



LIBRO DE ABSTRACTS

VI Mini simposio

de Investigación en Ciencias Experimentales

Festividad de San Alberto Magno
Patrón de CC Experimentales

14 y 15 de Noviembre 2017



UNIVERSIDAD DE ALMERÍA
Escuela Internacional de Doctorado



Libro de Abstracts

2017



experimentales

Editores: Miriam Álvarez Corral, M^a Carmen Cerón García, Ignacio Fernández de las Nieves

Edición: Universidad de Almería

ISBN: 978-84-16642-96-0

DEPÓSITO. LEGAL: AL 2150-2017

VI Minisimposio de Investigación en Ciencias Experimentales

Festividad de San Alberto Magno
14 y 15 de noviembre de 2017

Lugar de Celebración

Sala de Grados y Hall de Ciencias de la Salud
Universidad de Almería
Campus de la Cañada
Carretera de Sacramento, s/n
04120, Almería.

Índice

1. Organización	2
Comité Organizador	
Comité Científico Evaluador	
2. Saluda del Decano de la Facultad de Ciencias Experimentales	3
3. Carta del Comité Organizador	4
4. Información importante del Minisimposio	5
5. Programa	6
6. Patrocinio del Minisimposio	8
7. Lista de títulos de pósteres	9
8. Resúmenes de los pósteres	
Biotecnología y bioprocesos industriales	13
Ciencias aplicadas y medioambientales	33
Matemáticas	44
Química	48
9. Lista de los autores principales	82

1. Organización

Comité Organizador

Miriam Álvarez Corral
M^a del Carmen Cerón García
Ignacio Fernández de las Nieves

Comité Científico Evaluador

Ana Cámara Artigas
Juan Capel Salinas
Francisco García Camacho
Cecilio Oyonarte Gutiérrez
Blas Torrecillas Jover

2. Saluda del Decano de la Facultad de Ciencias Experimentales

Nos encontramos ante la sexta edición del Minisimposio de Investigación en Ciencias Experimentales, una experiencia en la que esta Facultad ha puesto un empeño y un cariño extraordinarios desde sus inicios, siempre al abrigo de las celebraciones conmemorativas de la festividad de San Alberto, nuestro patrón, y una semana después de la Semana de la Ciencia.

Esta sexta edición supone un paso adelante en la consolidación de la participación e implicación de nuestros investigadores: la dinámica pasa a ser la de jornada y media: desde la sobremesa del martes 14 al miércoles 15. Como siempre, el objetivo es el de plasmar sobre el papel, con vuestros pósteres, y de comunicar en vivo, en sesiones *flash*, vuestros resultados más recientes. Sigue siendo este nuestro compromiso con los primeros pasos de los más jóvenes como investigadores. Es el reto principal para el que nació esta experiencia: impulsar a los investigadores que empiezan.

Como en años anteriores, el compromiso de colaboración de la Escuela Internacional de Doctorado, con el profesor Dr. Antonio Fernández Barbero a su cabeza, es de agradecer, pues éste se concreta en la posibilidad de contar con los diferentes investigadores que nos acompañarán en las mini-conferencias programadas.

Tampoco quiero dejar sin señalar la colaboración y compromiso de las diferentes empresas e instancias implicadas en nuestro quehacer investigador cotidiano y que se concreta en que podamos otorgar premios con cuantía económica, pues esto no dejará de ser sino un estímulo para que no dejen de intervenir nuestros investigadores en esta convocatoria. Quiero hacer explícito este agradecimiento a los campus de excelencia internacional agroalimentarios (CeIA3) y del Mar (CeIMar), al Centro de Investigación en Agrosistemas Intensivos Mediterráneos y Biotecnología Alimentaria (CIAIMBITAL), a los Servicios Centrales de investigación de la UAL, a Fisher Scientific, a Equilabo, a Biorizon, y especialmente a Dicsa.

Concluyo este saludo, como siempre lo he hecho, con mi agradecimiento por el enorme esfuerzo llevado a cabo por el equipo de colegas que ha hecho realidad esta edición un año más. Hago explícito agradecimiento en la profesora Dra. María del Carmen Cerón García, la profesora Dra. Miriam Álvarez Corral, y en el profesor Dr. Ignacio Fernández de las Nieves. A ellos, al resto de colaboradores más directamente implicados en la organización, y en general a todos los participantes, os deseo un fructífero VI Minisimposio y un feliz San Alberto 2017.

Enrique de Amo Artero
Decano de la Facultad de Ciencia Experimentales.

3. Carta del Comité Organizador

Os damos la bienvenida al Minisimposio de 2017, ya en su sexta edición, que de nuevo contendrá conferencias plenarias, comunicaciones *flash* y exposición de pósteres.

Este año se aumentan el número de conferencias plenarias y también se ven incrementadas el número de empresas colaboradoras, que sin duda son base fundamental para poder otorgar los premios en metálico a las mejores comunicaciones. Como todos los años, las temáticas en Química, Ambientales, Matemáticas y Biotecnología, serán eje fundamental sobre el cual se sustenten todas las contribuciones.

Sin duda alguna, lo que hace que un año más nos impliquemos en la organización de este pequeño evento científico, es la oportunidad que nos brinda la Facultad de Ciencias Experimentales de crear un espacio y entorno adecuados para la discusión científica entre nuestros estudiantes de doctorado, y favorecer de este modo que se produzca su interacción.

Por último, nos gustaría hacer público nuestro sincero agradecimiento al comité científico constituido por el Dr. Blas Torrecillas Jover, Dr. Cecilio Oyonarte Guitérrez, Dra. Ana Cámara Artigas, Dr. Francisco García Camacho y Dr. Juan Capel Salinas.

Sin quererles robar más vuestro tiempo, queremos trasladar desde el comité organizador nuestro firme deseo de aprovechamiento científico y social de nuestra festividad de San Alberto Magno.

Comité Organizador

Ignacio Fernández de las Nieves (Prof. Titular, Área Química Orgánica)

María del Carmen Cerón García (Prof. Titular, Área Ingeniería Química)

Miriam Álvarez Corral (Prof. Titular, Área Química Orgánica)

4. Información importante del Minisimposio

Podrán participar en este VI Minisimposio alumnos de doctorado y de máster de la Facultad de Ciencias Experimentales (FCCEE) de la UAL así como de otras facultades experimentales andaluzas. Del mismo modo, los investigadores posdoctorales también podrán participar en las mismas condiciones. Asistentes a este Minisimposio podrán ser todos aquellos miembros de la comunidad universitaria interesados en conocer las investigaciones más recientes llevadas a cabo en el ámbito de las Ciencias Experimentales.

El Comité Científico será el encargado de valorar todos los trabajos en formato póster enviados, y seleccionar 20 de todos ellos, para su posterior exposición oral en modalidad flash. Esta modalidad consiste en exponer el trabajo presentado en 5 minutos sin turno de preguntas. El comité científico valorará negativamente aquellas que sobrepasen el tiempo establecido. La exposición consistirá en un breve resumen de la investigación (temática, relevancia, equipo investigador, resultados más relevantes, etc.) no superior a 5 minutos (se pondrá a disposición de los seleccionados material informático y sala de grados para la presentación). De las 20 exposiciones el comité escogerá aquellos merecedores del premio. La valoración estará basada en tres criterios: carácter divulgativo, contenido, calidad científica y presentación.

Los premios serán de 300 euros, pudiendo otorgarse más de uno por temática. Un año más, las temáticas para intentar abordar a todos los doctorados de Ciencias de la Universidad de Almería y fomentar así que la jornada sea aún más enriquecedora son: 1) Biotecnología y Bioprocesos industriales, 2) Ciencias Aplicadas y medioambientales, 3) Matemáticas, y 4) Química. La resolución de los mismos se dará a conocer el día de San Alberto en el acto de clausura, el 15 de noviembre de 2017. La selección de premios la llevará a cabo el comité científico.

5. Programa

Martes 14 de noviembre

16:00 h	Entrega de documentación
16:30 h	Bienvenida Sr. Decano de la Facultad de Ciencias Experimentales de la Universidad de Almería
17:00 h	Conferencia Plenaria. "Oportunidades en Europa: Acciones Marie Curie." D. Juan Antonio Chaichio Moreno
17:30	Café
18:00	Conferencia Plenaria. "La planificación de la carrera del joven investigador. Opciones en el sistema de I+D+i nacional." D. Carlos Herrero Sánchez
18:30-19:00 h	Comunicaciones Flash

Miércoles 15 de noviembre

9:00 h	Conferencia Plenaria. "Nuevas fronteras de la espectrometría de masas. Aplicaciones en medio ambiente, biota y humanos." Dra. María José Gómez Ramos
9:30-11:00 h	Sesión de pósteres distribuida por doctorados: <ul style="list-style-type: none"> ✓ Biotecnología y bioprocesos industriales ✓ Ciencias aplicadas y medioambientales ✓ Química ✓ Matemáticas
10:30 h	Café
11:00-12:15 h	Conferencia San Alberto Magno Dr. Rafael Fernández Rubio "Retos ambientales en la minería"
12:15-13:15	Comunicaciones Flash
13:15 h	Copa de vino cortesía de DICSA

16:30-17:00 h	Conferencia Plenaria. "La joven Real Sociedad Matemática Española." Dra. Mercedes Siles Molina
17:00-17:30 h	Comunicaciones Flash
17:30-18:00 h	Café
18:00-18:30 h	Conferencia Plenaria. "Uso de sensores ópticos proximales para optimizar el aporte de nitrógeno en cultivos hortícolas." Dr. Francisco Manuel Padilla Ruiz
18:30-19:00 h	Comunicaciones Flash
19:15 h	Entrega de premios y clausura del Minisimposio

6. Patrocinio del Minisimposio



7. Lista de títulos de pósteres

Biotecnología y bioprocesos industriales

P-1. Photosynthetic response under intermittent light in an industrial raceway reactor	M. Barceló-Villalobos
P-2. Delayed luminescence from induced biophotons emission: A quantum biology approach for the evaluation of biological samples	P. Campra
P-3. Inclusión de la macroalga <i>Ulva ohnoi</i> en piensos para lenguado senegalés: efectos sobre la fisiología digestiva	Y. Chourak
P-4. Continuous disinfection of WWTP secondary effluents by solar photo-fenton process	I. de la Obra
P-5. Comparison of disinfection process of WWTP secondary effluents by solar photo-fenton in compound parabolic collectors and open reactors at neutral pH	B. Esteban-García
P-6. Hidrólisis <i>in vitro</i> de la proteína de <i>Arthrospira platensis</i> por las proteasas digestivas de dorada	A. Galafat
P-7. Inclusión de un hidrolizado de microalgas en piensos para juveniles de dorada: efectos sobre el crecimiento y la funcionalidad intestinal	A. Galafat
P-8. Caracterización de dos cepas de <i>Amphidinium carterae</i> . Mejora en la extracción de compuestos bioactivos	M. López-Rodríguez
P-9. Influencia de la relación N:P en la productividad de biomasa y composición de carotenoides de <i>Heterochlorella luteoviridis</i>	T. Menegol
P-10. A pilot-scale bioprocess to produce amphidinols from the marine microalga <i>Amphidinium carterae</i> : isolation of a novel analogue	A. Molina-Miras
P-11. CFD-aided optimization of a laboratory-scale centrifugation for a shear-sensitive insect cell line	A. Molina-Miras
P-12. Searching for an extraction method to obtain biostimulants from microalgae	E. Navarro-López
P-13. Extracción de lípidos polares de microalgas para obtener concentrados en PUFAs N-3	S. Orta
P-14. A novel T-DNA mutant collection in commercial backgrounds of tomato	F. Pérez-Martín
P-15. Multi-step process for an integral use of biomass from dinoflagellate <i>Amphidinium carterae</i>	A. Ramírez-González
P-16. Silica nanoparticles coatings to obtain antibiofouling surfaces for photobioreactors	J. V. Reinoso Moreno
P-17. Obtención de biodiésel por hidrólisis ácida y transesterificación directa de <i>N. gaditana</i>	T. Rondet

