras aplicar tratamientos de AC se llevó a cabo un análisis metabolómico no dirigido mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) siguiendo la metodología propuesta por Zhang et al. (2011) [1] con algunas modificaciones. Además, el efecto del uso de AC también se evaluó en el contenido de sólidos solubles, firmeza, sabor, apariencia, y color de estas frutas. En este estudio, las fresas recién cosechadas se trataron bajo diferentes atmósferas que contenían 10%, 20% y 30% de CO₂ y una concentración constante de 5% de O₂ a 0°C durante 2 días. Los metabolitos polares de la fruta se extraen con una solución de metanol/ácido fórmico (0,1%) [2] y posteriormente se derivatizan de acuerdo con el protocolo de Begley et al. (2009) [3]. Los perfiles metabolómicos obtenidos se compararon estadísticamente mediante un análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) permitiendo así la identificación de metabolitos alterados.

Entre los resultados más importantes cabe destacar que las diferencias más significativas en el PLS-DA se observan en las muestras tratadas con el 20% de CO₂ y que se alteran un total de 11 metabolitos, resultando sobreexpresados el ácido etanodioico, ácido málico, glucosa e inositol en fresas tratadas con el 20% de CO₂ en comparación con las muestras control. También se produce una disminución de ácido glucurónico, ácido fosfórico, fructosa, ácido acético y α-D-glucopiranosido. El aumento de los azúcares y ácidos orgánicos afecta al sabor de fresa, que se confirma con el análisis sensorial y el contenido de sólidos solubles. A partir de los resultados es posible concluir que el tratamiento con AC al 20% de CO₂ mejora las propiedades organolépticas, retrasa los procesos de senescencia y alarga, por tanto, el periodo de vida útil de esta fruta.

[1] J. Zhang, X. Wang, O. Yu, J. Tang, X. Gu, X. Wan & C. Fang, *J. Exp. Bot.* 62 (2011) 1103-1118.

[2] R. González-Domínguez, T. García-Barrera, J. Vitorica & J.L. Gómez-Ariza, *Electrophoresis* 36 (2015) 577-587.

[3] P. Begley, S. Francis-McIntyre, W.B. Dunn, D.I. Broadhurst, A. Halsall, A. Tseng, J. Knowles, R. Goodacre & D.B. Kell *Anal. Chem.* 81 (2009) 7038-7046.

MULTI-RESIDUE DETERMINATION OF RODENTICIDES IN BIOLOGICAL MATRICES BY LIQUID CHROMATOGRAPHY COUPLED TO ORBITRAP HIGH RESOLUTION MASS SPECTROMETRY: INVESTIGATION OF METABOLITES

M. López García, R. Romero González, J. Marín Sáez, I. Domínguez, A. Garrido Frenich

Research Group “Analytical Chemistry of Contaminants”, Department of Chemistry and Physics, *Research Centre for Agricultural and Food Biotechnology (BITAL)*, University of Almería, *AgriFood Campus of International Excellence, ceiA3*, E-04120 Almería
e-mail: mlg169@inlumine.ual.es

In recent years controls of rodent infestation have been increased in Spain due to the attempt to reduce the impact of several recent plagues. Anticoagulants rodenticides (ARs) are the most commonly used poisons in rodent control [1]. One of the causes for accidental poisoning of wild animals is direct consumption of anticoagulant baits. ARs are vitamin K antagonists and the main site of their action is the liver [2]. For the determination of those compounds liquid chromatography (LC) coupled with low resolution mass spectrometry is commonly used. However, the high resolution Exactive-Orbitrap mass analyzer offer multiple advantages owing to its high sensitivity and its ability to analyze an unlimited number of compounds by means of accurate mass measurements combined with high resolving power [3].

In the present work an analytical method has been developed and validated for determining 7 rodenticides, belonging to the “indandione” and “hydroxycoumarin” chemical classes, and their metabolites in rabbit liver samples and biological matrices by LC-Orbitrap. The liver samples were extracted comparing two different methods, QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) and “dilute and shoot”. The best results were obtained with the “dilute and shoot” method with subsequent cleaning of the extract by various combinations of sorbents (PSA, GCB, C18 and ZrO₂). We have concluded that the most useful cleanup was obtained with 50 mg of PSA. According to SANTE guidelines [4] satisfactory validation parameters were obtained. Such parameters were linearity, recovery (ranged between 60 to 99%), precision (repeatability and reproducibility) (obtained values < 20%), limit of identification (LOI) (for confirmation purposes) and limit of quantification (LOQ) (in the range of 0.1-0.5 µg kg⁻¹). Matrix-matched standard solutions were used to eliminate the matrix effect. The applicability of the method was proved during the analysis of real samples of rabbit liver, detecting only indandione compounds. Moreover a retrospective screening analysis (post-target screening) of 54 metabolites of rodenticides in those samples and in 220 biological matrices was carried out. We have found one of the warfarin metabolite, warfarin alcohol, in some of the biological matrices.

References

- [1] A. M. Hernández, J. Bernal, J. L. Bernal, M. T. Martín, C. Caminero, M. J. Nozal, *J. Chromatogr., B.* 925 (2013) 76-85.
- [2] V. Vandenbroucke, N. Desmet, P. De Backer, S. Croubels, *J. Chromatogr., B.* 869 (2008) 101-110.
- [3] M. Roca, N. Leon, A. Pastor, V. Yusà, *J. Chromatogr. A.* 1374 (2014) 66-76.
- [4] Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed, Document No. SANTE/11945/2015, 01/01/2016.

Medioambiente

IONIC LIQUID SOLVENT BAR MICRO-EXTRACTION FOR DETERMINATION OF SILVER IN THE OCEAN

José Antonio López-López¹, Belén Herce-Sesa, Carlos Moreno

¹ Department of Analytical Chemistry. Faculty of Marine and Environmental Sciences. University of Cádiz. Av. República Saharaui. Puerto Real, 11510, Spain
email: carlos.moreno@uca.es

Despite the rising interest of understanding the effects of Ag release to the environment during the last years, there is lack of research on its concentration in the ocean. Main drawbacks for silver determination in seawater are the effects of samples matrix and that Ag normally appears in sub-ng L⁻¹ [1]. Available methods for sample preparation in Ag analysis are based on solid (SPE) and liquid extraction (LLE) using tedious process that increase the cost of analysis and the risk of sample contamination, producing important waste amounts. As an illustration of difficulties of Ag determination in the ocean, there is no certified reference material available for determination of Ag traces in seawater.

Numerous analytical methods have been developed in the last years to improve the determination of trace metals focused on the miniaturization and automation of the sample preparation step, minimizing impact on the environment. However, in the case of Ag, there are no innovative solutions that could overcome the drawbacks of LLE or SPE.

Solvent bar micro-extraction (SBME) allows the pre-concentration of Ag in a micro-volume of the ionic liquid tri-octylmethylammonium chloride (Aliquat 336®) in kerosene solution. Ag pre-concentration in the solvent bar is based on anionic exchange of chloride from the ionic liquid with AgCl₂⁻ and AgCl₃²⁻ from the sample, which are dominant species of Ag in oceanic waters [2].

The method has been optimized using synthetic seawater samples, offering the highest response for samples at pH=2, using 5% Aliquat 336® dissolved in kerosene containing 5% dodecan-1-ol as acceptor solution and after 1 hour stirring at 800 r.p.m.

The method exhibited linearity up to 50 ng L⁻¹, with a limit of detection of 0.09 ng L⁻¹, covering the concentration range of interest for environmental studies. Finally, it was applied for determination of Ag in real seawater samples collected from the Gulf of Cádiz. Results were compared with the reference method of liquid-liquid extraction with 1-pyrrolidine-dithiocarbamate and diethylammonium-diethyldithiocarbamate, showing the applicability of ionic liquid based SBME using Aliquat 336 ® for the simple monitoring of silver ultra-traces in seawater analysis.

Acknowledgments: Work financed by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (CTM-2010-15618 and CTM-2013-47549-P). Authors acknowledge Dr. Antonio Tovar from ICMAN-CSIC for his support in samples collection.

[1] Barriada J.L., Tappin A.D., Evans E.H., Achterberg E.P. *TRAC-Trends* 26 (2007) 809-817

[2] Savenko V.S., Tagirov B.R. *Oceanology* 36 (1996) 212-215

OPTIMIZATION OF A HOLLOW FIBER LIQUID PHASE MICROEXTRACTION SYSTEM FOR COPPER DETERMINATION IN NATURAL WATERS: SIMPLEX vs. BOX-BEHNKEN DESIGN

Rocío Pardo, José Antonio López-López, Carlos Moreno, Carolina Mendiguchía

Department of Analytical Chemistry, Faculty of Marine and Environmental Sciences, University of Cádiz, C/ República Saharaoui s/n, 11510, Puerto Real, Cádiz (SPAIN)
carolina.mendiguchia@uca.es

Nowadays, hollow fiber liquid phase microextraction can be considered as a very good alternative to preconcentrate metals from natural waters. It presents some advantages over other extraction systems, as better stability for organic solvent due to the use of a polymeric support, higher enrichment factors in short extraction times and lower solvent consumption. Nevertheless, it must be taken into account that a system optimization must be performed if the maximum enrichment factor is desired.

Among the different optimization methodologies, those using multivariate approaches appear as the best alternatives if variables are related among them. In general, this is the case of hollow fiber liquid phase microextraction systems due to the transport rates usually depend on the interaction between different chemical variables, besides on the hydrodynamic conditions.

In this work, a hollow fiber liquid phase microextraction system using Di-(2-ethylhexyl)phosphoric acid (DEHPA) in kerosene as organic phase has been optimized to get the major enrichment factor. In this case the driving force of the transport is the pH gradient between the sample and the receiving solution so, undoubtedly, it must be necessary a multivariate optimization strategy.

Then, two different optimization methodologies have been tested in order to maximize the enrichment factor. The first one was a stepwise strategy, the simplex method, in which the experiments are performed one by one due to the response of the previous experiments are needed to establish the next experimental conditions to be tested. The second one, a Box-Behnken design, is based on a response surface methodology and the experiments can be performed simultaneously.

In both cases only chemical variables as the pH of the sample, the concentration of DEHPA in the organic solution and the nitric acid concentration in the receiving solution were studied.

Finally, a comparison between the optimum conditions obtained with each methodology has been performed and the advantages and drawbacks of each one were established.

Acknowledgments

Financial support from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (project CTM2013-47549-P) is gratefully acknowledged.

DESARROLLO DE UN NUEVO MÉTODO ESPECTROFLUORIMÉTRICO PARA LA DETERMINACIÓN DE ALUMINIO EN MOLUSCOS

Carlos Borrego Corchado, Estrella Espada Bellido, José Antonio López López, Manuel Pedro Manuel Vez, Carolina Mendiguchía Martínez, Carlos Moreno Aguilar

¹ Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales, Universidad de Cádiz, CEI-MAR, Campus Río San Pedro, 11510, Puerto Real (Cádiz)

La contaminación metálica en los diferentes compartimentos medioambientales conlleva efectos tóxicos en la biota marina si los metales se encuentran en concentraciones elevadas. Un ecosistema marino con altas concentraciones metálicas puede llegar a ser un riesgo para la salud debido a la posible incorporación de estos contaminantes a la cadena alimentaria. Los moluscos han sido ampliamente utilizados para controlar el contenido metálico en los diferentes compartimentos medioambientales debido a su distribución universal, abundancia y habilidad para acumular metales [1].

El aluminio es el tercer elemento más común encontrado en la corteza terrestre, sólo por detrás del oxígeno y el silicio. Además, este metal es el más empleado en envases y embalajes. Actualmente, su estudio es de gran interés ya que en altas concentraciones parece estar implicado en casos de enfermedades tales como Alzheimer, Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica y diabetes [2]. La picolinolhidrazona del salicilaldehído (SAPH) es un reactivo fluorescente con una alta capacidad complejante que se ha empleado anteriormente de manera satisfactoria para la determinación de aluminio en suelos y agua de mar [3,4], presentando un aumento de fluorescencia en presencia de este metal a pH ligeramente ácidos. El Al y SAPH forman un complejo fluorescente de color azul-verdoso con una relación estequiométrica 1 Al: 3 SAPH.

En este trabajo, se ha desarrollado un nuevo método fluorimétrico empleando SAPH para la determinación del aluminio presente en organismos como los moluscos bivalvos.

En primer lugar, se han realizado una serie de estudios previos univariantes para conocer el comportamiento de cada una de las variables que afectan al sistema. A continuación, se ha llevado a cabo la optimización de las variables (pH, concentración de reguladora, concentración de SAPH y % etanol) mediante un diseño Box-Behnken, realizando un total de 27 experimentos con tres puntos centrales. Bajo las condiciones óptimas encontradas (pH 6,6; 0,9 M de reguladora; 3 mM de SAPH y 50% de etanol) se obtuvieron unos límites de detección y cuantificación adecuados para el análisis de aluminio en muestras reales. Se ha podido observar como la respuesta espectrofluorimétrica crece linealmente con la concentración de metal hasta 120 ppb de Al.