- P-18. Novedoso método de extracción de la B-ficoeritrina a partir de la microalga *Porphyridium cruentum* K. Sanabria
- P-19. Cuantificación de la actividad celulolítica en las diferentes etapas del proceso de compostaje A. Siles
- P-20. Effect of volumetric rate of photon absorption on the kinetics of micropollutant removal by solar photo-fenton with Fe³⁺-EDDs at neutral pH P. Soriano-Molina

Ciencias aplicadas y medioambientales

- P-21. Evaluación del potencial probiótico y prebiótico de *Rhodotorula mucilaginosa* para su utilización en el cultivo de dorada (*Sparus aurata*) M. J. Céspedes
- P-22. Quantification of amylolytic activity during composting of organic waste M. J. Estrella-González
- P-23. Uso de vehículos aéreos no tripulados para el control de procesos erosivos en suelos P. Martínez-Carricondo
- P-24. Uso de radionucleidos como trazadores de la interacción agua subterráneas-superficiales en el río Andarax (SE España) F. Navarro-Martínez
- P-25. Zonificación de las aguas superficiales del río Andarax mediante el uso conjunto de elementos minoritarios y elementos traza F. Navarro-Martínez
- P-26. Diseño de una propuesta educativa para el recurso agua M. Rodríguez
- P-27. Modificación del valor nutritivo de la larva de *Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758) mediante el sistema de cría B. Rodríguez-Lozano
- P-28. Assessment of the influence of climate change on olive crops agroecosystems in Andalusia, Spain R.F. Roperó
- P-29. Estimation of species richness using bayesian networks A. Maldonado
- P-30. Aguas fósiles evidencian la existencia de una laguna costera en Cabo de Gata (Almería) F. Sola
- P-31. La ciudad de Almería inundada por el mar (~10.000 AÑOS BP) F. Sola

Matemáticas

- P-32. Longitudinal vibrations effect on vision via the strehl ratio optical transfer function metric (SOTF) A. B. Castaño-Fernández
- P-33. The distribution function of a probability measure on a polish ultrametric space J. F. Gálvez-Rodríguez
- P-34. Mehler-Heine asymptotics and zeros of varying discrete Sobolev orthonormal polynomials J. F. Mañas-Mañas
- P-35. Bayesian models of data streams with hierarchical power priors A. R. Masegosa

Química

- P-36. ^1H NMR based profiling of spent human embryo culture media for assessment of *in vitro* embryo quality A. C. Abreu
- P-37. Exploring the metabolome of *Annona cherimola* l. leaves by a combined approach based on NMR and HPLC-TOF-MS L.M. Aguilera-Sáez
- P-38. Effect of organic amendment on flusilazole leaching K. Aït-Hammi
- P-39. Molecular weight prediction of globular proteins through the use of pulse-field gradient diffusion NMR F.M. Arrabal-Campos
- P-40. Alcoholic beverage classification based on fingerprinting analysis by headspace solid phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry J.R. Belmonte-Sánchez
- P-41. Diseño y síntesis de nuevos materiales moleculares multicomponente con actividad antidiabética A. Calvo
- P-42. Multiresidue method for the analysis of pesticides in wastewater of different origin by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry M. C. Campos-Mañas
- P-43. Mannosylated cyclodextrin-no-photodonor conjugates for targeting specific antibiotic-resistant bacteria G. Cutrone
- P-44. Biological activity and components of *Heliotropium arborescens* L. D. Fabrikov
- P-45. Cristalización del dominio GYF J. Gallardo-Reche
- P-46. Nuevo MOF basado en disprosio y pyrene-1,3,6,8-tetrasulfónico con interesantes propiedades magnéticas y luminiscentes A. García-García
- P-47. Diseño de imanes moleculares y/o fosforescentes basados en 1-metilimidazol-5-carboxilato y metales de transición A. García-Valdivia
- P-48. *In vitro* antitumoral actions of arachidonic and docosahexaenoic acids on HT-29 colorectal cancer cell line M. J. González-Fernández
- P-49. Inducción, purificación y caracterización de una histidinasa de *Geobacillus kaustophilus* A. Hernández-Zanoletty
- P-50. Simultaneous analysis of Aloin A and B in products containing *Aloe vera* by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry M. L. Jiménez-Medina
- P-51. The application of silicic materials to the adsorption of pesticides in environmental water L. Kharbouche
- P-52. Degradation study of Quizalofop-P and its commercial products in soils applying analytical strategies based on ultra-high performance liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry R. López-Ruiz
- P-53. Allylations and propargylations of aldehydes promoted by dichlorocyclopentadienyltitanium(III) J. L. López-Martínez
- P-54. Development of a multiresidue method for the analysis of antibiotics in wastewater effluents by LC-QqLIT-MS/MS A. Lorenzo
- P-55. Validation of pesticides in horticultural leaves M. V. Manzano-Blanes
- P-56. Evaluation of the presence of tropane alkaloids in cereals and legume matrices using liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry J. Marín-Sáez

P-57. New salen type ligands: preparation of metal chelates	R. Martínez
P-58. Differentiation of organic and conventional tomatoes by IRMS analysis and non-targeted metabolomic profiling using HRMS	M.M. Murcia-Morales
P-59. New molecular magnets based on copper(II) and TEMPO	Y. Navarro
P-60. Nuevos compuestos de coordinación multifuncionales anti-diabéticos basados en cobalto	A. Navas-Calahorro
P-61. Disposable sensor for creatinine based on new ionophore	I. Ortiz-Gómez
P-62. Estudios cristalográficos de plegamientos anómalos de proteínas: el dominio c-SRC-SH3 como modelo	M. Plaza-Garrido
P-63. New anthraquinone-based iron catalyst for the hydrosilylation of carbonyl compounds	Á. Raya-Barón
P-64. Materiales moleculares basados en zinc y vanadio con actividad antidiabética	A. Rodríguez-Diéguez
P-65. Analysis of tropane alkaloids in tea and herbal tea samples by LC-HRMS (ORBITRAP)	A. Romera-Torres
P-66. Una revisión de la unión de los colorantes eosina y azul de bromofenol a la lisozima	M. Salinas-García
P-67. A new Ti(III) mediated straightforward strategy for the synthesis of 2,5 dihydrofurans	I. Torres-García
P-68. Evaluación preliminar de sistemas de liberación controlada de soluciones nutricionales basados en hidrogeles	M. M. Urbano-Juan
P-69. Establecimiento de un método para la determinación de propoxycarbazone y su metabolito en alimentos mediante cromatografía de líquidos-espectrometría de masas en tándem	M. Vargas-Pérez

PHOTOSYNTHETIC RESPONSE UNDER INTERMITTENT LIGHT IN AN INDUSTRIAL RACEWAY REACTOR

**M. Barceló-Villalobos¹, F. G. Acién Fernández², J. M. Fernández-Sevilla²,
J. L. Guzmán Sánchez¹**

¹*Department of Informatics, Universidad de Almería,*

²*Department of Chemical Engineering, Universidad de Almería,
E04120 Almería (Spain); mbarcelovillalobos@gmail.com*

Design and scale-up methodologies for photo-bioreactors need to be improved¹. Effective and efficient provision of light must be done to afford a suitable development of microalgae production in an industrial scale. Availability and intensity of light are the major factors controlling productivity of photosynthetic cultures¹. The higher growth rates and biomass productivities can only be achieved under efficient use of solar radiation, ensuring nutrient saturation conditions².

As far as solar radiation supply is difficult to regulate, light-dark cycling could be optimized through the improvement of reactor design and operation. For this, the optimal light-dark regime must be known. The methodology used allows to measure the influence of light/dark cycles on the biomass production, and how the light/dark variation can affect to the productivity of the reactor. This project aims to define the optimal light-darkness cycling and its variation along the day as a function of the solar radiation.

Photosynthesis rate measurements were performed using a specific equipment built up by the Department of Chemical Engineering at the University of Almería to achieve the goals of the present project. The pH, temperature and dissolved oxygen were measured using Crison probes (Crison instruments, Spain), connected to an MM44 control-transmitter unit (Crison Instruments, Spain), and data acquisition software (DAQFactory, Labjack) to have a complete monitoring and control of the experiment. A set point of 8.0 pH was used to ensure the optimal conditions to measure photosynthesis rate. Oxygen-generation measurements are one of the simplest ways to assess the rate of photosynthesis³. 172 samples of 80 mL volume each, were taken to measure photosynthetic rate (PO_2 , $\text{mg L}^{-1} \text{h}^{-1}$) at different daylight time, and at different light-darkness cycles (1/3, 2/2, 2/6, 3/1, 4/0, 4/12, 8/24) for one hour each.

In this project, we obtained higher photosynthesis rate at 3/1 cycle for 75-150 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ samples, as well as 2/2 cycle for $>150 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ average irradiance. Future studies must be done to relate light/darkness cycles to paddlewheel speed.

Acknowledgements. This study was supported by financial support provided by the Ministry of Economy and Competitiveness (DPI2014-55932-C2-1-R and CTQ2014-57293-C3-1-R EDARSOL). We are grateful for the practical assistance of the staff of the Las Palmerillas Experimental Station of the Cajamar Foundation.

¹ Molina Grima, E., Acién Fernández, F. G., García Camacho, F., & Chisti, Y. Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. *Prog. Ind. Microbio.* **1999**, 35(C), 231–247.

² García-Malea, M. C., Brindley, C., Del Río, E., Acién, F. G., Fernández, J. M., & Molina, E. Modelling of growth and accumulation of carotenoids in *Haematococcus pluvialis* as a function of irradiance and nutrients supply. *Biochem. Eng. J.* **2005**, 26(2–3), 107–114.

³ García-Camacho, F., Sánchez-Mirón, A., Molina-Grima, E., Camacho-Rubio, F., & Merchuck, J. C. A mechanistic model of photosynthesis in microalgae including photoacclimation dynamics. *J. Theor. Biol.* **2012**, 304, 1–15.

DELAYED LUMINESCENCE FROM INDUCED BIOPHOTONS EMISSION: A QUANTUM BIOLOGY APPROACH FOR THE EVALUATION OF BIOLOGICAL SAMPLES

P. Campra¹, H. Khaldiy², E. Urea-Ramos³, M. J. Aznar-García¹

¹*Food Technology Division, University of Almeria, E04120 Almería (Spain)*

²*Servicios Centrales de Investigación, University of Almeria, Almeria, Spain*

³*Scientific instrumentation Center, University of Granada, Granada, Spain*

Time-resolved photoinduced delayed luminescence (DL) is a technique for the characterization of biophotons emission from biological samples after excitation with light. This ultra-weak emission of optical photons from organisms is prolonged in time after excitation in most cells and biological samples after being illuminated. By DL, information can be obtained on different parameters related to the biological state and function, such as structural order, physiological state, cell cultures health or food freshness. The main rationale is that there exists a correlation between DL and the microscopic structure of the sample¹. Different theoretical models have been proposed to explain the source and mechanism of DL in different biological systems, but still no consensus exists. Among them, the photo-induction of excited collective electron states, and the relaxation of quantum coherent states^{2,3} offer a robust mathematical model to explain experimental differences among samples. Whatever the mechanistic explanation, a growing literature shows that by DL it is possible to make distinctions in a variety of fields as food quality assessment⁴, and cell cultures health, seeds viability⁵ or meat quality, for instance.

Here we have checked the feasibility of DL for food quality assessment by a screening of biophotons emission from several biological samples, using two complementary techniques: laser confocal imaging, and DL decay characterization by Time Resolved Fluorescence (TRF). Biophotons imaging were captured with Confocal Laser Microscope C2 and analyzed by NIS-Elements software package (Nikon Corporation, Japan), after exciting the samples with a laser beam at 403 nm, while DL analyses were carried out at an EnSight™ Multimode Plate Reader (Perkin Elmer, USA), after exciting the samples with a xenon flash light source. Additionally, the performance of the imaging reader Cytation™ 3 (BioTek Instruments, Inc, USA) was investigated for total fluorescence output.

In this communication we report a summary of our screening of images and DL curves obtained from several biological samples: seeds, ham and vegetables. Significant and reproducible differences can be detected in DL decay curves among samples, showing the potential of this non-invasive technique to assess food quality and freshness of a variety of samples.

¹Scordino, A. et al., Analogous features of delayed luminescence from *Acetabularia acetabulum* and some solid-state systems. *J.Photochem. Photobiol. B: Biol.* **2000**, *56*, 181–186.

²Brizhik, L. et al., Delayed luminescence of biological systems arising from correlated many-soliton states. *Phys. Rev.* **2001**, *E 64* (3), 03190.

³Popp, F.A., and Yan, Y. Delayed luminescence of biological systems in terms of coherent states. *Phys. Lett. A.* **2002**, *293*, 93–97.

⁴Triglia, A. et al., Delayed luminescence as an indicator of tomato fruit quality, *J.Food Sci.* **1998**, *63*, 512–515.

⁵Lanzanò, L. et al., Time-resolved spectral measurements of delayed luminescence from a single soybean seed: effects of thermal damage and correlation with germination performance. *Luminescence.* **2009**, *24*, 409–415.

INCLUSIÓN DE LA MACROALGA *Ulva ohnoi* EN PIENSOS PARA LENGUADO SENEGALÉS: EFECTOS SOBRE LA FISIOLOGÍA DIGESTIVA

Y. Chourak^a, A. Galafat^a, A. J. Vizcaíno^a, M.I. Sáez^a, M. J. Céspedes^a, M. C. Balebona^b, T. F. Martínez^a, C. Fernández-Díaz^c y F. J. Alarcón^a.

^aDepartamento de Biología y Geología, Universidad de Almería, 04120, Almería, España.

^bDepartamento de Microbiología, Universidad de Málaga, 229071, Málaga, España. ^cIFAPA centro El Toruño, 11500, El Puerto de Santa María, Cádiz, España.

e-mail: yasmína.ch.ma@hotmail.com

Las harinas obtenidas a partir de algunas especies de macroalgas se presentan como candidatas interesantes para su uso como ingrediente en la elaboración de piensos para piscicultura. Sin embargo, su potencial de aplicación para su inclusión en dietas formuladas para lenguado senegalés continúa aún en fase de estudio siendo necesario conocer sus efectos como paso previo a su utilización como complemento nutricional o funcional. En este contexto, el presente trabajo evalúa el efecto que ejerce la inclusión de la macroalga *Ulva ohnoi* sobre la funcionalidad intestinal en juveniles de lenguado senegalés. Para el estudio se utilizaron juveniles de lenguado senegalés que fueron distribuidos aleatoriamente en 6 tanques de cultivo, y alimentados durante un periodo de 90 días con dos piensos experimentales; un control (CT) formulado de acuerdo a la composición utilizada para el engorde del lenguado senegalés, y otro suplementado con un 5% de harina de *U. ohnoi* (U-5). Ambos tratamientos fueron ensayados por triplicado. Se tomaron muestras biológicas a los 45 y 90 días de ensayo para determinar las actividades asociadas a la mucosa intestinal (leucina aminopeptidasa y fosfatasa alcalina) en los extractos enzimáticos obtenidos a partir del intestino. Adicionalmente, se tomaron otras muestras de intestino de 0,5 cm de longitud para su análisis morfológico mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Los resultados obtenidos revelaron un incremento significativo en los niveles de actividad fosfatasa alcalina y leucina aminopeptidasa en los peces alimentados con U-5 tras 45 y 90 días de ensayo, respectivamente (Tabla 1). Estos resultados parecen indicar que se produce una mejora en los procesos de digestión y absorción a nivel intestinal. El análisis visual de las imágenes obtenidas mediante SEM confirma la ausencia de alteraciones en la integridad de la mucosa intestinal. El análisis morfológico reveló un incremento significativo ($p < 0,05$) del área apical de los enterocitos en los peces alimentados con U-5 (hasta un 25% superior en valor absoluto respecto al grupo control). A la luz de los resultados, es evidente que la inclusión de un 5% de *U. ohnoi* en el pienso ejerce un efecto positivo que se traduce en un incremento de la superficie de absorción intestinal y una mejora en los procesos de digestión.

Tabla 1. Actividades enzimáticas digestivas (U g de tejido⁻¹) en los extractos intestinales de lenguado senegalés alimentados con los piensos experimentales a los 45 y 90 días de ensayo.

	CT	U-5
<i>45 días</i>		
Leucina aminopeptidasa	0,21 ± 0,05	0,27 ± 0,07
Fosfatasa alcalina	8,77 ± 1,08 a	14,2 ± 2,01 b
<i>90 días</i>		
Leucina aminopeptidasa	0,15 ± 0,01 a	0,22 ± 0,01 b
Fosfatasa alcalina	11,99 ± 2,44	14,29 ± 2,31

Valores expresados como media ± SD (n=6). Los valores en la misma fila con distinta letra en minúscula indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).

Agradecimientos: Parte de la investigación ha sido financiada por los proyectos INIA (RTA2014-00023-C02-02), los fondos FEDER, y el proyecto europeo SABANA (# 727874).

CONTINUOUS DISINFECTION OF WWTP SECONDARY EFFLUENTS BY SOLAR PHOTO-FENTON PROCESS

I. de la Obra, B. Esteban García, J. L. Casas López, J. A. Sánchez Pérez

Solar Energy Research Centre (CIESOL), Ctra de Sacramento s/n, ES04120, Almería, Spain.
irene.delaobra@ual.es

The solar photo-Fenton process in continuous mode at acidic pH as a treatment to degrade wastewater microcontaminants was published in 2017 by Arzate et al.¹ In this work, in order to evaluate the disinfection of a real secondary effluent from a wastewater treatment plant, the solar photo-Fenton process in continuous mode at neutral pH was studied. The concentration of total coliforms (TC), *Escherichia coli* and *Enterococcus* sp. were monitored as faecal contamination models in wastewater. Firstly, three different hydraulic residence times (HRTs) were tested to establish the best operational conditions. The assays were carried out in a solar simulator at 30 W/m² of UVA in a 5 cm-deep cylindrical reactor. The successful results obtained demonstrated that effluent disinfection in continuous mode by solar photo-Fenton is possible. Total inactivation of the three microbiological groups studied was achieved at steady state in 60 and 30 min of HRTs tested.

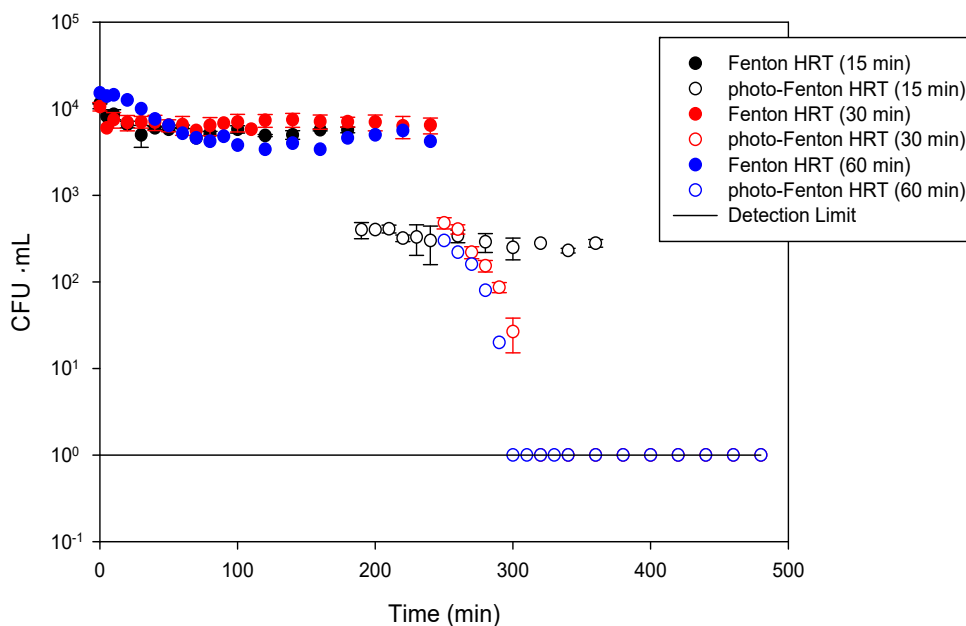


Figure 1. *E. coli* inactivation during Fenton and photo-Fenton process at three different HRTs at 30 W/m² and 25°C.

Acknowledgements: This research was supported by the Andalusian Regional Government (P12-RNM-1437); and the European Regional Development Fund (ERDF). I. de la Obra and B. Esteban García would like to acknowledge the Andalusian Regional Government for their grants.

¹ Arzate, S., García Sánchez, J.L., Soriano-Molina, P., Casas López, J.L., Campos-Mañas, M.C., Agüera, A., Sánchez Pérez, J.A., *Chemical Engineering Journal*, **2017**, 316, 1114-1121.

COMPARISON OF DISINFECTION PROCESS OF WWTP SECONDARY EFFLUENTS BY SOLAR PHOTO-FENTON IN COMPOUND PARABOLIC COLLECTORS AND OPEN REACTORS AT NEUTRAL pH

B. Esteban-García^{a,b}, G. Rivas ^{a,b}, S. Arzate ^{a,b}, J.A. Sánchez-Pérez^{a,b}

(a)Solar Energy Research Centre (CIESOL), Ctra de Sacramento s/n, ES04120, Almería, Spain.