Finalmente, el nuevo método espectrofluorimétrico se ha aplicado de manera satisfactoria a la determinación de aluminio en diferentes especies de moluscos del litoral marroquí (*Acanthocardia Tuberculata* y *Callista Chione*).

[1] M. Belivermis, Ö. Kılıç, Y. Çotuk, Chemosphere 144 (2016) 1980–1987.

[2] G. Berthon, Coord.Chem.Rev. 228 (2002) 319–341.

[3] M.P. Manuel-Vez, M. Garcia-Vargas, Talanta 41 (1994) 1553-1559.

[4] M.P. Manuel-Vez, C. Moreno, D.J. González, M. Garcia-Vargas, Anal. Chim. Acta 355 (1997) 157-161.

DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS PERFLUORADOS EN MATRICES AMBIENTALES SÓLIDAS

Concepción Abril, Eva Garrido, Julia Martín, Juan Luis Santos, Irene Aparicio, Esteban Alonso

Departamento de Química Analítica. Escuela Politécnica Superior. Universidad de Sevilla. C/ Virgen de África, 7. 41011 Sevilla

Los compuestos orgánicos perfluorados (PFC) son contaminantes persistentes, bioacumulables y cuyos efectos sobre el medioambiente no están aun bien evaluados. Debido a su resistencia al calor y a la oxidación y su capacidad para repeler agua y aceite, los PFC se han empleado en multitud de productos domésticos e industriales como tensioactivos, espumas contra incendios, envases alimentarios, pesticidas, etc. Tras el uso de estos productos, los PFC son descargados a través de los sistemas de saneamiento de las ciudades a las estaciones depuradoras de aguas residuales urbanas (EDARs) [1]. En las EDARs estas sustancias no son eliminadas completamente, por lo que son vertidas al medio acuático, a través de las aguas residuales tratadas, o a los suelos, tras la aplicación de los lodos generados como subproducto del proceso de depuración [2]. Si bien las concentraciones de estos contaminantes en el medioambiente no son elevadas, su persistencia y toxicidad requiere y requerirá una especial atención desde las organizaciones internacionales de salud y de medio ambiente y desde el mundo científico, en aras a establecer su dinámica de comportamiento, evaluar su toxicidad y predecir su impacto ambiental.

En base a ello, el objetivo de este trabajo fue proponer una metodología analítica que permita la determinación simultánea de cinco PFC (cuatro ácidos carboxílicos perfluorados (de C5 a C8) y el sulfonato de perfluorooctano) en lodos de depuradora, suelos tratados con lodos y sedimentos.

El método se basó en la extracción de los contaminantes mediante extracción asistida por ultrasonidos, limpieza del extracto empleando extracción en fase sólida dispersiva y determinación mediante cromatografía de líquidos con detección por espectrometría de masas de triple cuadrupolo.

La optimización del método se realizó evaluando las variables de mayor influencia en la separación cromatográfica y en la extracción de los contaminantes (disolvente de extracción, tiempo y temperatura). Las recuperaciones obtenidas con el método propuesto fueron superiores al 60 %. La precisión, medida en unidades de desviación estándar relativa, fue inferior al 9 % y los límites de detección y cuantificación se situaron en los rangos 1-92 ng/kg ms (materia seca) y 3-307 ng/kg ms, respectivamente. La aplicabilidad del método se comprobó mediante el análisis de lodos de depuradora, suelos y sedimentos de la provincia de Sevilla.

[1] P. Zareitalabad, J. Siemens, M. Hamer, W. Amelung, *Chemosphere* 91 (2013) 725-732.

[2] V.S. Thomaidi, A.S. Stasinakis, V.L. Borova, N.S. Thomaidis, *The Science of the Total Environment* 548-549 (2016) 280-288

Agradecimientos:

Los autores desean agradecer la financiación recibida del Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto no. CGL2013-44402-R).

ESTUDIO DE LA DEGRADACIÓN DEL ANTIBIÓTICO EMERGENTE ENROFLOXACINO EMPLEANDO TRATAMIENTOS AVANZADOS DE OXIDACIÓN

Gaspar Carrasco Huertas, Miguel Hernández López

Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga,
Campus de Teatinos s/n, 29071 Málaga, E-mail: mhernandez@uma.es

El enrofloxacin es un antibacteriano que pertenece al grupo de las fluoroquinolonas, que se consideran contaminantes emergentes, debido a su elevado empleo en Medicina y Veterinaria y que se encuentran en aguas residuales urbanas y potables (0,1 ppb) y de los que se desconoce exactamente los efectos que pueda tener a medio y largo plazo en el ecosistema y sobre la salud de la población.

El objetivo de este trabajo es el estudio, optimización y comparación de diferentes tratamientos avanzados de oxidación, basados en la formación de radicales $\cdot\text{OH}$ para la mineralización del enrofloxacin. Para el estudio se empleó irradiación con lámparas UV de media presión en combinación con diferentes oxidantes químicos. En las condiciones propuestas, el antibiótico estudiado se mineraliza rápidamente siguiendo cinéticas de pseudo-primer orden. La degradación de la materia orgánica fue evaluada mediante determinación del carbono orgánico total (TOC).

A concentraciones igual o superiores a 50 ppm de H_2O_2 la eliminación del contaminante es del 50% a los 20 minutos y del 90% a los 80 minutos. Con persulfato sódico se consigue una mineralización del 80% a concentraciones superiores a 150 ppm; proceso no viable desde un punto de vista económico-industrial. Al aplicar una concentración de ferrioxalato potásico de 25 ppm combinada con cualquier concentración superior a 5 ppm de H_2O_2 , la eliminación es del 80-85% a los 10 minutos, con un valor de la constante cinética de $0,19 \text{ s}^{-1}$. Se observa la gran eficacia del ferrioxalato como catalizador en un proceso fotoFenton a medianas y altas concentraciones.

Las mejores condiciones propuestas para un modelo de tratamiento para la eliminación del enrofloxacin económica y con alta efectividad serían:

ENR/UV/FeOx 25ppm/ H_2O_2 10ppm

ENR/UV/FeOx 10ppm/ H_2O_2 50ppm

ENR/UV/FeOx 5ppm/ H_2O_2 50ppm

En todas ellas se producen eliminaciones cercanas al 85% en los primeros 10 minutos del proceso. Analizando estas estas concentraciones de reactivos y tasas de eliminación podría ser viable el diseño de un reactor operando en continuo en donde se eliminase prácticamente la totalidad del contaminante en los primeros minutos de reacción. Hay que considerar el sistema ENR/UV/FeOx 2ppm/ H_2O_2 2ppm con una eliminación del 30% de contaminante, un rendimiento interesante para la baja concentración de reactivos empleados.

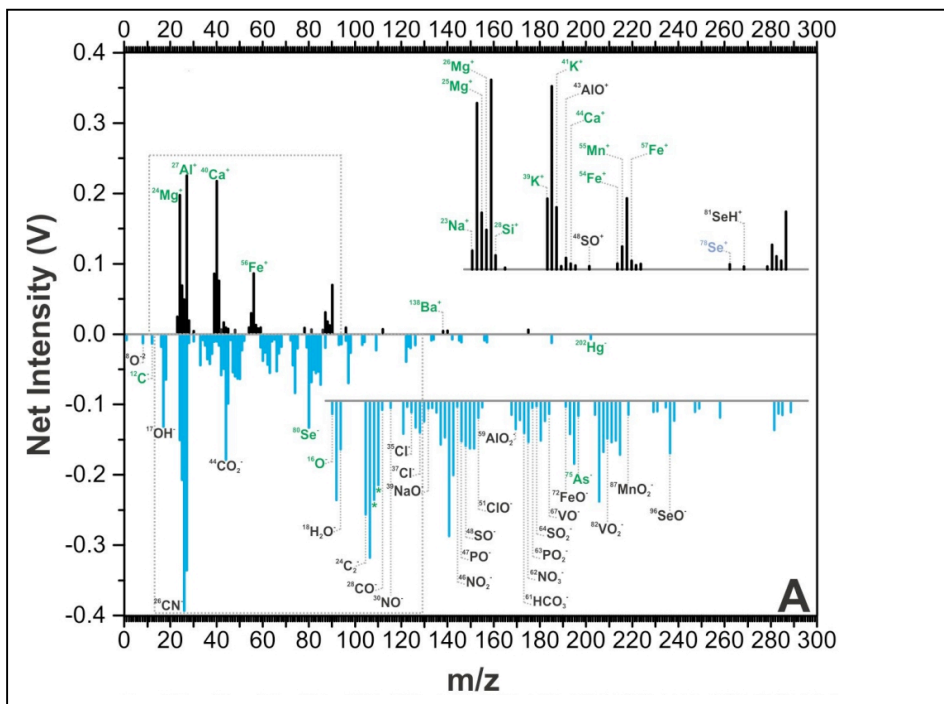
CARACTERIZACIÓN DIRECTA DE MATERIAL PARTICULADO CLASIFICADO EN TAMAÑO MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE TIEMPO DE VUELO CON IONIZACIÓN CON LÁSER DE FEMTOSEGUNDOS

Samara Medina, José M. Vadillo, J. Javier Laserna

UMALASERLAB, Jimenez Fraud 4, 29010 Málaga

La determinación directa de material particulado es un enorme reto derivado de la inherente heterogeneidad en tamaño y forma del material. En condiciones en las que las dimensiones de la sonda son mayores que la particular, puede asumirse excitación completa, y la vaporización/ionización cursa con eficiencias cercanas al 100%. A medida que el tamaño de particular aumenta, dicho porcentaje disminuye drásticamente. Por otra parte, incluso bajo condiciones de excitación eficaz, la composición de las muestras (particularmente la presencia de óxidos refractarios), altera significativamente la dinámica de excitación de la partícula. En este sentido, la estrategia analítica convencional demanda un control preciso de las condiciones de excitación con objeto de vencer las barreras entálpicas propias de cada muestra. Otra estrategia pasa por el uso de lasers de femtosegundo, en los que el mejor acoplamiento de la energía sobre la muestra permite aumentar los rendimientos de excitación.

La presente comunicación compara datos obtenidos con el mismo equipo de espectrometría de masas de tiempo de vuelo, usando dos sistemas láser distintos, con objeto de permitir la ionización con pulsos de 5 ns, o de 35 fs. LA figura que acompaña el texto muestra un espectro completo de los cationes (traza negra) y aniones (traza azul) generados tras la excitación con un pulso láser de 35 fs de partículas de suelo certificado (Clean Clay Soil 2) de tamaño inferior a 10 μm .



ESTUDIO DEL CONTENIDO METÁLICO DEL AGUA Y SEDIMENTOS DE LA LAGUNA DEL VALLE DE LAS GARZAS Y EL PUERTO DE MANZANILLO (COLIMA, MÉXICO)

José Marcos Jurado¹, Roberto Muñiz-Valencia², Ángela Alcázar¹, Silvia G. Ceballos-Magaña³, Aramis Olivos-Ortiz⁴, Omar A. Rangel-Orozco³

¹ Departamento de Química Analítica, Facultad de Química, Universidad de Sevilla

² Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Colima, Colima, México

³ Facultad de Ciencias, Universidad de Colima, Colima, México

⁴ Centro de Universitario de Investigaciones Oceanológicas, Universidad de Colima, Colima, México

Las áreas costeras constituyen una zona de interacción entre el agua dulce y salada y por ello presentan una naturaleza química compleja, muy influenciada por las corrientes marinas, oleaje y las descargas de agua dulce. Este tipo de áreas tienen gran importancia para el ser humano desde el punto de vista de su asentamiento, desarrollo industrial, uso recreativo, turismo y transporte de mercancías, entre otros aspectos. La actividad humana puede convertirse en un foco de contaminantes a través de descargas de aguas residuales de poblaciones y fábricas. En el caso de los metales pesados, debe considerarse además la composición natural de las tierras y sedimentos que arrastra el agua de lluvia y la sedimentación de partículas atmosféricas [1].

La Laguna del Valle de las Garzas está situada en la vertiente del Pacífico mexicano, en el estado de Colima. Se trata de una laguna costera conectada mediante un canal al Puerto de Manzanillo, que es quizá el puerto de mercancías más importante de la costa pacífica mexicana. La laguna tiene una profundidad media de 60 cm durante el periodo de lluvias, recibiendo contribuciones de un canal pluvial y aguas residuales de una planta de tratamiento primario de la población de Manzanillo [2]. El estudio de la zona es interesante debido a la proximidad de la laguna al núcleo urbano y a un mirador natural con una afluencia importante de visitantes.

En este trabajo se determina el contenido en As, Cd, Cu, Cr, Mg, Mn, Ni, Pb and Zn en muestras de agua y sedimentos de la laguna y el puerto mediante espectroscopia de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES). El contenido en estos elementos se ha empleado para realizar un estudio comparativo entre ambas zonas mediante pruebas de significación no paramétricas y el estudio conjunto de los datos mediante análisis en componentes principales (PCA). La laguna presenta mayores contenidos en Mg y Mn que los sedimentos del puerto. Se observa un aumento en los niveles de Cr y Cd obtenidos en sedimentos del puerto en el periodo de lluvias, quizá asociado al efecto de lavado sobre la superficie de barcos y muelles. Los sedimentos más próximos al canal pluvial presentan valores mayores en Zn y Cu, esto se puede relacionar con la acción humana y con la influencia de sedimentos volcánicos. Esto mismo puede influir en la mayor concentración de Cd, Cu, Cr y Ni en las muestras de agua de la laguna. Las aguas del puerto presentan mayores contenidos en Pb, lo que se puede relacionar con el uso de pinturas a base de plomo en los barcos y contenedores.