(b)Chemical Engineering Department, University of Almería, Ctra de Sacramento s/n, ES04120, Almería, Spain. jsanchez@ual.es

Microbiological quality of irrigation water for agriculture is usually established by international and local guidelines in order to minimize and environmental impacts and health risks. Chlorination and ozonation are the most conventional method used to inactivate pathogenic microorganisms in wastewater, however its use increases the toxicity of treated effluents due to the generation of disinfection toxic by products¹. For this reasons, solar photo-Fenton process was studied as disinfection method in real effluents from urban wastewater treatment plants (WWTP) at neutral pH obtaining a total bacterial inactivation around 60 min in tubular reactors provided with compound parabolic collectors (CPC)². Its efficiency is based on the production of non-selective and highly oxidizing hydroxyl radicals (HO•) by reaction between iron and hydrogen peroxide under UV-vis radiation. A new alternative is proposed using raceway pond reactors (RPRs). Nowadays, these reactors are used for micropollutant removal in secondary effluents using solar photo-Fenton with successful results³. Accordingly, the aim of this study was to evaluate the disinfection of a real secondary effluent of a municipal WWTP by the solar photo-Fenton process at neutral pH in RPRs. Experiments were carried out in CPC and RPRs simultaneously, for comparison purpose. The concentration of total coliform (TC), *Escherichia coli* and *Enterococcus* was monitored as faecal contamination models in wastewater since these microorganisms represent a wide number of pathogenic bacteria. Results demonstrated, the first time, the feasibility and efficiency of using a RPR for inactivation of bacteria selected by solar photo-Fenton at neutral pH with 20 mg Fe/L and 50 mg H₂O₂/L in 80 min. Thus, the disinfection process was similar in CPC and the bacterial inactivation profiles in these reactor agree with the data published in previous studies². In addition, the cost calculated for this treatment in RPR was 0.15 €/m³. This price is very competitive due to it is the range of agricultural irrigation in Spain (≈0.6 €/m³), therefore it would significantly help to spread the solar photo-Fenton process as tertiary treatment. Additionally as the treatment did not increase effluent toxicity, the health and environmental risks associated with its reuse would be reduced. Therefore, the disinfection process was similar in CPC and the bacterial inactivation profiles in these reactor agree with the data published in previous studies². In addition, the cost calculated for this treatment in RPR was 0.15 €/m³. This price is very competitive due to it is the range of agricultural irrigation in Spain (≈0.6 €/m³), therefore it would significantly help to spread the solar photo-Fenton process as tertiary treatment. Additionally as the treatment did not increase effluent toxicity, the health and environmental risks associated with its reuse would be reduced.

Acknowledgements. This research was supported by the Ministry of Economy and Competitiveness (Government of Spain) and the European Regional Development Fund (ERDF), project CTQ2016-78255-R. B. Esteban García would like to acknowledge the Andalusian Regional Government for her PhD position.

¹ K.Y. Park, S.Y. Choi, S.H. Lee, J.H. Kweon, J.H. Song. *Environmental Pollution* 215 (2016) 314-321.

² E. Ortega, B. Esteban, M.M. Ballesteros, P. Fernández, J.A. Sánchez Pérez. *Water Research* 63 (2014) 316-324.

³ De la Obra, L. Ponce-Robles, S. Miralles, I. Oller, S. Malato, J.A. Sánchez-Pérez. *Catal. Today* 287 (2017) 10-14.

HIDRÓLISIS *in vitro* DE LA PROTEÍNA DE *Arthrospira platensis* POR LAS PROTEASAS DIGESTIVAS DE DORADA

A. Galafat, A. J. Vizcaíno, M. I. Sáez, Y. Chourak, M. J. Céspedes, T. F. Martínez y F. J. Alarcón

*Departamento de Biología y Geología. Universidad de Almería, 04120, Almería.
E-mail: albagalafat@gmail.com*

Arthrospira platensis representa un ingrediente proteico de interés para su uso en la elaboración de piensos. También podría ser un elemento clave para reducir la dependencia de la harina de pescado en la alimentación de especies acuícolas, y/o como aditivo funcional para mejorar el estado de condición general de los animales. La biomasa de *A. platensis* puede utilizarse como tal pero recientemente se ha suscitado un cierto interés en su uso en formato hidrolizado, ya que de este modo permite incrementar la biodisponibilidad de sus nutrientes. Sin embargo, poco se conoce acerca de cómo las enzimas digestivas de los peces hidrolizan la proteína de este potencial ingrediente alternativo. En este sentido, el presente trabajo evalúa la hidrólisis *in vitro* de la proteína de esta cianobacteria, en formato de biomasa cruda (CRU) o en formato de biomasa hidrolizada (HID), por las proteasas digestivas de dorada. Para ello, se llevaron a cabo dos ensayos de simulación digestiva *in vitro*, uno para la fase intestinal, y otro para la fase gástrica seguida de la intestinal. Brevemente, la fase intestinal se simuló adicionando a una solución tamponada de microalgas (8 mg ml⁻¹ de proteína en tampón Tris-HCl 0,1M pH 9,0) un volumen de extracto intestinal con 200 unidades de actividad (UA) proteasa alcalina, y para la fase gástrica seguida de la intestinal se incluyó una fase ácida previa incubando las microalgas en presencia de 1000 UA de actividad proteasa ácida procedente de un extracto estomacal en tampón citrato-HCl 0,1M a pH 2,0. Durante el ensayo de simulación digestiva se tomaron muestras a diferentes tiempos para realizar el seguimiento de la hidrólisis proteica por electroforesis SDS-PAGE y densitometría (Alarcón *et al.* 2002). Adicionalmente se cuantificaron los aminoácidos liberados durante el transcurso de la hidrólisis (Church *et al.* 1983). Los resultados mostraron una hidrólisis progresiva de las bandas proteicas tanto en la microalga cruda y como en el preparado hidrolizado (Figura 1). En ambos casos, la combinación de la fase gástrica seguida de la intestinal incrementó la hidrólisis de la proteína (hasta un 30% más de aminoácidos liberados) respecto a cuando solo se simuló la fase de digestión intestinal. Para concluir, los resultados obtenidos confirman que tanto la biomasa cruda como el hidrolizado comercial pueden ser utilizados como ingredientes proteicos en la alimentación de la dorada.

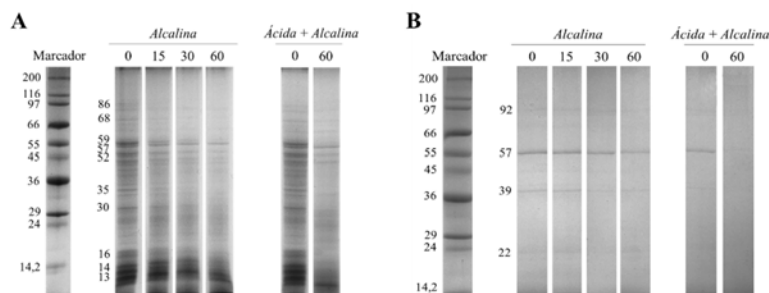


Figura 1. Evolución de la hidrólisis de la proteína de la biomasa cruda, CRU (A) y del hidrolizado, HID (B) por las proteasas digestivas de dorada (en cada carril se indica el tiempo en minutos).

Agradecimientos: Investigación financiada por el proyecto europeo SABANA (grant # 727874). Las biomasas de *A. platensis* fueron proporcionadas por Biorizon Biotech SL (Almería, España).

INCLUSIÓN DE UN HIDROLIZADO DE MICROALGAS EN PIENSOS PARA JUVENILES DE DORADA: EFECTOS SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA FUNCIONALIDAD INTESTINAL

A. Galafat^a, B. Francesca^b, A. J. Vizcaíno^a, M. I. Sáez^a, Y. Chourak^a, A. Oshiro^c, M. J. Céspedes^a, T. F. Martínez^a, I. Jeréz^b, J. M. Mancera^b y F. J. Alarcón^a

^aDepartamento de Biología y Geología, Universidad de Almería, 04120, Almería.

^bDepartamento de Biología, Universidad de Cádiz, 11510, Puerto Real, Cádiz. ^cUniversidad Estadual Paulista-UNESP, Dracena. E-mail: albagalafat@gmail.com

La existencia de moléculas de bajo peso molecular, y de aminoácidos biodisponibles hacen de los hidrolizados de proteína un aditivo de interés para su utilización en piensos para acuicultura. En este sentido, los hidrolizados de microalgas se presentan como un potencial aditivo para optimizar la nutrición de los peces cultivados, proporcionando preparaciones ricas en compuestos bioactivos de fácil absorción y utilización por los animales. Dadas estas consideraciones, el objetivo de este trabajo fue evaluar si la inclusión de un hidrolizado de *Arthrospira platensis* en el pienso ejerce efectos sobre el crecimiento y la funcionalidad digestiva en juveniles de dorada. Para ello, 180 juveniles de dorada fueron repartidos al azar en 9 tanques y alimentados con 3 piensos isoproteicos e isolipídicos que contenían 0, 2 y 4 % de un hidrolizado de *A. platensis* (CONTROL, SPI-2 y SPI-4, respectivamente) durante un periodo de 128 días. Todos los tratamientos se ensayaron por triplicado. Quincenalmente, se registró el peso y la longitud de los peces para la determinación de distintos parámetros zootécnicos. Al final del ensayo los peces fueron sacrificados y sus intestinos procesados para cuantificar los niveles de actividad de distintas enzimas digestivas y para visualizar la mucosa intestinal mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) y de barrido (SEM). Los resultados mostraron que la incorporación de hasta un 4 % del hidrolizado no ejerció efectos negativos sobre el crecimiento y el aprovechamiento nutritivo. Se observó un incremento significativo en los niveles de actividad leucina aminopeptidasa, tripsina y quimotripsina en SPI-2 y SPI-4. El análisis de las imágenes TEM y SEM confirmó la ausencia de alteraciones en la mucosa, apareciendo un notable incremento de la longitud y el diámetro de las vellosidades, así como un aumento de la superficie total de absorción por enterocito en los individuos SPI-4 (Figura 1). A la luz de los resultados, es evidente que la inclusión de un hidrolizado de *A. platensis* induce un incremento en la capacidad de absorción a nivel intestinal, y una mejora significativa en la integridad física la mucosa intestinal y en su capacidad para absorber nutrientes en los juveniles de dorada.

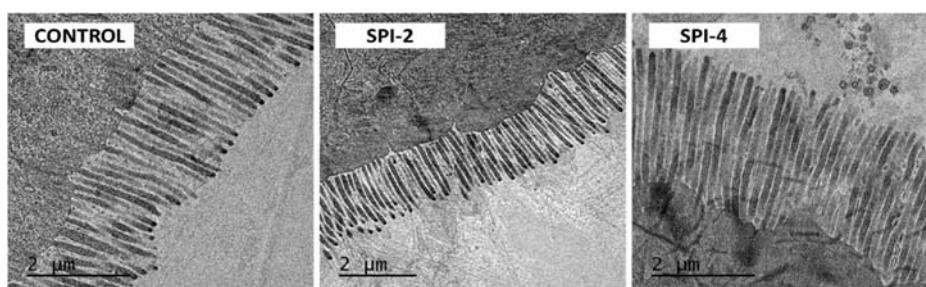


Figura 1. Detalle de las microvellosidades intestinales de los ejemplares de dorada al final del ensayo de alimentación. Escala: 2 µm.

Agradecimientos. Esta investigación ha sido financiada por el proyecto SABANA (grant # 727874) del Programa de Investigación e Innovación Horizonte 2020 de la Unión Europea.

CARACTERIZACIÓN DE DOS CEPAS DE *AMPHIDIINIUM CARTERAE*. MEJORA EN LA EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS

M. López-Rodríguez, M. C. Cerón-García, L. López-Rosales, C. V. González-López, A. Molina-Miras, A. Ramírez-González, F. García-Camacho, E. Molina-Grima

Área de Ingeniería Química, Departamento de ingeniería, Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Almería, E04120 Almería (Spain); mlr908@ual.es

El interés por el cultivo de microalgas dinoflageladas ha crecido en los últimos años por ser productores de una gran variedad de compuestos bioactivos de interés comercial, biomédico y farmacológico. Algunos de ellos como los anfidinóles y anfidinólidos destacan por su actividad anticancerígena, otros como los ácidos grasos poliinsaturados son utilizados como suplementos alimenticios, o los carotenoides (peridinina, dinoxantina, diadinoxantina, diatoxantina, β -caroteno, entre otros) sobresalen por su actividad antioxidante e inmunomoduladora. La selección del procedimiento de recuperación simultánea, y con escasa degradación, de muchos de estos tipos de metabolitos, existentes en una misma biomasa, depende de la especie cultivada, de la composición bioquímica de la misma y del orden de importancia de los metabolitos de interés seleccionados.

Este trabajo presenta la caracterización previa de la biomasa procedente de dos cepas de *Amphidinium carterae* (ACRN03 y PM); desde la composición bioquímica, optimización de la rotura celular y optimización de la extracción de compuestos bioactivos. El proceso parte de una rotura celular a través de diversos métodos para carotenoides y ácidos grasos (ultrasonidos, molturación con molino de bolas, molturación con y sin alúmina). Para el estudio de la saponificación alcalina (0%-60% KOH p.s) se evaluó el contenido en carotenoides a varias temperaturas (25°C-80°C) en una solución monofásica tricomponente etanol:hexano:agua, (76:18:6). Los resultados mostraron que las condiciones óptimas de extracción dependían de las condiciones de cultivo de cada cepa y el compuesto. En ambas cepas los mayores porcentajes de carotenoides se obtuvieron sin rotura celular y una temperatura de 60°C a partir de la cual se produce una degradación de carotenoides. Por el contrario el mayor porcentaje de ácidos grasos se obtuvo con molturación con alúmina. La concentración de potasa influye en algunas xantofilas. Para la cepa ACRN03 el valor máximo de carotenoides aparece al 40% KOH con 0.761% p.s, mientras que en la cepa PM el mayor porcentaje se obtiene al 0% de KOH con 1.09% p.s. También se ensayaron disolventes con diferente polaridad, entre ellos hexano:etanol (70:30) y acetona:agua (97.2:2.5) con un porcentaje de extracción de 1.54% p.s y 1.57% p.s respectivamente. A raíz de los resultados, se ensayaron dos nuevas combinaciones de disolventes, acetona:agua (99:1 v/v) y acetona:hexano (70:30 v/v), con porcentajes de extracción ligeramente superiores a los citados anteriormente (1.71% p.s y 1.68% p.s respectivamente). Por lo tanto, para optimizar un método general es importante las condiciones de cultivo y establecer un buen sistema de extracción con disolventes orgánicos en base a la polaridad de los compuestos de interés que permita un máximo de extracción.

Agradecimientos. Ministerio de Economía y Competitividad (CTQ2014-55888-C3-02) y Fondos del Programa Europeo de Desarrollo Regional.

INFLUENCIA DE LA RELACIÓN N:P EN LA PRODUCTIVIDAD DE BIOMASA Y COMPOSICIÓN DE CAROTENOIDES DE *HETEROCHLORELLA LUTEOVIRIDIS*

T. Menegol, M. C. Cerón-García, L. López-Rosáles, R. Rech, E. Rodrigues, F. García-Camacho and E. Molina-Grima

Departamento de Ciencia de los Alimentos, Área Ciencia e Tecnología de los Alimentos, Universidad Federal do Rio Grande do Sul - Brazil

Departamento de Ingeniería, Área de Ingeniería Química, Facultad de Ciencia Experimentales, Universidad de Almería, E04120 Almería (España);tmenegol@hotmail.com

Los carotenoides son pigmentos que durante décadas vienen ocupando un lugar relevante en la Industria Alimentaria por los diferentes efectos beneficiosos reportados, tanto para la salud humana como animal. Dado el creciente rechazo social por los carotenoides de origen sintético, los carotenoides naturales obtenidos de fuentes renovables y respetuosas con el medioambiente como las microalgas han ganado un fuerte protagonismo en el mercado mundial durante los últimos años. A pesar de las muchas características atractivas de las microalgas, la optimización de la producción de biomasa y sus metabolitos es una etapa imprescindible del bioproceso, ya que su composición es modulada por diferentes condiciones de crecimiento. Entre los principales factores que gobiernan el metabolismo microalgal está la formulación del medio de cultivo. En particular, la proporción entre los dos principales macronutrientes (nitrógeno y fósforo) es responsable de cambios sustanciales en la producción de biomasa y compuestos de interés.

El objetivo de este estudio fue analizar la influencia de la relación N:P inicial del medio de cultivo sobre el crecimiento de la microalga *Heterochlorella luteoviridis*. Los experimentos se realizaron en matraces esféricos de 1 L de capacidad, utilizado como medio base de cultivo el medio F/2 modificado. Se realizaron experimentos fijando la concentración del N-NO₃⁻ en 7423 μM (concentración probada previamente en experimentos en modo *batch* en lo Brasil con N: P de 46) y variando la de P-PO₄ para obtener las relaciones molares N:P de 46, 33, 23 y 11. La temperatura se mantuvo a 25 °C. La iluminación continua se fijó en 50μEm⁻²s⁻¹. El seguimiento del crecimiento de la biomasa fue realizado diariamente por densidad óptica a 750 nm. Nitrógeno y fósforo se determinaron por espectrofotometría. La concentración más alta de biomasa (1,12gL⁻¹) y de productividad (0,071gL⁻¹d⁻¹) se alcanzaron a la relación N:P de 11, siendo la productividad un 37 % mayor en relación a la alcanzada para N:P de 46.

Los carotenoides fueron extraídos por saponificación alcalina de la biomasa con una solución monofásica tricomponente compuesta por EtOH:hexano:H₂O (76:18:6 v/v). El mejor rendimiento (1,21 % sobre peso seco de biomasa) se obtuvo a la temperatura de 60 °C y una proporción de KOH del 10%. Concentración de KOH por encima del 10% causaron degradación en los pigmentos.

Agradecimientos: Esta investigación ha sido financiada por el Ministerio de Economía y Competitividad de España (Ref. N° CTQ2013-46552-R), y por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional. También ha sido financiada por La CAPES (Coordinación de Perfeccionamiento de Personas de Nivel Superior) de Brazil.

A PILOT-SCALE BIOPROCESS TO PRODUCE AMPHIDINOLS FROM THE MARINE MICROALGA *AMPHIDIINIUM CARTERAE*: ISOLATION OF A NOVEL ANALOGUE

**A. Molina-Miras¹, A. Morales-Amador², C. R. de Vera², L. López-Rosales¹,
A. Sánchez-Mirón¹, M. L. Souto², J. J. Fernández², F. García-Camacho¹,
E. Molina-Grima¹**

¹Chemical Engineering Area, University of Almería, 04120 Almería (Spain); amm657@ual.es

²Instituto Universitario de Bio-Orgánica Antonio González (IUBO AG), Centro de Investigaciones Biomédicas de Canarias (CIBICAN), Universidad de La Laguna (ULL), Avenida Astrofísico Sánchez 2, 38206, Tenerife (Spain)

Marine dinoflagellate microalgae belonging to the genus *Amphidinium* are a key source of an interesting group of polyketide metabolites with overwhelming bioactivities, wide-ranging functional diversity and stereochemical complexity, but low natural availabilities. The feasibility of a microalgae dinoflagellate-based sustainable bioprocess for producing amphidinols (APDNs) by photoautotrophic culture of *Amphidinium carterae* in a pilot-scale LED-illuminated bubble column photobioreactor (PBR) was therefore investigated. A fed-batch culture mode with pulse feeding strategy provided a growth pattern strongly controlled by the phosphate content in the culture medium, compatible with an overproduction of cellular APDNs. Since *A. carterae* was found to be much more shear-sensitive than other shear-tolerant non-dinoflagellate microalgae, the culture height and air flow rate were established to ensure the absence of damaging levels of hydrodynamic stress. The biomass capacity yielded by the PBR at the end of the culture (0.540 g d.w. L⁻¹ equivalent to 1.70×10^6 cell mL⁻¹) corresponded to that estimated stoichiometrically from the experimentally determined biomass P-molar formula (C₃₂₉ O₁₂₆ H₇₃₂ N₆₉ S₃ P₁) and the total phosphorus and nitrogen balances.

The downstream processing section was initially conceived to recover APDNs excreted by cells into the supernatant. A dry APDN-enriched extract concentration of 49 mg per liter of supernatant was obtained. This purification process led to partitioning of the extract into several fractions and sub-fractions thereof. Only two sub-fractions were studied, yielding thereof highly pure (>95% pure) luteophanol D and lingshuiol A, and a new, roughly purified (>80% pure) APDN, namely amphidinol 20. The percentages of luteophanol D, lingshuiol A and amphidinol 20 by dry weight of the APDN-enriched extract obtained were 1%, 0.39% and 0.31%, respectively, thus representing a concentration in the culture supernatant of 490, 191 and 152 µg L⁻¹, respectively.

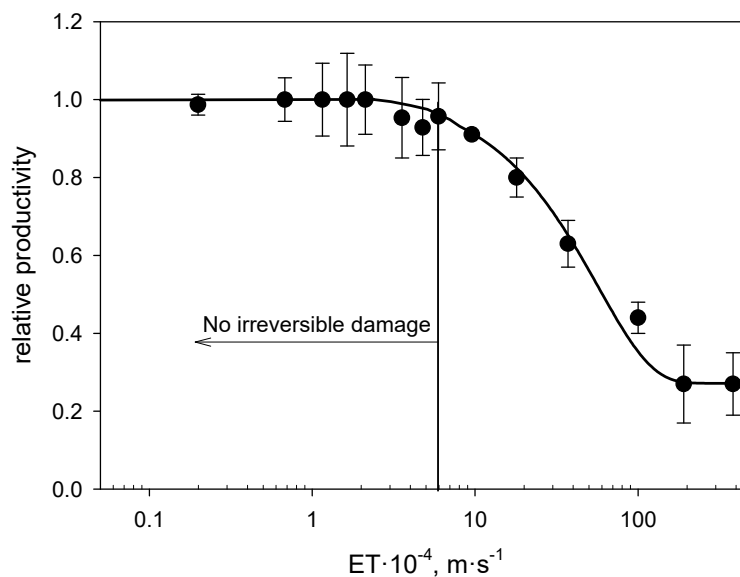
Acknowledgements. This research was funded by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (CTQ2014-55888-C3-01 and CTQ2014-55888-C3-02) and the European Regional Development Fund Program. A.M.-A and C.R.V. acknowledge MINECO for PhD scholarships. The microalgae *Amphidinium carterae* ACRN03 was kindly donated by Dr. S. Fraga (Culture Collection of Harmful Microalgae of IEO, Vigo, Spain).

CFD-AIDED OPTIMIZATION OF A LABORATORY-SCALE CENTRIFUGATION FOR A SHEAR-SENSITIVE INSECT CELL LINE

A. Molina-Miras, A. Sánchez-Mirón, F. García-Camacho and E. Molina-Grima

*Chemical Engineering Area,
University of Almería,
04120 Almería (Spain); amm657@ual.es*

A study has been conducted to assess cell damage during centrifugation and to optimize this operation for the insect cell line Se301. Experiments were carried out in a discontinuous centrifuge using Falcon tubes of different sizes as containers. The cells were easily recovered from the cell suspension and the time required for complete sedimentation was found to be independent of tube size or design. Cell damage was observed once the cells were sedimented, therefore this process depends on both the residence time of the cells in the pellet and on the acceleration applied. The sensitivity of the cells to this operation was higher than for other naked microalgae or for very sensitive red blood cells. Indeed, excessive treatment produced irreversible cell damage that reduced the productivity of subsequent cultures. CFD simulations were carried out in 2D and a good agreement was found between the CFD and experimental values in terms of the time required for full sedimentation. In addition, this technique allowed the calculation of shear stress, a key variable in the study of cell sensitivity to flow.