[1] A. P. Mucha, M. T. Vasconcelos, A. A. Bordalo, A. A. *Environ. Pollut.* 121 (2003) 169-180.

[2] A. O. Meyer-Willerer, E. Torres-Orozco, M. Patiño-Barragán, *Iridia*, 5 (2008) 16-27

EVALUATION OF DIELECTRIC BARRIER DISCHARGE IONIZATION FOR THE DETERMINATION OF NON-HPLC-ESI-MS-AMENABLE ORGANOCHLORINE PESTICIDES

José Robles-Molina¹, Felipe J. Lara Ortega¹, Joachim Franzke², Antonio Molina-Díaz^{1,3}, Juan F. García Reyes¹

¹ Analytical Chemistry Research Group, University of Jaén, 23071 Jaén, Spain
(jfgreyes@ujaen.es)

² Leibniz-Institut für Analytische Wissenschaften, Dortmund, Germany

³ Center for Advanced Studies in Olives Grove and Olive Oils (CEAOAO), Science and Technology park GEOLIT, E-23620 Mengibar, Spain

There are compounds of interest such as priority organochlorine pesticides whose analysis is commonly undertaken by GC-MS since electrospray ionization (ESI) source is not able of effectively ionize them. An ionization source for LC-MS based on dielectric barrier discharge (DBDI) principle was first reported by Franzke and co-workers [Hayen et al., *Anal. Chem.* 2009]. DBDI source offers the ability to simultaneously generate both positive and negative ionized species, as various mechanisms including electron capture and proton transfer apply at the same time. This work evaluates the capability of effectively ionize non-HPLC-ESI-MS-amenable organochlorine pesticides by LC-DBDI-MS. The DBDI source was realized by modification of a commercial API source (APCI Agilent) so that the HPLC eluent was nebulized and vaporized likewise an APCI commercial source. The final configuration of the probe was axial, with respect to the mass spectrometer atmospheric pressure inlet. The chromatographic eluent was provided by an Agilent 1290 Infinity HPLC equipped with a C₁₈ analytical column (4.6x150 mm, 1.8 μm). Mobile phases A and B were H₂O and MeOH (without modifiers). The flow rate was 0.4 mL min⁻¹. The HPLC system was connected to a time-of flight mass spectrometer (Agilent 6220) operated in the negative ionization mode. Four representative organochlorine compounds (β-endosulfan, endosulfan sulfate, hexachlorobenzene and pentachlorobenzene) were chosen for the optimization of different parameters. A mixture containing all the analytes at 100 μg L⁻¹ was continuously infused by the HPLC system without column at a flow rate of 0.4 mL min⁻¹. High resolution full-scan spectrum was recorded while the different values of the parameters were changed, so it was possible to trace the change on the intensity of the compounds and the background non desired species formed. The optimal values were as follow: He flow 500 ml/min and generator voltage 2.5 kV (DBDI); capillary voltage 3500 V; nebulizer pressure, 30 psi; drying gas flow rate, 7.0 L min⁻¹; gas temperature, 200 °C; vaporizer. 250°C; fragmentor voltage: 150 V. Afterwards standard LC-MS analysis was carried out. The analytical parameters were calculated with solvent standards with ca. 20 organochlorine pesticides at different concentration levels (1, 10, 50, 100 μg L⁻¹). The response function of all standards was found to be linear with a regression coefficient (R²) higher than 0.992 in the tested range. Limits of quantitation values were in the low μg L⁻¹ range. These features are promising as they are similar to those attainable for ESI amenable compounds with the same instrument. Furthermore, for the analysis of wastewater and orange extracts, the source was found to be less prone to matrix effects than either ESI or APCI, which is also a significant feature for quantitation purposes.

Acknowledgements. The authors acknowledge funding from Junta de Andalucía through Research Project Ref. AGR-6182, and the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) through Project Ref. CTQ-2012-34297, partially co-financed with FEDER funds.

ANÁLISIS SIMULTÁNEO DE TRIHALOMETANOS, HALONITROMETANOS, HALOACETONITRILOS, HALOACETONAS Y HALOALDEHÍDOS EN AGUA DE CONSUMO MEDIANTE MICROEXTRACCIÓN EN FASE LÍQUIDA Y CROMATOGRAFÍA DE GASES – MS/ μ ECD.

A. Domínguez-Tello^{1,2,3,4}, A. Arias-Borrego^{1,2,3}, T. García-Barrera^{1,2,3}, J.L. Gómez-Ariza^{1,2,3}

1. Departamento de Química, Facultad de Ciencias Experimentales. Universidad de Huelva.
2. Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario ceiA3, Universidad de Huelva.
3. Centro de Investigación en Salud y Medioambiente (CYSMA), Universidad de Huelva.
4. Gestión Integral del Agua de Huelva (GIAHSA), Aljaraque (Huelva).

Durante los procesos de tratamiento y desinfección del agua de consumo con cloro y sus derivados se producen reacciones químicas con la materia orgánica natural contenida en el agua de origen, generando Subproductos de Desinfección (DBPs) considerados nocivos para la salud. Entre los más de 600 DBPs conocidos, los más comunes son los Trihalometanos (THM), Ácidos Haloacéticos (HAA), Halonitrometanos (HNMs), Haloacetoniros (HANs), Haloacetonas (HKs) y Haloaldehidos (HAs).

Dada la importancia del agua como producto básico de consumo humano así como la posible incidencia de los subproductos de desinfección sobre la salud, es necesario el desarrollo de metodologías analíticas precisas y sensibles, con objeto de evaluar los contenidos de estos compuestos en el agua de los sistemas de abastecimiento.

En este trabajo se muestra un nuevo método analítico para la determinación simultánea de 21 DBPs: THM (4), HNMs (7), HANs (6), HKs (3), HacAms (1) empleando microextracción en fase líquida con fibra hueca (Accurel Q3/2, 0,6 μ m) y cuantificación por cromatografía de gases con detector de masas y de captura de electrones. El nuevo método desarrollado es sensible, reproducible, rápido y de fácil aplicación, mejorando los resultados de las técnicas de extracción clásicas (LLE), con muy bajo consumo de disolventes, en línea con los principios de la "Green Chemistry". Se estudió comparativamente la eficiencia de extracción de los analitos diana con diferentes configuraciones de fibra hueca, en extracción directa, espacio de cabeza y SBME. Para facilitar el proceso de extracción con las diferentes configuraciones de fibra hueca se emplearon dispositivos soportes especialmente diseñados y construidos con impresora 3D.

El nuevo método se aplicó en el estudio de contenidos DBPs en aguas de los diferentes sistemas de abastecimiento público de la provincia de Huelva, evaluándose la influencia de los procesos de tratamiento y de las condiciones del sistema de distribución (depósitos y redes), sobre la formación de los DBPs analizados en el agua de consumo.

Los autores agradecen al Ministerio de Economía y Competitividad (España) la financiación del proyecto CTM2012-38720-C03-01 y CTM2015-67902-C-1-P, y a la Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa (Junta de Andalucía) por el proyecto P012 FQM- 0442. Los autores agradecen, asimismo, a los fondos FEDER (Comunidad Europea) por la ayuda recibida.

**ANALYSIS OF REE IN BASALT, CEMENT, SHALE, ROCK AND STREAM
SEDIMENT CRMS BY ICP-QMS**

Rui Santos¹, Sebastian Wünscher¹, Heike Gleisner¹, René Chemnitzer¹

¹ Analytik Jena AG
Analytical Instrumentation
Konrad-Zuse-Strasse 1
07745 Jena / Germany

Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry (ICP-MS) is at the present time the most used instrumental method for rare earth elements (REE) quantification. Nevertheless, its applicability in the analysis of geological samples exhibits some constraints, since the accuracy of the data is largely dependent, both on complete sample dissolution and adequate correction of polyatomic species MO^+ and MOH^+ . Within this method development, five geological reference materials, three from Geopt proficiency-testing program: HPT-1, OPC-1, SBC-1, and two from MC Chinese Reference Materials: GBW 7103 and GBW 7359, were employed to validate the options made for sample digestion and polyatomic corrections. The obtained analytical results for samples of different matrices demonstrate the applicability of this method and instrument in various geological studies such as petrology and mineralogy. The PlasmaQuant[®] MS Elite allows for a significant reduction of oxide / hydroxide levels in collision gas mode while achieving high sensitivity. This results in limits of detection of 0.1 to 2 ppt in the presence of Na_2O_2 matrix and allows for running the analysis of REE without pre-defined correction equations. It is therefore a perfect tool for the analysis of REE in different geological applications.

Acknowledgement: Analytik Jena AG wants to thank the Geological Survey of Portugal (LNEG) for performing the digestion procedure of the investigated geological reference materials.

COLD VAPOUR GENERATION ELECTROTHERMAL ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY AND SOLID PHASE EXTRACTION BASED ON A NEW NANOSORBENT FOR SENSITIVE Hg DETERMINATION IN ENVIRONMENTAL SAMPLES (SEA WATER AND RIVER WATER)

Elisa Vereda Alonso, M^a Teresa Siles Cordero, M^a del Mar López Guerrero, Amparo García de Torres and José Manuel Cano Pavón

Department of Analytical Chemistry, Faculty of Sciences, University of Malaga, Campus de Teatinos, 29071, Málaga, Spain, email: eivereda@uma.es

Mercury is not an essential element for plant or animal life and it is a potential environmental toxic because of its tendency to form covalent bonds with organic molecules and the high stability of the Hg-C bond. Reports estimate a total mercury concentration in natural waters ranging from 0.2 to 100 ng L⁻¹. Due to this fact, highly sensitive methods are required for direct determination of such extremely low levels. In this work, a rapid and simple method was developed for separation and pre-concentration of mercury by flow injection solid phase extraction coupled with on-line chemical vapour generation electrothermal atomic absorption spectrometry. The system is based on chelating retention of the analyte onto the mini column filled with a mesoporous silica functionalized with 1,5 bis (di-2-pyridyl) methylene thiocarbonylhydrazide. The main aim of this work was to develop a precise and accurate method for the determination of the Hg. Under the optima conditions and 120 s preconcentration time, the detection limit obtained was 0.009 µg L⁻¹, with RSDs 3.7 % for 0.2 µg L⁻¹, 4.8 % for 1 µg L⁻¹ and enrichment factor 4, Furthermore, the method proposed has permitted the determination of Hg with a reduction in the analysis time, the sample throughput was about 18 h⁻¹, low consumption of reagents and sample volume.

The method was applied to the determination of Hg in sea water and river water. For the quality control of the analytical performance and the validation of the newly developed method, the analysis of two certified samples, TMDA 54.4 Fortified Lake, and LGC6187 River sediment was addressed. The results showed good agreement with the certified values.

Acknowledgements: The authors thank the Spanish Ministerio de Ciencia y Tecnología (MCyT project no. CTQ2013-44791-P) for supporting this study and also FEDER funds and Universidad de Málaga, Plan Propio

GAS CHROMATOGRAPHY COUPLED TO HIGH RESOLUTION MASS SPECTROMETRY FOR THE DETECTION OF ORGANIC POLLUTANTS IN SURFACE WATER

I. Domínguez, A. Nieto-García, F. J. Arrebola Liébanas, R. Romero González, J.L. Martínez Vidal, A. Garrido Frenich

Department of Chemistry and Physics, *Andalusian Center for the Assessment and Monitoring of Global Change (CAESCG)*, University of Almería, Agrifood Campus of International Excellence, ceiA3, E-04120 Almería, Spain

Organic pollutants are present in the environment mainly due to different anthropogenic activities such as agricultural or industrial chemical production. The combination of their extensive use and physicochemical and toxicological properties make it possible that these compounds end up in surface water, causing a potential risk for the environment and human health. In order to control and prevent contamination of aquatic ecosystems, strict regulations in the framework of different European Directives establish guidelines to control the pollution of surface water including a list of priority substances and setting out environmental quality standards (EQS) [1].

After a first extraction step, gas chromatography (GC) followed by mass spectrometry (MS) or tandem mass spectrometry (MS/MS) are the most commonly used techniques for the quantification of these pollutants. Even so, the low EQS values established for most of the pollutants in water, still require the development of highly sensitive and selective methods capable of simultaneously determining a broad range of compounds possessing different chemical properties at ultra trace levels. In this regard, the high sensibility and specificity of high resolution mass spectrometry (HRMS) make it a potential tool for the analysis of pollutants in environmental samples. Therefore, we propose the use of an automated method based on the on-line combination of solid phase microextraction (SPME) and gas chromatography coupled to magnetic sector high resolution mass spectrometry (GC-HRMS) for the determination of organic pollutants in surface water samples. This study includes 18 pesticides, 8 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), 26 polychlorinated biphenyl congeners (PCBs) and 6 polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), most of which are considered priority substances and others are currently under revision by the EU.