Influence of the excess of treatment (ET) on culture productivity relative to a control culture with no prior centrifugation. Centrifugation performed in the F15 Tube with a suspension height (h) of 22 mm. Culture assays performed in shake flasks with a culture volume of 5 mL. The vertical line indicates the ET value at which the cells cannot recover from the damage suffered (lethal cell damage). Data points are averages, and vertical bars are difference between duplicate samples. When bar is absent, the difference is smaller than the point.

Acknowledgements. The authors are grateful for financial support from the Junta de Andalucía (Spain; P11-TEP-7737).

SEARCHING FOR AN EXTRACTION METHOD TO OBTAIN BIOSTIMULANTS FROM MICROALGAE

**E. Navarro-López, M. C. Cerón-García, F. Suárez-Estrella, F. G. Ación-Fernández
and E. Molina-Grima**

*Department of Engineering, Area of Chemical Engineering
Faculty of Experimental Sciences,
University of Almería,
E04120 Almería (Spain); nle877@ual.es*

The regulation of plant growth and the reduction of the negative effects of environmental stresses are factors of great importance to enhance the productivity of the cultivated plants. It has been widely report that the biotic and abiotic stress could be prevented or almost alleviate by optimizing the plant growth conditions and enhancing the provision of water, nutrients and plant growth regulators (PGRs) that include several metabolites as giberellins, cytoquinin or auxins among others. In addition, plant polyphenols (mainly phenolics acids and flavonoids) have been largely studied due to their bio-physicochemical properties and their capacity to defense the plant against the ultraviolet radiation or the aggression by phatogens. For these reasons, plant biostimulants obtained by natural materials as the microalgal biomass, have received considerable attention in the last two decades.

The aim of this work was therefore to carry out the extraction of several compounds of interest for the agricultural application from the wet microalgal biomass of *Scenedesmus Almeriensis* by using different extraction solvent system. To compare each condition bioassays were carried out in order to observe the effect of the extracts obtained in the germination index of lettuce and watercress seeds. Moreover, as it is widely report, phenolics compounds are implicated in the biostimulant activity that show the microalgae biomass so spectrophotometric methods for the quantification of total phenols¹ and flavonoids² and High Performance Liquid Chromatography (HPLC)³ are used for their identification and quantification in order to relate the positive effect of the extracts through the bioassays with the quantification of any compound of interest. The extraction process was optimized taking into account the following conditions: extraction solvent type, the solvent/g DB ratio (0-30 ml solvent/g DB), temperature (25-50°C) and extraction time (0-6 hours). The higher germination indexes were obtained with 2 ml water/g DB, 25°C and 2 hours and with 4 ml ethanol/g DB, 30°C and 2 hours of extraction time.

Acknowledgements. This research was supported by the European Unions Horizon 2020 Research and Innovation program under the Grant Agreement No. 727874 SABANA.

¹ P.G. Waterman, S. Mole, Why are phenolic compounds so important? In analysis of phenolic plant metabolites. Methods in ecology; Blackwell Scientific Publications: Oxford, **1994**;pp 44-65.

² D. Heimler, P. Vignolini, M.G. Dini, A. Romani, Rapid tests to asses the ntioxidant activity of Phaseolus vulgaris L. Dru beans. *J. Agr. Food. Chem.* **2005**, 53, 3053-3056.

³ V. Nour, I. Trandafir, S. Cosmulescu, *J. Chrom. Scie.* **2013**, 51, 883-890.

EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS POLARES DE MICROALGAS PARA OBTENER CONCENTRADOS EN PUFAs N-3

S. Orta, E. Navarro, T. Rondet, Y. Soriano y A. Robles

*Departamento de Ingeniería, Área de Ingeniería Química
Facultad de Ciencias Experimentales,
Universidad de Almería,
E04120 Almería (España); sog687@ual.es*

Los beneficios para la salud de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga omega-3 (PUFAs n-3), especialmente en los casos de DHA y EPA, son bastante conocidos. Algunos de estos beneficios son la capacidad de estos ácidos para reducir el riesgo de padecer enfermedades cardíacas o reducir la hipertensión. El EPA y el DHA también juegan un papel importante en disminuir los niveles de triglicéridos y aumentar los de HDL (colesterol bueno) y tienen un efecto positivo en la incidencia de accidentes cerebrovasculares y artritis reumatoide, entre otros.

Las principales materias primas para obtener concentrados de PUFAs n-3 son los aceites de pescado y de krill, debido a que el ecosistema marino se caracteriza por los altos niveles de EPA y DHA que se originan en las microalgas (fitoplancton). Sin embargo, la sobreexplotación de los recursos pesqueros ha conducido a un descenso mundial de las poblaciones de peces. Además, los aceites de pescado pueden contener contaminantes. Por estas razones, se hace necesaria la búsqueda de otras materias primas que sustituyan a estos aceites, y en este sentido, las microalgas parecen ser una alternativa prometedora. Las microalgas son microorganismos unicelulares que poseen altos contenidos de EPA o DHA, especialmente en la fracción de lípidos polares, y en comparación con las materias primas tradicionales, las microalgas pueden cultivarse en condiciones controladas (sin contaminantes), presentan una alta eficiencia fotosintética y altas productividades de biomasa y velocidades de crecimiento. Los lípidos de microalgas presentan menores niveles de colesterol que los presentes en aceites de pescado, y perfiles de ácidos grasos más sencillos con concentraciones de EPA o DHA más altas.

Es conocido que los lípidos polares (fosfolípidos y glucolípidos) de microalgas son muy ricos en los ácidos grasos n-3 EPA y DHA, y además distintos trabajos han confirmado que estos ácidos se absorben mejor en el organismo cuando se suministran como lípidos polares.

El objetivo principal de este trabajo es llevar a cabo la extracción de lípidos polares a partir de biomasa de la microalga *Nannochloropsis gaditana* mediante el uso de diferentes disolventes orgánicos de baja toxicidad. Se han ensayado los disolventes: etanol (96% v/v), hexano, acetona, diclorometano y metanol. Se ha estudiado la influencia de las principales variables de operación sobre el rendimiento de extracción de lípidos y la pureza de los mismos. Estas variables son el tiempo de extracción y la relación volumen de disolvente/masa de biomasa seca (BS). Con los resultados obtenidos hasta ahora se ha observado que el etanol (96 % vol.) es el mejor disolvente para extraer los lípidos microalgales, ya que se ha alcanzado un rendimiento de extracción de lípidos del 85% para unas condiciones de operación de 10 horas a temperatura ambiente y utilizando 30 ml de etanol/g de BS. Los siguientes pasos a realizar en este trabajo serán llevar a cabo fraccionamientos lipídicos para conocer el contenido en lípidos polares de los extractos y el estudio de procesos de purificación para aumentar la concentración de lípidos polares.

A NOVEL T-DNA MUTANT COLLECTION IN COMMERCIAL BACKGROUNDS OF TOMATO

**F. Pérez-Martín¹, F. J. Yuste-Lisbona¹, B. Pineda², M. P. Angarita-Díaz²,
B. García-Sogo², T. Antón², S. Sánchez², E. Giménez¹, A. Atarés²,
A. Fernández-Lozano¹, A. Ortiz-Atienza¹, M. García-Alcázar¹, L. Castañeda¹,
R. Fonseca¹, C. Capel¹, M. Jáquez², J. Sánchez², J. L. Quispe¹, S. Bretones¹,
J. Capel¹, T. Angosto¹, V. Moreno² and R. Lozano¹**

¹ *Centro de Investigación en Biotecnología Agroalimentaria (BITAL). Universidad de Almería, E04120 Almería, (Spain); fpmartin@ual.es*

² *Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (UPV-CSIC), Universidad Politécnica de Valencia. E46022 Valencia, (Spain).*

In the era of the genome sequencing projects, gene functional assignment is a complex task still unfinished. Mutational analysis is one of the most efficient methods to isolate and understand gene functions. In particular, T-DNA collections allow for an easy and straightforward identification of the tagged gene, serving as the basis of both forward and reverse genetic strategies¹. In this work, we report the phenotypic and molecular characterization of an enhancer trap T-DNA collection generated from two commercial cultivars backgrounds of tomato (*Solanum lycopersicum* L.), i.e. Moneymaker and P73. More than 7800 T0 lines were generated using the pD991 binary vector. A total of 4189 T0 lines and 1858 T1 families were screened under greenhouse conditions, allowing the isolation of 522 mutants (205 dominants, 274 recessives and 43 that do not follow strict Mendelian inheritance), which were affected in plant growth and/or reproductive development. Southern blot analysis showed an average number of 2.01 ± 0.9 T-DNA insertions per T-DNA mutant. Cloning of T-DNA flanking sequences revealed that 37.7% of insertions were located in either the coding or the promoter region of annotated genes. As a proof of concept, we provide a novel gene encoding for a UTP-glucose-1-phosphate uridylyltransferase involved in programmed cell death and leaf development. In addition, new T-DNA alleles of known genes as *LYRATE* and *MACROCALIX* were also isolated, which may lead to further insights into their functions during plant development. Together, results support that our T-DNA mutant collection is a valuable resource for functional genomics in tomato².

¹ P.S. Springer, *Plant Cell* **2000**, 12, 1007–1020.

² F. Pérez-Martín, F.J. Yuste-Lisbona, B. Pineda, M.P. Angarita-Díaz, B. García-Sogo, *et al.*, *Plant. Biotechnol. J.* **2017**, 15, 1439-1452.

MULTI-STEP PROCESS FOR AN INTEGRAL USE OF BIOMASS FROM DINOFLAGELLATE *AMPHIDINIUM CARTERAE*

A. Ramírez-González, M. C. Cerón-García, L. López-Rosales, C. V. González-López, A. Molina-Miras, F. García-Camacho, E. Molina-Grima

Department of Engineering, Area of Chemical Engineering
Faculty of Experimental Sciences,
University of Almería, E04120 Almería (Spain)
aidarami3@gmail.com

Structurally unique families of secondary metabolites (SMs) from marine dinoflagellate microalgae are attracting increasing attention because of their potential uses in biomedical and pharmacological research. However, a dinoflagellate-based sustainable bioprocess aimed to produce SMs should entail a further section of downstream processing focused on obtaining other valuable target microalgal compounds.

In this work, strain of shear-sensitive marine dinoflagellate *Amphidinium carterae* was grown in pilot-scale raceway photobioreactor. Late stationary-phase cultures, where SMs accumulate in cells, were used to establish an integrated methodology aimed to characterize the obtained biomass and to obtain different high-value biochemicals thereof. Analytical techniques for extraction of carotenoids, fatty acids and SMs (i.e. amphidinolides from *A. carterae*) from raw biomass were improved in order to maximize recovery of these compounds. Carotenoids were identified using reverse phase HPLC with diode array detector, fatty acids using gas chromatography and amphidinolides using hemolysis. It is proposed a bioprocess to produce SMs as primary target compounds encompassed a multi-step process to recover carotenoids and fatty acids from waste streams. With the proposed bioprocess, it is aimed to maximize the extraction of bioactive compounds and recover 100% of amphidinolides, 97% of carotenoids and 93% of fatty acids.