Through this work, the SPME-GC-HRMS conditions were optimized so as to achieve optimal sensitivity and selectivity of the technique. In order to obtain the highest possible efficiency of SPME extraction, different fibers, extraction and desorption temperatures and times, as well as addition of NaCl and MeOH as modifiers were evaluated.

References

[1] Directives 2000/60/EC, 2008/105/EC and 2013/39/EU of the European Parliament and of the councils of 23 October 2000, 16 December 2008 and 12 August 2013, respectively.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge Andalusian Regional Government (Regional Ministry of Innovation, Science, and Enterprise) and FEDER for financial support (Project Ref. P-12-FQM 1838).

**DETERMINACIÓN DE CLORURO DE VINILO EN AGUAS MEDIANTE
MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA Y CROMATOGRAFÍA DE GASES
ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS**

**J. R. Belmonte Sánchez¹, F. J. Arrebola Liébanas¹, M.M. Bayo², P. Hinojo
Ibáñez¹, A. Garrido Frenich¹**

¹Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias Experimentales, Centro de Investigación en Biotecnología Agroalimentaria (BITAL), Universidad de Almería, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3, Universidad de Almería, Carretera Sacramento s/n, E-04071 Almería, España;

²Laboratorio Analítico Bioclínico LAB, Parque Científico-Tecnológico de Almería (PITA), E-04131, Almería
e-mail: joseraulbs@gmail.com

La calidad de las aguas está regulada por diversos documentos, tanto a nivel de la Unión Europea (UE) como nacional. En España, la calidad de las aguas ha estado regulada a través de diferentes Reales Decretos (RDs), principalmente los RDs 849/1986 [1], 140/2003 [2] y 1620/2007 [3]. Todo este marco legislativo ha supuesto el establecimiento de una serie de normas de calidad de las aguas, tanto superficiales como de riego, en relación a diferentes parámetros fisicoquímicos y biológicos, así como el control de contaminantes tanto inorgánicos como orgánicos, entre los que se encuentra el cloruro de vinilo. La obligación de controlar niveles muy bajos de concentración del mismo en aguas supone la necesidad de disponer de métodos analíticos seguros y suficientemente sensibles que permitan su monitorización adecuada con el fin de cumplir con la legislación vigente. Debido a la alta volatilidad y baja masa molecular de compuestos como el cloruro de vinilo, las técnicas cromatográficas acopladas a técnicas de espectrometría de masas son idóneas para su determinación fiable y segura.

En este trabajo se ha validado una metodología para la cuantificación de cloruro de vinilo en aguas, tanto de consumo como de riego, mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas de triple cuadrupolo (GC-QqQ-MS/MS). Debido a la alta volatilidad y reactividad de este compuesto fue necesario el desarrollo de un método de extracción basado en la microextracción en fase sólida (SPME) por inmersión directa. El método fue validado evaluando distintos parámetros como recuperación, precisión, linealidad, límites de detección y cuantificación.

Con el objetivo de evaluar la presencia de cloruro de vinilo en aguas de distintos lugares de la provincia de Almería, el método fue aplicado al análisis de 5 muestras de aguas de consumo y 5 muestras de aguas de riego de diferentes localizaciones. No se detectó la presencia de cloruro de vinilo en ninguna de las muestras analizadas. El método establecido ha permitido establecer la ausencia de este compuesto en aguas, garantizando la seguridad de los consumidores, mediante un método rápido, con adecuada sensibilidad y capacidad de confirmación de cloruro de vinilo.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Junta de Andalucía (Consejería de Economía, Innovación y Ciencia) y al Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) (Referencia P12-FQM-1838) el apoyo financiero.

Referencias

- [1] España. Real Decreto 849/1986, de 11 de abril. BOE, de 30 de abril de 1986, núm. 103, pp 15500-15537.
- [2] España. Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero. BOE, 21 de febrero de 2003, núm. 45.
- [3] España. Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre. BOE, de 8 de diciembre de 2007, núm. 294, pp 50639-50661.

DETERMINACIÓN DE EPICLORHIDRINA EN AGUAS MEDIANTE SPME GC-QqQ-MS/MS

P. Hinojo Ibáñez¹, F.J. Arrebola¹, F.J. Egea González¹, J. R. Belmonte Sánchez¹, E. Gómez², A. Garrido Frenich¹

¹Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias Experimentales, Centro de Investigación en Biotecnología Agroalimentaria (BITAL), Universidad de Almería, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3, Universidad de Almería, Carretera Sacramento s/n, E-04071 Almería, España;

²Laboratorio Analítico Bioclínico LAB, Parque Científico-Tecnológico de Almería (PITA), E-04131, Almería
e-mail:phi703@gmail.es

Epiclorhidrina (ECH), 1-cloro-2,3-epoxipropano, es un compuesto utilizado en diversos campos como la producción de resinas epoxi, glicerina sintética, elastómeros en las industrias farmacéuticas y de papel entre otros. Además, ECH es empleada en la producción de tuberías de agua potable, así como en la síntesis de polielectrolitos catiónicos, que se utilizan en la clarificación de las aguas superficiales y residuales. Como consecuencia de sus usos más extendidos citados anteriormente, se han detectado concentraciones bajas de ECH en las aguas residuales, las aguas subterráneas y superficiales [1,2].

La Agencia Internacional para la Investigación sobre el cáncer (IACR) ha clasificado este compuesto como un agente mutagénico potencial. ECH es tóxica por inhalación, por vía dérmica, por absorción oral y puede ser peligroso para el sistema nervioso central [1]. Recientemente, la Directiva Europea 98/83/CE sobre la calidad de las aguas destinadas al consumo humano, incluyó ECH entre los parámetros químicos por la estrecha relación que mantiene ésta con la salud y por consiguiente debe ser objeto de seguimiento estableciendo un valor paramétrico de 0,1 µg/L [2,3].

El objetivo de este trabajo ha sido la optimización y validación de un método para el análisis de EPH en aguas de consumo mediante el uso de la técnica analítica de microextracción en fase sólida (SPME) con espacio cabeza (HS) y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS/MS) usando un analizador de triple cuadrupolo (QqQ). SPME ha sido aplicada como una alternativa viable a las técnicas convencionales de extracción presentando ventajas como la simplicidad en el tratamiento de muestra, ausencia en el uso de disolventes y la automatización completa del proceso por su conexión con el sistema de análisis. Ello permite obtener una sensibilidad acorde a los parámetros recientemente establecidos por la UE [2,3].

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Junta de Andalucía (Consejería de Economía, Innovación y Ciencia) y al Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) (Project Ref. P12-FQM-1838) el apoyo financiero.

Referencias

- [1] J. Gaca, G. Wejnerowska, *Talanta* 5 (2006) 1044-1050.
- [2] L. Lucentini, E. Ferretti, E. Veschetti, V. Sibio, G. Citti, M. Ottavian, *Microchem. J.* 1 (2005) 89-98
- [3] Directiva Europea 98/83/CE.

Nanomateriales y otros

NUEVAS PERSPECTIVAS DEL USO DE NANOPARTÍCULAS EN EL CAMPO AGROALIMENTARIO

A. Ruiz-Medina, J. Jiménez-López, P. Ortega-Barrales

Universidad de Jaén, Departamento de Química Física y Analítica. Campus de las Lagunillas s/n, 23071, Jaén

Tanto frutas como vegetales contienen diversos componentes que son beneficiosos para la salud humana y es por lo que hoy en día los consumidores demandan cada vez más alimentos saludables con compuestos funcionales, los cuales puedan mejorar su calidad de vida. Las investigaciones en el tema han demostrado que algunos de ellos, como parte de una dieta saludable, tienen el potencial de retrasar la aparición de muchas enfermedades relacionadas con la avanzada edad. Los antioxidantes (incluyendo los carotenoides) son estudiados con gran interés por su habilidad para prevenir enfermedades, y especialmente entre ellos el β -caroteno (o provitamina A), ya que es el carotenoide más abundante en las fuentes vegetales de la cadena alimenticia.

El uso de nanopartículas tales como los puntos cuánticos (Quantum Dots, QDs) está ganando gran importancia debido a sus numerosas propiedades intrínsecas tales como amplio rango de absorbancia, tamaño ajustable, banda de emisión simétrica, alto rendimiento cuántico y excelente fotoestabilidad. La implementación de esquemas de reacción que usan QDs en sistemas continuos de flujo se presenta como una posibilidad altamente interesante para su aplicación en el campo agroalimentario, asegurando la automatización de todo el proceso analítico.

En este trabajo se presenta un novedoso y útil método de análisis basado en el efecto "quenching" inducido por el β -caroteno en la señal de fluorescencia de los QDs de CdTe cubiertos de glutatona (GSH). Es la primera estrategia que se basa en el uso de estos QDs para la determinación cuantitativa del β -caroteno mediante un método de fluorescencia. Se ha hecho uso de la multiconmutación en flujo (MCFIA) como metodología de automatización.

Bajo las condiciones óptimas, el método es lineal en el rango de $0.3\text{-}15\ \mu\text{g mL}^{-1}$, con un límite de detección de $0.09\ \mu\text{g mL}^{-1}$ y una desviación estándar relativa inferior al 3 %. El método para el análisis del β -caroteno fue aplicado a zumo de frutas tropicales (mango, guayaba y maracuyá) y a complementos alimenticios que contenían este analito. Los resultados obtenidos con el método propuesto se encontraban en concordancia con aquellos obtenidos con un método cromatográfico de referencia (HPLC-DAD).

DESARROLLO DE UN MÉTODO FLUORIMÉTRICO AUTOMATIZADO PARA EL ANÁLISIS DE RIFAMICINAS EN FÁRMACOS Y ORINA HACIENDO USO DE QUANTUM DOTS

A. Ruiz-Medina, J. Jiménez-López, P. Ortega-Barrales

Universidad de Jaén, Departamento de Química Física y Analítica, Campus de las Lagunillas s/n, 23071, Jaén

Las rifamicinas son un grupo de antibióticos particularmente efectivo contra las microbacterias. Entre ellas se encuentran la Rifampicina y la Rifaximina, dos de las rifamicinas más utilizadas en medicina humana y cuyo empleo va desde el tratamiento de enfermedades como tuberculosis y lepra hasta su reciente uso en la inhibición de algunos tipos de cáncer (en el caso de la Rifampicina) o el uso en el tratamiento de enfermedades intestinales como la diverticulitis aguda y la colitis pseudomembranosa (en el caso de la Rifaximina).

Teniendo en cuenta el gran potencial clínico de estos fármacos es importante desarrollar una estrategia rápida, sencilla y fiable para su control de calidad, por lo que se propone un método automático de análisis para la determinación de Rifampicina y Rifaximina basado en su interacción con Quantum Dots (QD) (partículas diminutas o nanocristales de un material semiconductor con diámetros comprendidos entre los 2 a 10 nanómetros).

Gracias a los recientes avances en nanotecnología y nanomateriales se ha potenciado el empleo de los QDs para la determinación de diferentes tipos de analitos, presentando éstos la habilidad de establecer interacciones superficiales que producen un decrecimiento en la intensidad de fluorescencia del QD. El método propuesto está basado en el efecto “quenching” producido en la fluorescencia del QD, concretamente CdTe-modificado con ácido mercaptopropiónico (MPA), siendo este efecto proporcional a la concentración del analito. Por otro lado, el uso de metodologías automatizadas en flujo permite el desarrollo de métodos “ecofriendly”, previniendo a los operadores la entrada en contacto con materiales tóxicos como los QDs.

Una vez optimizadas las condiciones del método, se comprueba que la relación entre la fluorescencia de los QDs y las concentraciones de los analitos es lineal en los intervalos de 5-80 y 3-40 mg L⁻¹, para Rifampicina y Rifaximina, respectivamente, con unos límites de detección de 1.5 y 1 mg L⁻¹. También se ha demostrado la reproducibilidad y robustez del método para este sistema, en donde se hace uso de un sistema de flujo multiconmutado (MCFIA).

El método propuesto ha sido aplicado a la determinación de Rifampicina y Rifaximina en preparados farmacéuticos y orina humana, con unas recuperaciones entre el 97% y el 103%, respectivamente, y una desviación estándar relativa (RSD) menor del 3% en todos los casos.