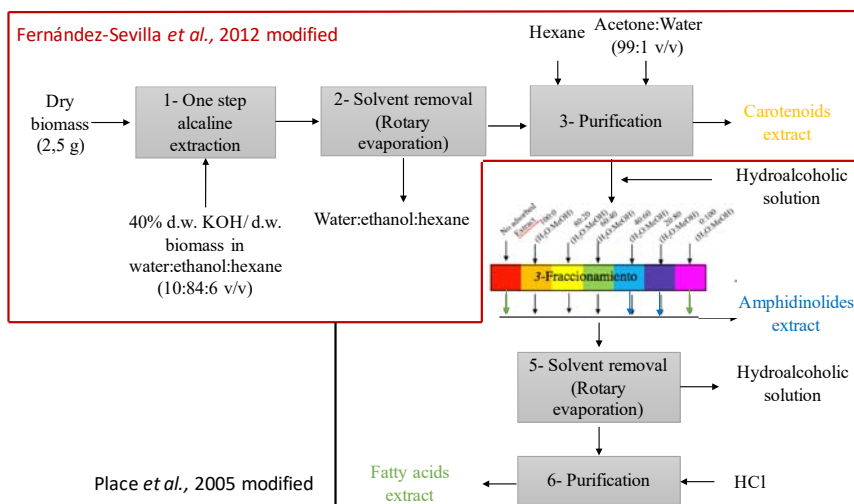


Figure 1. Bioprocess proposed for the extraction of bioactive compounds.

Acknowledgements. This research was funded by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (Project CTQ2014-55888-C3-02), and the European Regional Development Fund Program.

SILICA NANOPARTICLES COATINGS TO OBTAIN ANTIBIOFOULING SURFACES FOR PHOTOBIOREACTORS

J. V. Reinoso Moreno, O. Zeriuoh, M. C. Cerón García, A. Sánchez Mirón, A. Contreras Gómez, F. García Camacho and E. Molina Grima

The Marine Microalgae Research Group (BIO- 173), Department of Engineering, Faculty of Experimental Sciences, University of Almería, E04120 Almería (Spain); rmj519@ual.es

The economic and/or energetic feasibility of processes based on using microalgae biomass requires an efficient cultivation system. In photobioreactors (PBRs), the adhesion of microalgae to the transparent PBR surfaces leads to biofouling and reduces the solar radiation penetrating the PBR. Light reduction within the PBR decreases biomass productivity and, therefore, the photosynthetic efficiency of the cultivation system. Additionally, PBR biofouling leads to a series of further undesirable events including changes in cell pigmentation, culture degradation, and contamination by invasive microorganisms; all of which can result in the cultivation process having to be stopped.

Designing or selecting PBR surfaces with proper physic and chemical properties to prevent microalgal adhesion is essential for solving the biofouling problem. Such a significant advance in microalgal biotechnology would enable extended operational periods at high productivity and reduce maintenance costs. A promising option consists in using silica nanoparticles based coatings. This kind of coatings mimic surface micro-textures existing in kingdom that have shown to be effective against biofouling (e.g. shark skin, marine tortoise or crumble shells).

At this work, two different commercial coatings containing silica nanoparticles have been tested. Their effectiveness was compared against a commercial antifouling paint. These coatings were applied on glass sheets (coupons). It was necessary to develop a procedure in order to obtain coupons with the same amount of nanoparticles applied on their surface. Biofouling assays were performed employing monoseptic cultures of the marine microalgae *Nannochloropsis gaditana*. The coupons assayed were placed in two baskets, and these ones submerged in a flat panel reactor. Culturing conditions (temperature, pH) were controlled. At the other hand, basket position were selected regarding flow dynamics given inside this PBR. Cell density of biofilm developed was estimated from fluorescence intensity measurements which comprehended the entire area of the coupons studied. Previously, it was necessary to set a relationship between these two factors. Only one of these silica coatings exhibited a positive anti-biofouling response (reduction up to 3.66 fold comparing with the coating which exhibited the poorest effectivity, from 0.31 to $1.14 \cdot 10^5$ cells/ mm²).

Acknowledgements. The authors of this work are grateful to the European, Spanish and Andalusian governments which founded the project Microalgae Biotechnology: Antibiofouling surfaces for Microalgae Photobioreactors, CTQ2013-46552-R, to which this work is related.

OBTENCIÓN DE BIODIÉSEL POR HIDRÓLISIS ÁCIDA Y TRANSESTERIFICACIÓN DIRECTA DE *N. GADITANA*

T. Rondet, E. Navarro, S. Orta y A. Robles

*Departamento de Ingeniería, Área de Ingeniería Química
Facultad de Ciencias Experimentales,
Universidad de Almería,
E04120 Almería (España); trh771@inlumine.ual.es*

El cambio climático y el agotamiento de los combustibles fósiles son retos a los que se enfrenta la Humanidad en el siglo XXI. Por ello es imperiosamente necesario el desarrollo de nuevos combustibles no contaminantes. En este sentido las microalgas son una alternativa prometedora, pues son organismos fijadores del dióxido de carbono con relativamente altos contenidos en lípidos saponificables transformables en biodiésel.

El biodiésel es una mezcla de ésteres monoalquílicos de cadena larga derivados de aceites vegetales o grasas animales, y en el caso de este trabajo, del aceite contenido en la microalga *Nannochloropsis gaditana*. El biodiésel es un combustible neutro con respecto a las emisiones de dióxido de carbono, no tóxico, biodegradable y de uso directo en los motores diesel.¹ Estas propiedades lo convierten en un sustituto ideal del gasóleo mineral.

En este trabajo se han analizado los métodos de producción de biodiésel desarrollados por el grupo de investigación de Microalgas Marinas de la Universidad de Almería^{2,3,4} para reducir el costo energético ligado a la producción de biodiésel. Con este objetivo se han realizado tratamientos químicos a la biomasa previos a la reacción de transesterificación, por la que los lípidos saponificables se convierten en ésteres metílicos.

En este sentido se ha estudiado cómo afecta a la velocidad de transesterificación y al rendimiento final en ésteres metílicos el pretratamiento de la biomasa con concentraciones variables de ácido sulfúrico a distintos tiempos. Se ha observado que cuando se pone en contacto el ácido sulfúrico al 4% en volumen con la biomasa a la concentración del cultivo, pueden obtenerse rendimientos en biodiésel de más del 95% con un ahorro energético del 49% con respecto a los métodos óptimos desarrollados² previamente por el grupo. Asimismo, el coste ligado al uso de máquinas y procesos (tales como la centrifugación o la recuperación de disolventes) se ha reducido gracias a menores requerimientos previos (como la humedad de la biomasa o la temperatura de transesterificación) y a una disminución de las cantidades de disolventes.

¹ Robles-Medina, A., González-Moreno, P.A., Esteban-Cerdán, L., Molina-Grima, E. Biocatalysis: towards ever greener biodiésel production. *Biotechnol. Adv.* 27, 398-408 (2009).

² Macías-Sánchez, M.D., Robles-Medina, A., Hita-Peña, E., Jiménez-Callejón, M.J., Esteban-Cerdán, L., González-Moreno, P.A., Molina-Grima, E. Biodiésel production from wet microalgal biomass by direct transesterification. *Fuel*, 150, 14-20 (2015).

³ Navarro-López, E., Robles-Medina, A., González-Moreno, P.A., Jiménez-Callejón, M.J., Esteban-Cerdán, L., Martín-Valverde, L., Castillo-López, B., Molina-Grima, E. Enzymatic production of biodiésel from *Nannochloropsis gaditana* lipids: influence of operational variables and polar lipid content. *Bioresour. Technol.* 187, 346-353 (2015)

⁴ Jiménez-Callejón, M.J., Robles-Medina, A., Macías-Sánchez, M.D., Hita-Peña, E., Esteban-Cerdán, L., González-Moreno, P.A., Molina-Grima, E. Extraction of saponifiable lipids from wet microalgae biomass for biodiésel production. *Bioresour. Technol.* 169, 198-205 (2014).

NOVEDOSO MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE LA B-FICOERITRINA A PARTIR DE LA MICROALGA *PORPHYRIDIUM CRUENTUM*

K. Sanabria, C. Gordaliza, T. Mazzuca y M. Ibáñez

*Departamento de Ingeniería, Área de Ingeniería Química
Facultad de Ciencias Experimentales,
Universidad de Almería,
E04120 Almería (España); katherinsanabria@hotmail.com*

La microalga *Porphyridium cruentum* es una fuente potencial de biliproteínas, polisacáridos y ácido araquidónico¹. Dentro de las biliproteínas presentes en esta microalga se encuentra la B-ficoeritrina, un pigmento rojo-rosado, que puede ser utilizado como colorante natural, reactivo químico, complemento dietético, entre otros². La extracción de biliproteínas a partir de microalgas y cianobacterias ha sido estudiada mediante diferentes procesos, dependiendo de la especie de microalga a utilizar. En estos procesos la etapa inicial suele consistir en la ruptura de la pared celular de la microalga ya sea congelando, secando o liofilizando la biomasa fresca. Sin embargo, aplicando la técnica de extracción con glicerol propuesta en este novedoso método se puede obviar el paso de la ruptura celular previo a la extracción, ahorrándose tiempo y equipos y evitándose la degradación que pueda sufrir la proteína por exponerse a agresiones físicas o químicas para la rotura. En este método el glicerol es utilizado como solvente, el cual es ecológico e inocuo para la salud humana. Este disolvente presenta mayores rendimientos de extracción, menor número de etapas y menores requerimientos energéticos que los comúnmente utilizados ya que funciona bien con biomasa seca e incluso con biomasa húmeda.

En este trabajo se muestran los rendimientos de la extracción de B-ficoeritrina y su pureza a partir de la biomasa húmeda de la microalga *Porphyridium cruentum* mediante el uso de glicerol como disolvente, estudiándose la influencia de diferentes parámetros: la temperatura, la agitación y el tiempo de contacto de la biomasa con el glicerol.

¹ Kim, H. M, C. H Oh, y H. J Bae. «Comparison of red microalgae (*Porphyridium cruentum*) culture conditions for bioethanol production.» *Bioresource Technology*, 233, 2017: 44-50.

² Guerrero, M. G., Rodríguez, H., Vargas, M., García-González, M., Campo, J. A. D., Moreno, J., & Rivas, J. 1999. Las microalgas como productoras de pigmentos con interés comercial.

CUANTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD CELULOLÍTICA EN LAS DIFERENTES ETAPAS DEL PROCESO DE COMPOSTAJE

A. Siles, M. J. López y J. Moreno

*Departamento de Biología y Geología, Facultad de Ciencias Experimentales,
Universidad de Almería,
E04120 Almería (España); anasicas@gmail.com*

El compostaje es un proceso de biotransformación aerobia de residuos orgánicos; durante dicho proceso, la microbiota, la cual tiene un papel muy activo en la transformación, varía en función de la etapa en la que se encuentre, ya que varían tanto las condiciones ambientales como nutricionales.

La mayoría de estos microorganismos pueden sintetizar enzimas hidrolíticas capaces de despolimerizar los componentes orgánicos existentes en la materia prima empleada para el proceso de compostaje. Algunas de estas enzimas son: amilasa, pectinasa, celulasa, hemicelulasa entre otras, las cuales degradan el almidón, la pectina, celulosa y hemicelulosa respectivamente. Tanto la hemicelulosa como la celulosa son polímeros presentes en grandes cantidades en la materia orgánica de origen vegetal, ya que son los componentes principales de las paredes celulares de las células vegetales.^{1,2}

En este trabajo se ha cuantificado la actividad celulolítica en cada una de las etapas de diferentes procesos de compostaje. De un total de 9 plantas de compostaje, en tres de ellas se empleó como materia prima residuos vegetales, en otras tres se emplearon residuos sólidos urbanos y en las tres últimas con lodos de depuradora. A pesar de que en algunas de ellas la materia prima de partida pueda parecer la misma, no lo fue, al igual que las condiciones ambientales difirieron en todos los casos.