DISOLVENTES NANOESTRUCTURADOS CON PROPIEDADES DE ACCESO RESTRINGIDO PARA EL TRATAMIENTO SIMPLE Y RÁPIDO DE MUESTRAS COMPLEJAS EN ANÁLISIS QUIRAL

C. Caballo, A.B. Lara Fuentes, M.D. Sicilia Criado, S. Rubio Bravo

Departamento de Química Analítica. Facultad de Ciencias. Universidad de Córdoba
Edificio Anexo Marie Curie. Campus de Rabanales, 14071-Córdoba. España
calic_amb@hotmail.es, www.uco.es/sac

Las investigaciones realizadas por nuestro grupo en el ámbito del análisis quiral han demostrado que la microextracción con disolventes supramoleculares con propiedades de acceso restringido (SUPRAS-RAM-ME) es una potente herramienta en tratamientos de muestra previos a la determinación enantioselectiva de compuestos quirales a baja concentración en matrices complejas. Los SUPRAS-RAM son líquidos constituidos por agregados de tensioactivo que solubilizan selectivamente analitos de bajo peso molecular, excluyendo macromoléculas presentes en la matriz de la muestra como proteínas, polisacáridos y ácidos húmicos y fúlvicos. Estos disolventes presentan una elevada eficacia de extracción para analitos con diferente estructura química debido a que la solubilización se puede producir en regiones de diferente polaridad dentro de los agregados, y a que poseen un elevado número de centros de solubilización (las concentraciones de tensioactivo en el disolvente alcanzan valores de hasta 4 M). Su elevada capacidad de extracción permite realizar extracciones cuantitativas usando bajos volúmenes de SUPRAS-RAM y por tanto, obtener elevados factores de concentración, y sus propiedades de acceso restringido posibilitan la obtención de extractos que pueden ser analizados directamente sin necesidad de realizar etapas adicionales de limpieza.

Los SUPRAS-RAM se generan espontáneamente en disoluciones hidro-orgánicas de ácidos alquilcarboxílicos (AAC) o alcoholes (AC), dependiendo su composición, nanoestructura y capacidad de extracción de la proporción disolvente orgánico-agua usada en su síntesis. En mezclas de tensioactivo-tetrahidrofurano (THF)-H₂O, la concentración de tensioactivo en el SUPRAS-RAM disminuye y la proporción de H₂O y THF aumenta a medida que se incrementa la concentración de disolvente orgánico usada para generar el disolvente supramolecular. Este cambio en la composición del disolvente va asociado a un cambio en su nanoestructura. Las moléculas de AAC o AC se asocian formando agregados hexagonales inversos con la cadena hidrocarbonada del tensioactivo dirigida hacia el THF y su grupo polar orientado hacia una cavidad acuosa. El tamaño de esta cavidad disminuye a medida que lo hace la proporción de H₂O y THF en el SUPRAS-RAM, condicionando el tamaño de los compuestos polares que se solubilizan en los agregados.

La combinación de SUPRAS-RAM-ME con cromatografía líquida quiral-espectrometría de masas (CLC-MS) ha permitido desarrollar métodos simples y rápidos para la determinación enantioselectiva de compuestos quirales en un amplio intervalo de polaridades (log P: 3,1-7,6) a muy baja concentración (del orden de los ng L⁻¹ y ng g⁻¹ en muestra líquidas y sólidas, respectivamente) en una gran variedad de matrices (aguas naturales y residuales, suelo, sedimentos, peces, frutas y verduras). Los analitos determinados incluyen enantiómeros de plaguicidas (mecoprop, diclorprop, cis-permetrina y trans-permetrina), fármacos (ibuprofeno, naproxeno y ketoprofeno) y aditivos industriales (α , β y γ - hexabromociclododecano). Los métodos desarrollados se han validado y aplicado al análisis ambiental, biológico y de alimentos.

Agradecimientos: Los autores agradecen la subvención recibida del MINECO (Proyecto CTQ2014-53539-R) y de los Fondos Féder. C. Caballo agradece el contrato postdoctoral subvencionado por el CEICyE de la Junta de Andalucía.

DEVELOPMENT OF ENZYMATIC AMPEROMETRIC BIOSENSORS IMMOBILIZED ON NANOSTRUCTURED CONDUCTING POLYMERS/AuNPs. DETERMINATION OF GLUCOSE IN BLOOD AND WINES

Dolores Bellido Milla¹, Joaquín Rafael Crespo Rosa¹, Ignacio Naranjo Rodríguez¹, Mohamed ElKaoutit², José María Palacios Santander¹, Laura Cubillana Aguilera¹

¹ Instituto de Microscopía Electrónica y Materiales (IMEYMAT), Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, Campus Universitario de Puerto Real S/N; 11510 - Puerto Real, Cádiz, SPAIN.

² Electrochemistry For Lightweight & Integrated Analytical Solutions (Elias), SL. Carretera de Utrera, Km 1, Sevilla-Spain.

dolores.milla@uca.es

Conducting polymers are versatile materials for sensing application that can be used as immobilizing matrices, receptors and transducers in biosensors. On the other hand, nanoparticles provide an ideal structure for the application of biosensors because of minimum diffusion limitations, maximum surface-to-volume ratio, high efficiency of bio-reagent loading and enhanced process ability [1].

In the present work, a new synthesis method for manufacturing nanostructured conducting polymers (nCPs) modified with gold nanoparticles (AuNPs) has been developed. The mechanism of the synthesis is based on the electron transfer between the metal salt (KAuCl₄) as acceptor and the polymer precursor monomer as donor. The synthesis takes place in a single step by applying a high power ultrasound to an aqueous mixture of the monomer and the metal salt in the presence of LiClO₄ as dopant, in a short time. Thus, a dispersion of conducting polymer nanofibers and AuNPs composite (nCPs/AuNPs) was obtained. Different monomers (aniline - ANI, thiophene - T, and 3,4-ethylenedioxythiophene - EDOT) were tested, obtaining three different nCPs/AuNPs: PANI/AuNPs, PT/AuNPs and PEDOT/AuNPs. Structural and electrochemical characterizations of these materials were performed [2].

The proposed immobilization strategy consists of mixing a dispersion of these nanocomposites with an oxidase enzyme solution, which contains FAD as cofactor: glucose oxidase (GOx) or pyruvate oxidase (PYOx). Finally, the mixture was drop-casted onto the surface of a Sonogel-Carbon electrode (SNGC). In both cases, the redox signal of FAD/FADH₂ was detected [3]. This reversible signal indicates the correct embedded of the enzyme in the proposed immobilization matrix [4].

The combination of the catalytic properties of AuNPs dispersed within nanostructured conductive polymers allows the development of biosensors with good sensitivity, repeatability, reproducibility, detection limit and stability. The low potential used avoids interferences, and the geometry of the immobilizing matrix allows easy access of the substrate to the enzyme active sites. The optimization of the main building and measuring parameters in the development of GOX-PANI/AuNPs-SNGC biosensor was carried out. The biosensor was applied to the determination of glucose in real samples of wine and human blood.

[1] L. Xia, Z. Wei, M. Wan, *J. Colloid Interf. Sci.* 341 (2010) 1-11.

[2] J. R. Crespo Rosa, I. Naranjo Rodríguez, M. ElKaoutit Zerry, D. Bellido Milla, J. M. Palacios Santander, L. Cubillana Aguilera, *Sens. Actuat. B* (2016) Submitted – Under Review.

[3] C. Lanzellotto, G. Faver, M. L. Antonelli, C. Tortolini, S. Cannistraro, E. Coppari, F. Mazzei. *Biosens. Bioelectron.* 55 (2014) 430–437.

[4] C. Qiu, X. Wang, X. Liu, S. Hou, H. Ma. *Electrochim. Acta* 67 (2012) 140–146.

APPLICATION OF CdTe QUANTUM DOTS IN MULTICOMMUTED AND SEQUENTIAL INJECTION FLOW-BASED SYSTEMS FOR DETERMINATION OF QUINOLONES

María Luisa Fernández de Córdoba, Lucía Molina García, Antonio Ruiz Medina, Eulogio Llorent Martínez

Universidad de Jaén, Facultad de Ciencias Experimentales, Departamento de Química Física y Analítica, Campus Las Lagunillas, s/n, 23071-Jaén

Quantum Dots (QDs) are nanometer-scale semiconductor crystals with physical dimensions smaller than the exciton Bohr radius. They are made of a core of semiconductor material (elements from the IIB-VIB (e.g. CdSe, CdTe, CdS), IIIB-VB (e.g. InP, InAs) or IVB-VIB (e.g. PbSe)) [1] surrounded by an organic capping layer or passivating molecule, in a diameter typically in the range from 1 to 10 nm.

QDs exhibit superior photochemical properties such as tenability and broad absorption and narrow emission, higher quantum yields and photostability when comparing to conventional organic dyes. These nanomaterials can be directly prepared in aqueous media or can be made water-soluble by appropriate capping with hydrophilic ligands. In the aqueous synthesis, QDs are stabilized by some functional ligands (e.g. mercaptopropionic acid (MPA) or thioglycolic acid (TGA)) and show some unique properties such as low toxicity, low cost, water-solubility and biocompatibility, what made possible their use in biological and biomedical applications.

QDs photoluminescence can be significantly influenced by changes on their surface charge or ligands that affect electron-hole recombination. Therefore, the direct binding of an analyte on the QDs surface could induce changes on their fluorescence signal resulting in either enhancing or quenching effects [2]. In last years, recent advances in QDs nanotechnology have slowly introduced these nanoparticles in analytical area mostly as chemical sensors involving fluorescence-based measurements. Most of the analytical applications regarding quantification procedures for determination of different analytes involving surface interactions with QDs are based on manual sample handling and measuring.

Quinolones, a family of synthetic broad-spectrum antibiotics that play an important role in the treatment of several serious bacterial infections, have been chosen as model analytes in this work. They have been determined with a flow procedure based on the quenching effect caused over the MPA-capped CdTe QDs fluorescence signal. The drawbacks and advantages of Sequential Injection Analysis (SIA) and Multicommutation (MCFIA) flow methodologies for the analysis of quinolones, in terms of sensitivity, versatility, sample throughput, etc., have been discussed. Both methodologies have been assessed for their application to the determination of five quinolones (ciprofloxacin, CFX; levofloxacin, LFX; norfloxacin, NFX, ofloxacin, OFX and piperidic acid, PA) in pharmaceutical preparations available in the Spanish Pharmacopoeia. The detection limits ranged from 26 to 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, and Relative Standard Deviations (RSDs) lower than 3% were observed in all cases.

[1] C. Frigerio, D.S.M. Ribeiro, S.S.M. Rodrigues, V.L.R.G. Abreu, J.A.C. Barbosa, J.A.V. Prior, K.L. Marques, J.L.M. Santos, Application of quantum dots as analytical tools in automated chemical analysis: a review, *Anal. Chim. Acta* 735 (2012) 9-22.

[2] C. Frigerio, V.L.R.G. Abreu, J.L.M. Santos, Evaluation of acetylcysteine promoting effect on CdTe nanocrystals photoluminescence by using a multipumping flow system, *Talanta* 96 (2012) 55-61.

**DESARROLLO Y APLICACIÓN DE NUEVOS MATERIALES
NANOESTRUCTURADOS COMO SOPORTES EN MICROEXTRACCIÓN EN FASE
LÍQUIDA (LPME) Y EXTRACCIÓN POR ELECTROMEMBRANA (EME)**

**Cristina Román Hidalgo, Noemí Aranda Merino, Miguel Ángel Bello López,
María Jesús Martín Valero, Juan Antonio Ocaña González,**

Departamento de Química Analítica, Facultad de Química, Universidad de Sevilla,
41012- Sevilla (ESPAÑA).

La microextracción en fase líquida usando fibras huecas (HF-LPME), es una técnica de tratamiento de muestra bien establecida para el análisis de muestras biológicas y ambientales. En 2006, Pedersen-Bjergaard y Rasmussen propusieron forzar el transporte en sistemas de HF-LPME mediante el uso de campos eléctricos, denominándose esta nueva modalidad extracción por electromembrana (EME) [1]. Al igual que HF-LPME, la EME ha sido aplicada usando, esencialmente, fibras huecas de polipropileno como soporte de las membranas líquidas (SLM) [2-4]. Aunque ambas técnicas presentan grandes ventajas en cuanto a preconcentración y "clean-up", presentan limitaciones debidas, en general, al uso del polipropileno como soporte.

En este trabajo, se ha aplicado un nuevo enfoque a estas técnicas de microextracción mediante el desarrollo de nuevos soportes nanoestructurados, incluyendo el uso de nanopartículas (NPs) metálicas, que sean fácilmente manipulables química y físicamente e incluso funcionalizables, a fin de hacer partícipe de forma activa en el proceso de microextracción y/o migración electrocinética al propio soporte, una idea radicalmente innovadora en este campo.

De este modo, se han empleado tejidos de nanofibras (Tiss Series), altamente difusivos y versátiles, como soporte en sistemas de extracción por electromembrana para la microextracción de compuestos altamente polares (ácido nicotínico, amoxicilina, paracetamol, ácido salicílico, ácido hipúrico y ácido antranílico) para su posterior determinación mediante HPLC – DAD y HPLC - FL. Asimismo, se han desarrollado membranas poliméricas de inclusión (PIMs) de triacetato de celulosa, (con un elevada capacidad para el transporte y extracción de iones metálicos y pequeñas moléculas orgánicas), a las que se les han incorporado nanopartículas metálicas de plata.

Los autores desean expresar su agradecimiento a la empresa nanoMyP por suministrar los Tiss Series empleados en este estudio

[1] Pedersen-Bjergaard S, Rasmussen KE, *J. Chromatogr. A* 1109 (2006):183

[2] Bello-López MA, Ramos-Payán M, Ocaña-González JA, Fernández-Torres R, Callejón-Mochón M, *Analytical Letters* 45 (2012) 804

[3] Gjelstad A, Pedersen-Bjergaard S, *Analytical Methods* 518 (2013) 4549

[4] Krishna-Marothu V, Gorrepati M, Vusa RJ, *J. Chromatogr. Science* 517 (2013) 619

MULTISTAGE TRANSVERSAL MODULATION IMS COUPLED WITH ELECTROSPRAY AND ION TRAP MS: AN ADD-ON FOR HIGH PERFORMANCE ESI-IMS-MS ANALYSIS.

Guillermo Vidal de Miguel¹, Miriam Macia¹, Javier Laserna², José Miguel Vadillo²

¹ Fossil Ion Technology (FIT), C/ Jimenez Fraud 4, 29071 Málaga, Spain

² UMA-LASERLAB, C/ Jimenez Fraud 4, 29071 Málaga, Spain

Commonly used Ion Mobility Spectrometry (IMS) techniques provide a pulsating output of ions, which limits the coupling of these instruments to very fast Mass Spectrometers (MS). Our ultimate goal is to develop an Add-on IMS that can be coupled to upgrade pre-existing Orbitrap.

Transversal Modulation Ion Mobility Spectrometry (TMIMS) and Ion Trap MS can be easily synchronized and coupled, regardless of the acquisition time required by the MS, because the TMIMS operates upstream the inlet of the MS, and provides a continuous output of mobility selected ions. This combination provides IMS-MS data with very high separation capacity. However, previous TMIMS required very high voltages, which required dedicated floating ion sources, and very expensive and bulky power supplies. We redesigned the TMIMS architecture to operate with a grounded inlet, reduce the voltages, and eliminate the overtone peaks produced by the TMIMS. We coupled it with an LTQ XL MS, and tested the possibilities of the system with various samples.

We developed and tested a new TMIMS that incorporates a desolvation region, a ladder of six small TMIMS stages, and a resistive capillary. The electric fields push the ions through the desolvation region and the TMIMS ladder toward the outlet of the ladder, which has the largest voltage. Ions are then transmitted to the MS inlet through the resistive capillary, which bridges the voltage drop. In addition, the desolvation region incorporated a high mobility pass filter to eliminate overtones.

Selected ions are sequentially focused to the center of each slit of the ladder, while non-selected ions accumulate lateral displacements as they traverse the TMIMS ladder. As a result, despite the low deflection voltages used, ions are deflected away from the TMIMS outlet as if a much higher deflection voltage was used, providing high resolving powers with low voltages.

The axial voltage was 10kV, and each stage required only 1.5kV. In a first set of tests, the TMIMS was operated at 130°C, and a solution of tetraheptylammonium bromide (10uM in MeOH) was used. The Resolving power of the TMIMS was above 30, and its transmission was between 1% and 2%. The peak shape was consistent with liquid flows ranging from 5 µlpm to 100 µlpm, showing that these ions were fully desolvated. When the high mobility pass filter was operated, the overtones were eliminated, and the peak shape was maintained.

In a second set of tests, solutions of Calmix, cytochrome, ubiquitin, polyethylene glycol, and 2-hydroxy-4-octyloxybenzophenone (HOBP) were electrosprayed. The observed peaks were in accordance with literature results, with ubiquitin showing different conformational states. However, the high mobility pass filter didn't always eliminate completely the overtone peaks. We attribute this to the fact that this filter was integrated in the desolvation region, and thus that ions were not properly desolvated before being filtered.

This development met most requirements of a functional add-on system that can be used to upgrade currently existing Ion Trap mass spectrometers. The new TMIMS can be readily coupled with Ion Trap MS, and IonMax ion sources, enabling IMS-MS measurements. Our results also provided input for the next prototype, in which the desolvation region will likely be upstream the high mobility pass filter.

We thank A. Makarov (Thermo Fisher Scientific) for the fruitful conversations and for donating the LTQ

DESARROLLO DE INSTRUMENTACIÓN BASADA EN LIBS Y SU APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA DEL ACERO

L.M. Cabalín¹, T. Delgado¹, J. Ruiz², J.J. Laserna¹

Universidad de Málaga, Facultad de Ciencias,¹Departamento de Química Analítica,

²Departamento de Física Aplicada

Campus de Teatinos. Málaga 29071

Teléfono: 951953010, e-mail: lmcabalin@uma.es

Los avances en la industria del acero y la aparición de nuevos materiales con mejores propiedades físico-químicas y mejor comportamiento frente a fenómenos de corrosión, está promoviendo tanto el desarrollo de las técnicas analíticas ya existentes (convencionales) como la búsqueda de tecnologías alternativas que permitan la caracterización y análisis *on-line* del acero durante el proceso de producción del mismo, abarcando desde las materias primas hasta los productos finales, incluyendo aceros con distintos tipos de recubrimiento metálico (aceros galvanizados). En la actualidad la tecnología láser, junto con avanzadas herramientas quimiométricas, es una poderosa técnica para la caracterización, monitorización y la determinación de la composición química de este tipo de materiales.

En este trabajo se presentarán algunas de las aplicaciones más significativas (en diferentes factorías como TKS en Alemania o Gerdau y Acerinox en España) de la espectrometría de emisión atómica de plasmas inducidos por láser (LIBS) para la determinación de la composición elemental de aceros inoxidables tanto a temperatura ambiente como hasta 900 °C, haciendo hincapié en la versatilidad y flexibilidad de la técnica para el análisis *on-line* e *in situ* de muestras de acería y productos acabados.

ESTUDIO ESPECTROSCÓPICO IN SITU DE CAPITELES DE MÁRMOL DE LA ALHAMBRA

Paz Arjonilla Ureña¹, Ana Domínguez Vidal¹, María José de la Torre López², Elena Correa Gómez³, Ramón Rubio Domene³, M^a José Ayora Cañada¹.

¹ Departamento de Química Física y Analítica, Campus Las Lagunillas E-23071, Jaén, Universidad de Jaén Tlf: 953212936, E-mail: mpurena@ujaen.es

² Departamento de Geología, Universidad de Jaén, EPS-Linares, Alfonso X El Sabio 28, Universidad de Jaén, E-23700 Linares.

³ Departamento de Conservación, Patronato de la Alhambra y el Generalife, Granada.

Haciendo uso de la micro-espectroscopía Raman se han investigado los pigmentos que decoran los capiteles de mármol de tres localizaciones diferentes de la Alhambra, concretamente el estudio se ha llevado a cabo in situ y de forma no invasiva en la Sala del Mexuar, la Sala de los Reyes, el Patio de Arrayanes y la Sala de Abencerrajes. La decoración de los capiteles exhibe principalmente motivos azules, rojos, negros y dorados con diferentes estados de conservación.

Se utilizó un espectrómetro Raman innoRam (B&W TEK), con un láser de 785 nm y un detector CCD enfriado termoeléctricamente a -20°C que cubre un rango espectral de 65-3000 cm⁻¹. La microsonda de fibra óptica se acopla al videomicroscopio con una cámara integrada y una iluminación LED para trabajar con mayor precisión. Para conseguir llegar a las diferentes áreas decoradas, se monta sobre un trípode motorizado en los ejes X-Y-Z dirigido por control remoto. Esto permite el ajuste a la posición y focalizar el láser sobre la superficie de la obra de arte. La extensión del trípode y del brazo donde está el videomicroscopio con la cabeza de la sonda ayuda a alcanzar los capiteles de las columnas (situados a una altura de unos 3 metros).

Los datos obtenidos fueron de buena calidad a pesar de las condiciones adversas que se presentan al trabajar fuera del laboratorio. Los pigmentos originales encontrados fueron ultramar natural (Lapislazuli), negro de carbón, cinabrio, minio y mezcla de minio y cinabrio. También se detectó ultramar sintético, proveniente de una restauración reciente. Además, se encontraron dos productos de degradación, el óxido de hierro, presente en los dorados, y la weddellita, un oxalato de calcio [1].

Por último se ha conseguido identificar dos tipos de tecnología de ejecución diferentes. En el periodo Nazarí encontramos los pigmentos aplicados sobre una capa muy fina de yeso en unos casos y aplicados directamente sobre el mármol en otros.

En cuanto al periodo Cristiano, se observa una capa de preparación de yeso muy gruesa y sobre ésta un bol rojo, técnica que se usaría probablemente para cubrir las policromías originales.

En conclusión, el microscopio Raman portátil ha permitido un estudio completamente no invasivo tanto de los pigmentos que están decorando los capiteles de algunas columnas en la Alhambra como de ciertos productos de degradación. Especialmente interesante fue la identificación de materiales en el arte Nazarí en comparación con la redecoración Cristiana.

Agradecimientos: Este trabajo está financiado por el proyecto de investigación BIA2013-41686-R del Ministerio de Economía y Competitividad de España, por la fundación FEDER y por UJA2014/06/12 (Universidad de Jaén, Caja Rural de Jaén).

[1] Dominguez-Vidal, A., de la Torre-Lopez, M. J., Rubio-Domene, R., & Ayora-Cañada, M. J. *The Analyst* 2012; 137(24): 5763.

EL ACABADO DE KJELDAHL: SOBRE LA VALORACIÓN DE AMONIACO EN PRESENCIA DE ÁCIDO BÓRICO**Lucía Fernández, Julia Martín, Agustín García Asuero**

Dpto. de Química Analítica, Universidad de Sevilla, Sevilla (España)

Desde hace más de 100 años se está utilizando el método Kjeldahl para la determinación del nitrógeno en una amplia gama de muestras (alimentos y bebidas, piensos, forrajes, fertilizantes, aguas residuales, suelos...) para el cálculo del contenido en proteína. Es un método oficial descrito en múltiples normativas: AOAC, USEPA, ISO, Farmacopeas y distintas Directivas Comunitarias. La convención general, sobreentendida, es que la totalidad del nitrógeno de la muestra está en forma proteica, aun cuando la realidad es que, según la naturaleza del producto, una fracción considerable del nitrógeno procede de otros compuestos nitrogenados (bases púricas y pirimidínicas, creatina y creatinina, urea, amoniaco, etc.), por ello se denomina “proteína bruta” o “proteína total” a la obtenida por este método.

El método Kjeldahl puede ser dividido básicamente en 3 etapas: digestión o mineralización, destilación y valoración. El procedimiento a seguir es diferente en función de si en la etapa de destilación el nitrógeno liberado es recogido sobre una disolución de ácido bórico o sobre un exceso conocido de ácido clorhídrico o sulfúrico patrón.

La diversidad de artículos que tratan sobre el método de Kjeldahl [1] es atribuible a la inmensa utilidad del mismo, a la necesidad de modificaciones para su aplicación en diversos tipos de matrices, así como a la búsqueda de catalizadores para proporcionar dichas modificaciones y acelerar la digestión.

En este trabajo se describe una formulación exacta de la valoración del amoniaco en presencia de un ácido bórico, y una interpretación química sencilla basada en una linealización (modificación del método de Schwartz) al sistema experimental con el que nos enfrentamos en el acabado analítico del método de Kjeldahl, versión de Winkler.

Para ello, se deduce sin aproximaciones las curvas de valoración que nos permiten tratar el sistema amoniaco-ácido bórico en todos sus casos y se comparan los resultados obtenidos en diferentes situaciones con el método de Gran, mostrándose la superioridad del método propuesto, al convertir en línea recta toda la curva de valoración.

El método ideado se aplica, con éxito, a la determinación del punto de equivalencia en la determinación real de amoniaco en presencia de ácido bórico. Esto, a pesar, de que dicho sistema experimental dista de ser sencillo debido a las complicaciones que se presenta como consecuencia de la presencia de polímeros del ácido bórico a elevadas concentraciones de éste último, lo que hace que su comportamiento no se ajuste fielmente al sistema modelo teórico previamente estudiado.

[1] P. Sáez-Plaza, M.J. Navas, S. Wybraniec, T. Michałowski, A. García Asuero, *Crit. Rev. Anal. Chem.* 43 (2013) 224-272.

**EVALUACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE CONSTANTES DE EQUILIBRIO
SIMULTÁNEOS POR UN MÉTODO BILOGARÍTMICO DE COSENO HIPERBÓLICO****Samuel Beaumont, Julia Martín, Agustín García Asuero**

Dpto. de Química Analítica, Universidad de Sevilla, Sevilla (España)

La correcta evaluación de constantes de protólisis de equilibrios simultáneos, por ejemplo, en sustancias de interés terapéutico, tiene una importancia vital tanto de cara al análisis de los medicamentos como en la interpretación de sus mecanismos de acción, dado que la gran mayoría de sustancias biológicas contienen funciones ionizables tales como grupos carboxilo, hidroxilo y amino. La distribución de drogas entre medios acuoso y orgánico implica un gran número de problemas, que tienen su origen en la biodisponibilidad y transporte de estas sustancias y en los modelos usados para evaluar relaciones estructura/actividad. De ahí que se haya prestado una atención especial a la interpretación de las medidas de solubilidad y de reparto de equilibrios simultáneos, proponiéndose asimismo modelos basados en el uso de funciones hiperbólicas directas e inversas y al cálculo de constantes de acidez próximas, a partir de variadas medidas de tipo físico.

El objetivo práctico concreto en nuestro caso será la puesta a punto de un método bilogarítmico de coseno hiperbólico para el tratamiento de datos potenciométricos [v, pH] a fuerza iónica variable y constante. Dicho método se basa en el uso de la función de formación, o índice de Bjerrum [1].

Entre las aplicaciones se incluyen la simulación de datos experimentales, determinación de concentraciones químicas, constantes de equilibrio, y curvas de calibración. Estos problemas han sido tratados por muchos métodos diferentes, comprendiendo desde técnicas gráficas sencillas a soluciones matemáticas complejas.

Este trabajo atiende a suministrar herramientas de trabajo válidas para el estudio de los equilibrios simultáneos, de protólisis o de formación de complejos. Por una parte, tiene como objetivo suministrar a los investigadores de variadas disciplinas unos métodos y unas herramientas de software que les ayude a resolver problemas de estimación de parámetros, y por otra obtener un conocimiento más profundo de los equilibrios de protólisis y de formación de complejos.

El método desarrollado ha sido aplicado con éxito a varios sistemas químicos listados en la bibliografía, tras haber sido programada la herramienta software creada específicamente para este modelo, facilitando el cálculo de las sucesivas constantes de formación y el error analítico asociado, mostrando rápidamente las gráficas asociadas. Finalmente, se ha aplicado a una experiencia de laboratorio con un sistema muy conocido, el ácido succínico, con objeto de cerciorarse de la validez del método en la práctica diaria de un laboratorio común.

[1] J. Bjerrum, P. Haase and Son: Copenhaguen, 1941.

**SOBRE LA EXISTENCIA DE DOS ESPECIES EN DISOLUCIÓN:
¿EQUILIBRIOS SIMPLES O SIMULTÁNEOS?****Irene Abengoza, Julia Martín, Agustín García Asuero**

Dpto. de Química Analítica, Universidad de Sevilla, Sevilla (España)

Muchos compuestos de interés biológico poseen constantes de acidez próximas. Su absorción, posterior transporte y efecto en el organismo vivo son afectados por la relación entre las formas protonada y no protonada en los variados medios, dependiente de las constantes de acidez [1]. La determinación de estas constantes cuando se trata de equilibrios simultáneos es una tarea difícil por lo que cualquier aproximación realizada en este sentido debe ser objeto de consideración y estudio.

Aunque la valoración potenciométrica ácido-base constituye el método más común y sencillo para la evaluación de las constantes de acidez, no es en general aplicable a compuestos que son escasamente solubles en agua. En este trabajo se ponen a punto diversas estrategias para resolver el problema desde un punto de vista espectrofotométrico.

La determinación espectrofotométrica de constantes de acidez implica dos etapas bien diferenciadas; en primer lugar, la realización de las medidas experimentales de cara a obtener el conjunto de valores (pH, A), y a continuación el tratamiento apropiado de los datos para evaluar los parámetros desconocidos. Se trata de averiguar en qué condiciones experimentales un ácido diprótico puede ser considerado como monoprótico, previo a la determinación de sus constantes de acidez, lo que simplifica los cálculos complejos en aquellos casos en que los equilibrios se simultanean.

La relación entre la absorbancia y la concentración para HR es susceptible de transformación lineal. Antes de llevar a cabo los cálculos se requiere una comprobación del número de especies en disolución (método de Budesinsky [2]). La familia de curvas $f_2 = F(x, n)$ donde f_2 es la fracción molar de H_2R , $n = pK_{a2} - pK_{a1}$ y $x = pK_{a2} - pH$ permite la construcción de los diagramas normalizados de distribución de las diferentes especies de H_2R , lo que permite comprobar cuando la contribución de H_2R o de R puede despreciarse.

Cuando las medidas espectrofotométricas se realizan a la longitud de onda de un punto isosbético (absorbancia límite de las especie R y HR iguales), un ácido diprótico con superposición de constantes puede ser tratado como un ácido monoprótico siempre que se asuma que la concentración analítica de R (C_R) a valores suficientemente bajos y altos de pH es igual a $[H_2R] + [R]$ y $[HR] + [R]$, respectivamente. En estos casos, la aplicación de un método bilogarítmico conduce al valor exacto de las constantes de disociación. Los datos experimentales obtenidos en la bibliografía para la bencidina, el ión vanillilamonio y para el ácido isonicotínico han sido objeto de estudio y aplicación.

[1] A. Avdeef, 2nd ed., Wiley (2012) New York.

[2] B.W. Budesinsky, *Anal. Chim. Acta* 62 (1972) 95-101.

LABORATORIO VIRTUAL DE CONTROL DE CALIDAD ANALÍTICO

M.T. Morales, M.M. Orta, D. Hernanz, M.T. Montaña, M.A. Herrador, M.J. Navas, A.M. Jiménez, D.L. García-González, J. Martín-Bueno, A.G. Asuero.

Dpto. Química Analítica. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla.
c/ Prof. García González 2, 41012 – Sevilla

El elevado número de alumnos del Grado en Farmacia, y el reducido tiempo y espacios disponibles para llevar a cabo actividades prácticas, da lugar a que no sea posible realizar un entrenamiento intensivo en actividades analíticas de control de calidad en los laboratorios. Estas actividades, recogidas en el entorno de las Buenas Prácticas de Laboratorio y en la norma UNE-EN-ISO 17025, describen los requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo, incluyendo las actividades de control interno de la calidad, y tienen especial incidencia en aquellos laboratorios que trabajan en entornos relacionados con Ciencias de la Salud (análisis clínicos, farmacéutico, agroalimentario, toxicológico, etc.).

El objetivo principal de este trabajo es desarrollar y aplicar un simulador virtual de un laboratorio analítico, basado en videojuegos serios [1], que permita la recogida automática de evidencias en el uso de escenarios virtuales y, en concreto, favorecer que el alumno trabaje de forma autónoma e individual, desarrollar actividades que requieran espacios físicos normalmente no disponibles, y disponer de material docente que permita el entrenamiento de habilidades prácticas en el alumno de forma virtual y, paralelamente, permita al profesor recuperar y analizar los datos sobre la actividad desarrollada por cada alumno.

El trabajo ha estado centrado en la creación de materiales docentes virtuales para la asignatura “Control de Calidad en el Laboratorio Analítico” del Grado en Farmacia. El desarrollo del trabajo ha permitido implementar los laboratorios digitales “Late Nite Labs” integrados dentro de la plataforma virtual de la Universidad de Sevilla [2].

La metodología de trabajo ha consistido en la realización de una serie de tareas: reuniones del equipo docente para establecer las características técnicas que debe cumplir el laboratorio y las actividades de control de calidad analítico que serían implantadas; entrenamiento de los profesores implicados en la utilización de materiales virtuales; adquisición y desarrollo del software necesario para el desarrollo del laboratorio virtual; aplicación del informe técnico creado por los profesores y ubicación de los puntos críticos de control necesarios para el entrenamiento de los alumnos; prueba en el aula del material virtual creado y posterior trabajo individual de los estudiantes; evaluación del sistema creado por parte de profesores y alumnos [3].

Los principales resultados muestran que, mediante el uso de estas tecnologías, se facilita que los alumnos se familiaricen con el material de prácticas antes de entrar en el laboratorio real, lo que permite minimizar los riesgos asociados. Además, ofrecen la posibilidad a los alumnos de realizar tareas de laboratorio que no serían posibles en un entorno tradicional. Todo ello con la ventaja de que el material podría ser posteriormente ampliado y adaptado a otras necesidades y asignaturas.

[1] J. Hamari, D.J. Shernoff, E. Rowe, B. Coller, J. Asbell-Clarke, T. Edwards. *Computers in Human Behavior* 54 (2016) 170-179.

[2] M.J. Navas; A.M. Jiménez; A.G. Asuero; G. Galán; M.A. Herrador; M.T. Montaña; M.T. Morales. 2009. *Edusfarm* 5 (2009) 1-12.

[3] M.T. Morales; M.A. Herrador; G. Galán; M.T. Montaña; M.D. Hernanz; A.M. Jiménez; M.J. Navas; A.G. Asuero. 2010. *ARS Pharmaceutica* 50 (2010) 269-278.

CIENTÍFICO POR UN DÍA: ACERCANDO LA CIENCIA A TODOS

Estrella Espada Bellido¹, Antonio Amores Arrocha², Joaquín Crespo Rosa¹, Ana Cea López¹, Marta Ferreiro González¹, Gerardo Fernández Barbero¹, Francisco Martínez Sánchez¹, María Jesús Ruiz Bejarano¹, Margarita Díaz de Alba¹, Ana Belén Díaz Sánchez², Belén García Jarana², José Antonio López López¹, Laura Cubillana Aguilera¹

¹ Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, Campus Río San Pedro, 11510, Puerto Real (Cádiz)

² Departamento de Ingeniería Química y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, Campus Río San Pedro, 11510, Puerto Real (Cádiz)

La Ciencia está en todas partes, todo lo que nos rodea se puede explicar gracias a la Ciencia, pero aún así sigue siendo una gran desconocida para el ciudadano de a pie. Es cierto que cada vez más se intenta divulgar la Ciencia a los niños, los adolescentes,... pero por qué no transmitir esos conocimientos y esa curiosidad por la Ciencia a otros colectivos con más dificultades para acceder a esos contenidos, como los ancianos, los niños discapacitados, amas de casa... Esta iniciativa surge de la inquietud por querer transmitir la Química, la Física,... la Ciencia en general a un tipo de público un poco más especial, que sin lugar a dudas y aún sin disponer de ningún conocimiento previo, puede aprender y disfrutar con la Ciencia.

Por ello, profesores, investigadores y alumnos de los Departamentos de Química Analítica e Ingeniería Química y Tecnología de Alimentos, han llevado a cabo diferentes talleres científicos con varios colectivos: niños con algún tipo de discapacidad intelectual y ancianos. Mediante sencillas experiencias, los alumnos conocen qué es el pH mediante un indicador casero como la lombarda, determinan el contenido en vitamina C del zumo que beben cada mañana y la dureza del agua del grifo, además de tener la oportunidad de crear un vistoso arcoíris químico o un volcán mediante reacciones químicas.

Durante el curso académico 2015-2016 se ha contado con la participación de dos asociaciones: Cruz Roja y Avalon (Asociación para el Fomento, la Investigación y el Desarrollo de la Inserción Sociolaboral de Personas con Discapacidad).

“Científico por un día” es una actividad que no sólo busca divulgar la Ciencia a cualquier sector de la sociedad, sino brindar la oportunidad a personas que por su edad, situación personal o diferentes limitaciones, no la hayan tenido a su alcance.

Agradecimientos: El presente trabajo de divulgación científica ha sido realizado gracias a la financiación recibida por la Unidad de Cultura Científica y de la Innovación (UCC+i) de la Universidad de Cádiz y la desinteresada participación de Cruz Roja en San Fernando y Avalon (Asociación para el Fomento, la Investigación y el Desarrollo de la Inserción Sociolaboral de Personas con Discapacidad) de Chiclana de la Frontera.



ÍNDICE DE AUTORES

Índice de Autores

A

Abengozar, I.	NAO-12
Abril, C.	MAM-04
Akhatou, I.	ALI-08
Akono Nantia, E.	ALI-10
Alcántara Durán, J.	ALI-15
Alcázar, A.	ALI-12, ALI-18, MAM-07
Alonso, E.	CO-04, CF-4, BIO-07, MAM-04
Amo, M.	CO-15
Amores Arrocha, A.	NAO-14
Andreu, V.	CI-3
Aparicio, I.	CO-04, CF-4, BIO-07, MAM-04
Aparicio, R.	ALI-16
Aparicio Ruiz, R.	ALI-16
Aranda Merino, N.	NAO-06
Aranda Sanjuán, V.	ALI-23
Arellano Beltrán, F.	BIO-05
Arias Borrego, A.	BIO-16, MAM-09
Arjonilla Ureña, P.	NAO-09
Aroca Siendones, I.	BIO-05
Arráez Román, D.	BIO-03
Arrebola Liébanas, F.J.	ALI-01, MAM-12, MAM-13, MAM-14
Ayora Cañada, M.J.	ALI-23, NAO-09

B

Barrajón Catalán, E.	BIO-03
Baya Arenas, R.	BIO-09
Bayo, M.M.	MAM-13
Beaumont, S.	NAO-11
Becerra, M.	ALI-04
Beguiristain, I.	CO-07
Bellido Milla, D.	NAO-04
Bello López, M.A.	BIO-15, NAO-06
Belmonte Sánchez, J.R.	MAM-13, MAM-14
Beltrán, M.	ALI-26
Beltrán, R.	ALI-04, ALI-07, ALI-08, ALI-26
Blasco Moreno, J.	CF-5
Borrás Linares, I.	BIO-03
Borrego Corchado, C.	MAM-03
Butnaru, E.	BIO-14, BIO-15

C

Cabalín, L.M.	NAO-08
Caballero Casero, N.	CF-2
Caballero Foncubierta, A.	ALI-13
Caballo Linares, C.	CO-14, NAO-03
Cabeza Barrera, J.	BIO-12
Calderón Santiago, M.	BIO-04

Callejón Leblic, B.....	CO-03
Callejón Mochón, M.....	BIO-14
Cano Pavón, J.M.....	MAM-11
Capitán Vallvey, L.F.	CO-13, ALI-25, BIO-06
Carrasco Huertas, G.	MAM-05
Carrera Fernández, C.	CO-10, ALI-13
Cea López, A.....	NAO-14
Ceballos Magaña, S.G.	MAM-07
Centrich, F.....	CO-07
Cezara, G.I.	BIO-15
Chemnitzer,R.	CO-06, MAM-10
Cifuentes, A.....	CI-2
Cimmino, S.....	ALI-21
Comino Romero, F.....	ALI-23
Correa Gómez, E.	NAO-09
Cortés Francisco, N.....	CO-07
Crespo Rosa, J.R.	NAO-04, NAO-14
Cruces Blanco, C.	ALI-24
Cuadros Rodríguez, L.	CO-01, ALI-20, BIO-10, BIO-13
Cubillana Aguilera, L.	NAO-04, NAO-14

D

Delgado, T.....	NAO-08
Delgado Povedano, M.M.	ALI-11
Deng, M.....	CO-11
Díaz Aguilar, A.	ALI-23
Díaz de Alba, M.....	NAO-14
Díaz Moreno, L.....	ALI-32
Díaz Sánchez, A.B.	NAO-14
Domingo Alves, R.....	ALI-31
Domínguez, I.....	BIO-17, MAM-12
Domínguez Tello, A.....	MAM-09
Domínguez Vidal, A.....	ALI-23, NAO-09

E

Egea González, F.J.....	MAM-14
EIKaoutit, M.....	NAO-04
Erenas, M.M.	ALI-25
Espada Bellido, E.	ALI-14, MAM-03, NAO-14

F

Fernández, B.....	CO-13
Fernández, L.....	NAO-10
Fernández Alba, A.R.	ALI-05, ALI-06, ALI-21, ALI-22, ALI-29, ALI-30
Fernández Barbero, G.....	CO-10, ALI-13, ALI-14, NAO-14
Fernández de Córdova, M.L.....	NAO-05
Fernández Gutiérrez, A.	ALI-02, ALI-03
Fernández Ochoa, A.	BIO-03
Fernández Recamales, A.....	ALI-04, ALI-07, ALI-08, ALI-26
Fernández Torres, R.	BIO-14, BIO-15

Fernández Vega, A. BIO-04
 Ferreiro González, M. CO-10, ALI-13, ALI-14, NAO-14
 Ferrer, C. ALI-05, ALI-06
 Ferrer Aguirre, A. ALI-32
 Franzke, J. ALI-09, MAM-08

G

Gámiz Gracia, L. ALI-10, ALI-19
 García Asuero, A. NAO-10, NAO-11, NAO-12, NAO-13
 García Barrera, T. CO-03, CF-5, BIO-01, BIO-05, BIO-09, BIO-16, MAM-09
 García Barroso, C. CO-10, ALI-13, ALI-14
 García Campaña, A.M. CF-1, ALI-01, ALI-10, ALI-19, ALI-24
 García de Torres, A. MAM-11
 García González, D.L. ALI-16, NAO-13
 García Jarana, B. NAO-14
 García Moreno, G. CO-14
 García Reyes, J.F. CO-02, ALI-09, ALI-15, ALI-17, ALI-27, ALI-28, MAM-08
 Garrido, E. CF-4, MAM-04
 Garrido Frenich, A. CF-3, ALI-01, ALI-02, ALI-31, ALI-32, BIO-17,
 MAM-12, MAM-13, MAM-14
 Gleisner, H. CO-06, MAM-10
 Gómez, E. MAM-14
 Gómez Ariza, J.L. CO-03, CF-5, BIO-01, BIO-05, BIO-09, BIO-16, MAM-09
 Gómez Caravaca, A.M. ALI-02, ALI-03
 Gómez Ramos, M.M. ALI-22, ALI-29
 González Alzaga, B. BIO-05
 González Casado, A. CO-01
 González Domínguez, R. Premio Graseqa CO-08, ALI-04, ALI-07, ALI-08, ALI-26
 González Suárez, S. BIO-12
 Grande Martínez, A. ALI-01
 Gravalos Guzmán, J. CO-03
 Guerra, L. ALI-07
 Guilbert López, B. ALI-27

H

Hamed, A.M. ALI-19
 Herce Sesa, B. MAM-01
 Hernández, F. ALI-12
 Hernández López, M. MAM-05
 Hernández Mesa, M. ALI-24
 Hernández Torres, M.E. ALI-32
 Hernando, M.D. ALI-21
 Hernanz, D. NAO-13
 Herrador, M.A. NAO-13
 Herrera, S. ALI-06
 Hinojo Ibáñez, P. MAM-13, MAM-14

I

Ioannis, R. ALI-05

J

Jaramillo Rodríguez, I.	ALI-13, ALI-14
Jiménez, A.M.	NAO-13
Jiménez Carvelo, A.M.	CO-01, BIO-10
Jiménez López, J.	NAO-01, NAO-02
Jurado, J.M.	ALI-12, ALI-18, MAM-07

K

Kakabakos, S.	ALI-05
Kazakova, J.	BIO-11, BIO-14, BIO-15
Krieger, S.	BIO-08

L

Lacasaña, M.	BIO-05
Lara Fuentes, A.B.	NAO-03
Lara Ortega, F.J.	ALI-09, MAM-08
Laserna, J.J.	CO-15, CF-8, MAM-06, NAO-07, NAO-08
León, L.	ALI-03
León Camacho, M.	ALI-18
Llobera, A.	CO-09, BIO-11
Llorent Martínez, E.	NAO-05
López Bascón, M.A.	BIO-04
López Blanco, R.	ALI-27, ALI-28
López Flores, I.	BIO-05
López García, M.	ALI-31, BIO-17
López Guerrero, M.M.	MAM-11
López Jiménez, M.A.	CO-16
López López, J.A.	MAM-01, MAM-02, MAM-03, NAO-14
López Lorente, A.I.	CO-16
López Martínez, J.C.	ALI-32
López Miranda, J.	BIO-04
López Ruiz, N.	ALI-25
López Ruiz, R.	ALI-31, ALI-32
Lozano, A.	ALI-06, ALI-29
Lucena-Rodríguez, R.	CI-1
Luque de Castro, M.D.	CO-05, CF-6, ALI-11

M

Macia, M.	CF-8, NAO-07
Malagon, M.M.	BIO-04
Malavé, M.D.	ALI-26
Manfo, F.P.T.	ALI-10
Manuel Vez, M.P.	MAM-03
Marconi, E.	ALI-02
Marón Jiménez, M.J.	BIO-10
Marín Sáez, J.	CF-3, BIO-17
Martín, J.	CO-04, CF-4, BIO-07, MAM-04, NAO-10, NAO-11, NAO-12, NAO-13
Martín Valero, M.J.	NAO-06
Martínez Bueno, M.J.	ALI-05, ALI-21, ALI-22, ALI-30
Martínez Olmos, A.	ALI-25

Martínez Sánchez, F.	NAO-14
Martínez Vidal, J.L.....	CF-3, ALI-32, MAM-12
Masana González, I.	CO-12, BIO-08
Maspoch, S.	CO-09
Medina, S.	MAM-06
Mena-Bravo, A.	CF-6
Mendiguchía, C.	MAM-02, MAM-03
Metzlaff, M.....	BIO-08
Micol, V.....	BIO-03
Moeder, M.	BIO-07
Molina Calle, M.....	CO-05
Molina Díaz, A.	CO-02, ALI-09, ALI-15, ALI-17, ALI-27, ALI-28, MAM-08
Molina García, L.	NAO-05
Montaña, M.T.	NAO-13
Morales, M.T.....	ALI-16, NAO-13
Moreno, C.....	MAM-01, MAM-02, MAM-03
Moreno González, D.	CO-02, CF-1, ALI-01, ALI-10, ALI-15, ALI-19, ALI-24, ALI-27
Motilva Sánchez, V.....	BIO-01
Muñiz Valencia, R.	MAM-07
Muñoz, E.	CO-07

N

Naranjo Rodríguez, I.	NAO-04
Narváez Rivas, M.	ALI-18
Navalón, A.....	CO-04, CF-7, BIO-02
Navas, M.J.....	NAO-13
Navas Iglesias, N.	BIO-10, BIO-12, BIO-13
Nieto García, A.	MAM-12
Nortes Méndez, R.	ALI-17, ALI-27, ALI-28

O

Ocaña González, J.A.	NAO-06
Olías, M.	ALI-12
Oliver Pozo, C.	ALI-16
Olivos Ortiz, A.....	MAM-07
Olmo Iruela, M.....	CF-1
Orbe Payá, I.	CO-13, ALI-25, BIO-06
Orta, M.M.....	NAO-13
Ortega Barrales, P.....	NAO-01, NAO-02
Ortiz Gómez, I.	CO-13, BIO-06

P

Pablos de, F.	ALI-12, ALI-18
Paccou, A.	CO-11
Palacios Morillo, A.....	ALI-12
Palacios Santander, J.M.	NAO-04
Palma, A.J.	ALI-25
Palma Lovillo, M.	CO-10, ALI-13, ALI-14
Pardo, R.	MAM-02
Parrila Vázquez, P.....	ALI-29

Pereira Vega, A.	CO-03, BIO-09
Pérez Castaño, E.	CO-01
Pérez Robles, R.	BIO-12, BIO-13
Pérez Sánchez, A.	BIO-03
Petrou, P.	ALI-05
Picó, Y.	CI-3
Priego Capote, F.	CO-05, CF-6, ALI-11, BIO-04

R

Raguvaran, V.	CO-11
Rajski, L.	ALI-21, ALI-22
Ramírez Acosta, S.	BIO-16
Ramos Payán, M.	CO-09, BIO-11
Rangel Orozco, O.A.	MAM-07
Reemtsma, T.	BIO-07
Rivero, J.J.	ALI-33
Robles Molina, J.	ALI-09, ALI-17, ALI-27, ALI-28, MAM-08
Rodríguez Fernández, A.	BIO-01
Rodríguez Gómez, R.	CO-04, CF-7, BIO-02
Rodríguez Moro, G.	CF-5
Román Hidalgo, C.	NAO-06
Romera García, E.	CF-2
Romera Torres, A.	CF-3, ALI-31
Romero del Río, I.	ALI-16
Romero González, R.	CF-3, ALI-31, BIO-17, MAM-12
Rosa de la, R.	ALI-03
Rubies, A.	CO-07
Rubio, S.	CO-14, CF-2, NAO-03
Rubio Domene, R.	NAO-09
Ruiz, J.	NAO-08
Ruiz Bejarano, M.J.	NAO-14
Ruiz Medina, A.	NAO-01, NAO-02, NAO-05
Ruiz Samblás, C.	ALI-20

S

Sage, A.	CO-11
Salinas Castillo, A.	CO-13, BIO-06
Salmerón García, A.	BIO-12, BIO-13
Sánchez Ceinos, J.	BIO-04
Santigosa, E.	BIO-11
Santos, A.	CF-4
Santos, J.L.	CO-04, CF-4, BIO-07, MAM-04
Santos, R.	CO-06, MAM-10
Santos Bermejo, J.C.	ALI-08
Sayago, A.	ALI-04, ALI-07, ALI-08, ALI-26
Schreiber, A.	CO-11
Segura Carretero, A.	ALI-02, ALI-03, BIO-03
Sicilia Criado, M.D.	CO-14, NAO-03
Siles Cordero, M.T.	MAM-11

Silvestre, C. ALI-21
Stahl-Zeng, J. CO-11
Strugaru, A.M. BIO-14

T

Talero, E. BIO-01
Talhaoui, N. ALI-03
Tejada Casado, C. CF-1
Tena, N. ALI-16
Torre López, M.J. NAO-09
Trafkowski, J. CO-12
Tsialla, Z. ALI-05

U

Uclés, A. ALI-05, ALI-06
Uclés, S. ALI-06, ALI-21, ALI-29, ALI-30

V

Vadillo, J.M. CO-15, CF-8, MAM-06, NAO-07
Valcárcel Cases, M. CI-1, CO-16
Valverde Som, L. ALI-20
Vanhoenacker, G. BIO-08
Vass, A. ALI-28
Verardo, V. ALI-02
Vereda Alonso, E. MAM-11
Vidal de Miguel, G. CF-8, NAO-07
Vílchez, J.L. CO-04

W

Wünscher, S. CO-06, MAM-10

Z

Zafra Gómez, A. CO-04, CF-7, BIO-02

ORGANIZADORES



GRUPO REGIONAL ANDALUZ
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
QUÍMICA ANALÍTICA



UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

COLABORADORES



PATROCINADORES