Para cuantificar la actividad celulolítica, se utilizó un método de análisis que consiste en la determinación de la glucosa utilizando carboximetilcelulosa como sustrato; ya que la celulosa es un complejo enzimático con capacidad para hidrolizar la celulosa mediante la rotura de β , 1-4, liberando como producto final glucosa.³ Esta glucosa liberada por la acción de la celulasa es estimada mediante el reactivo ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS)⁴, provocando la oxidación de los grupos funcionales de los azúcares reductores (cetonas o aldehidos), reduciéndose él simultáneamente, en condiciones alcalinas y desarrollando un color rojo marrón, lo que nos permite medir la absorbancia a una longitud de onda de 550nm y de ésta forma calcular la actividad enzimática (celulolítica) en cada una de las etapas de los diferentes procesos de compostaje.

En cuanto a los resultados obtenidos en este estudio se observó, que en el caso en el que se empleó como materia de partida residuo vegetal, la tendencia general en las tres plantas de compostaje analizadas, con éste tipo de materia, es que la actividad celulolítica, disminuyó a medida que avanzan las etapas del proceso de compostaje. El mismo comportamiento de la actividad celulolítica ocurre en las plantas utilizando como materia de partida residuo sólido urbano y lodos de depuradora. Por último si se analizan los valores obtenidos en los tres tipos de residuos analizados en cada una de las plantas de compostaje de los residuos anteriormente citados, los valores de mayor actividad celulolítica corresponden a los residuos sólidos urbanos, seguido de residuos vegetales y finalmente los de lodos de depuradora.

¹ Cariello M, Castañeda L, Riobo I, Gonzales J. Endogenous microorganismos inoculant to speed un the composting process of urban swage sludge. *J Soil Scie & Plant Nutrit.* **2007**; 7(3): 26-37.

² Nivedita S, Preeti B, Divya T, Richa K. Comparative study of potential cellulolytic and xylanolytic bacteria isolated from compost and their optimization for industrial use. *J Agroalimentary Processes & Technol.* **2013**; 19(3): 284-297; 19(3): 284-297.

³ Libmond Savoie J-M. Degradation of wheat straw by a microbial community-Stimulation by a polisaccharidase complex. *Appl.Microbiol.Biotechnol.* **1993**.;40:567-574.

⁴ Miller GL. Use of dinitrosalicilylic acid reagent for determination or reducing sugar. **1959**; *Anal. Chem.*31:426-428.

EFFECT OF VOLUMETRIC RATE OF PHOTON ABSORPTION ON THE KINETICS OF MICROPOLLUTANT REMOVAL BY SOLAR PHOTO-FENTON WITH Fe^{3+} -EDDS AT NEUTRAL pH

P. Soriano-Molina, J.L. García-Sánchez, S. Malato and J.A. Sánchez-Pérez

*Department of Chemical Engineering, Faculty of Experimental Sciences, University of Almería
CIESOL, Joint Centre of the University of Almería-CIEMAT
E04120 Almería (Spain); paula.soriano@ual.es*

The photo-Fenton process is an efficient treatment for micropollutant removal from secondary wastewater treatment plant effluents. These organic compounds, found at concentration levels of $\mu\text{g L}^{-1}$ and ng L^{-1} , cause ecological harm and health effects. This process relies on the reaction between ferrous iron and hydrogen peroxide under UV radiation to produce the highly oxidative hydroxyl radicals. It has been widely studied at its optimum pH, 2.8, albeit with the disadvantage that the treatment requires a previous acidification of the water as well as further neutralization before disposal into the environment or reuse, what increases the operating costs. As an alternative, the use of iron chelating agents, such as ethylenediamine disuccinic acid (EDDS) has been proposed¹ to run the process at the natural pH of water. Concerning the design and optimization of photocatalytic reactors, the concept of volumetric rate of photon absorption (VRPA) is very useful, since it combines the effects of light absorption and reactor geometry².

This research is focused on the study of the effect of the VRPA of the Fe^{3+} -EDDS complex on the kinetics of micropollutant removal by solar photo-Fenton at neutral pH. To this end, experiments at different values of VRPA, from 383 to 1933 $\mu\text{E m}^{-3} \text{s}^{-1}$ were conducted in a perfectly mixed cylindrical reactor placed inside a solar simulator. The pesticide acetamiprid (ACTM) was used as a model pollutant at an initial concentration of 100 $\mu\text{g L}^{-1}$. The higher absorptivity of the complexed iron at neutral pH than Fe^{3+} at pH 2.8 allowed to work under photolimitation conditions at shorter optical path lengths because the process became photosaturated at higher values of VRPA. Despite instability of the complex with light, treatment capacities of 90 $\text{mg m}^{-2} \text{h}^{-1}$ for 80% ACTM removal were achieved after 10 minutes of reaction with 0.1 mM Fe^{3+} -EDDS and 0.88 mM H_2O_2 .

This work quantifies, for the first time, the radiation absorption by the Fe^{3+} -EDDS at neutral pH as a function of the optical path length, which is of great interest for the development of the process in large-scale photocatalytic reactors.

Acknowledgements. This research was supported by the Ministry for Economy and Competitiveness (Spanish Government) and the European Regional Development Fund (ERDF). Paula Soriano-Molina would like to acknowledge the Ministry of Education, Culture and Sport for her FPU scholarship (AP2014/01030).

¹ I. De Obra, L. Ponce-Robles, S. Miralles-Cuevas, I. Oller, S. Malato, J.A. Sánchez Pérez, Microcontaminant removal in secondary effluents by solar photo-Fenton at circumneutral pH in raceway pond reactors, *Catal. Today* 287 (2017) 10–14.

² A. Cabrera Reina, L. Santos-Juanes, J.L. García Sánchez, J.L. Casas López, M.I. Maldonado Rubio, G. Li Puma, J.A. Sánchez Pérez, Modelling the photo-Fenton oxidation of the pharmaceutical paracetamol in water including the effect of photon absorption (VRPA), *Appl. Catal. B: Environ.* 166-167 (2015) 295–301.

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL PROBIÓTICO Y PREBIÓTICO DE *RHODOTORULA MUCILAGINOSA* PARA SU UTILIZACIÓN EN EL CULTIVO DE DORADA (*SPARUS AURATA*)

M. J. Céspedes, M. I Sáez, A. J Vizcaíno, A. Galafat, Y. Chourak, F. J Alarcón, T. F Martínez

*Department of Biology and Geology, Escuela Superior de Ingeniería,
Universidad de Almería, E04120 Almería (Spain);
mjosecl13@gmail.com*

En los últimos años el empleo de los probióticos y prebióticos en el campo de la acuicultura ha adquirido una gran relevancia, sobre todo a raíz de las limitaciones regulatorias del uso de antibióticos como aditivos zootécnicos en producción animal. Son numerosos los estudios que han demostrado que las levaduras son una alternativa valiosa para la prevención de enfermedades. Dentro de las levaduras que constituyen la microbiota autóctona del intestino de peces carnívoros marinos se han propuesto como potenciales probióticos las especies *Debaryomyces hansenii* y *Rhodotorula mucilaginosa*, aunque en el caso de *R. mucilaginosa* no hay apenas estudios de dichos efectos en peces. En este contexto, el objetivo principal del presente trabajo de investigación ha consistido en la evaluación del potencial probiótico y prebiótico de *R. mucilaginosa* para estudiar su posible viabilidad para una futura utilización comercial. Para ello, se llevó a cabo un ensayo *in vivo* con juveniles de dorada (*Sparus aurata*), los cuales fueron alimentados con un pienso comercial suplementado con *R. mucilaginosa* a dos niveles de inclusión y en dos formatos en función de su viabilidad (viva frente a inactivada). Se determinó el aprovechamiento nutritivo del alimento y se cuantificaron las actividades enzimáticas digestivas y los efectos inmunoestimulantes y antioxidantes. También se realizó un estudio ultraestructural (microscopía electrónica de barrido) de la colonización de la levadura sobre la mucosa intestinal de dichos animales.

Los resultados mostraron que la adición de *R. mucilaginosa* a los piensos de juveniles de dorada, no causó ningún incremento en el crecimiento de los animales, ni tampoco causó efecto negativo alguno sobre las actividades enzimáticas digestivas, independientemente de la dosis administrada y de la viabilidad de las mismas (viva frente a inactivada). En determinados casos la adición de *R. mucilaginosa* causó efectos favorables sobre algunas actividades enzimáticas digestivas, como la proteasa alcalina total, tripsina, amilasa y fosfatasa alcalina, así como en el contenido en inmunoglobulinas totales y en sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). Por otro lado, la suplementación del pienso comercial con levadura viva fue determinante para la estimulación de la actividad proteasa alcalina, tripsina y el contenido en TBARS. Sin embargo, la actividad α -amilasa y el contenido en inmunoglobulinas totales mostraron un efecto claramente dosis-dependiente, independientemente de la viabilidad de las mismas. Este hecho podría ser clave para un potencial uso como preparado de levadura inactiva con efectos inmunoestimulantes, aunque son necesarios otros ensayos de mayor duración en los que se evalúe estos efectos junto con otros factores relacionados con una mayor suplementación de *R. mucilaginosa* y/o analizar otras respuestas fisiológicas en los peces de diferentes edades.

Agradecimientos. Los autores agradecen a la empresa Lifebioencapsulation S.L. por la cesión del microorganismo y la fabricación de los piensos para el desarrollo de los ensayos experimentales.

QUANTIFICATION OF AMYLOLYTIC ACTIVITY DURING COMPOSTING OF ORGANIC WASTE

M. J. Estrella-González, F. Suárez-Estrella and J. Moreno

*Departament of Biology and Geology, Faculty of Experimental Sciences,
University of Almería, ceiA3
E04120, Almería (Spain); meg274@ual.es*

Composting is defined as a process of biotransformation of organic matter. The product obtained, called compost, can be applied for beneficial purposes both in agriculture and in the restoration of soils. The process can be divided into six differentiated phases with respect to the temperature reached inside the composting piles. These stages are called Raw Material, Mesophilic, Thermophilic, Cooling, Maturation and Final Product phases. Thermal variations occur during different phases thanks to the activity of a wide variety of microorganisms, including bacteria, actinobacteria and fungi. The biodiversity of composting piles will depend on the specific nutritional and environmental conditions in each case.¹

There is a great variety of organic residues susceptible to be composted, which have very different physicochemical, biological and structural characteristics. As regards the typical microbiota of a composting process, there are important differences depending on the type of raw materials as well as among the different phases of the process.²

In this work, the evolution of the amylolytic activity during the composting process was studied. This activity was analyzed in 9 composting facilities dedicated to the composting of sewage sludge, vegetable waste and urban solid waste. A total of 162 samples were analyzed, comparing the amylase activity between Raw Materials and the different phases of the process.

In general, as expected, the values of amylase activity were higher in the case of samples from composting processes made with plant residues, while the lowest values were correlated with compost samples of urban solid waste. On the other hand, when the results were analyzed globally, higher levels of amylase activity were detected during the biooxidative phase of the composting process, in relation to the cooling and maturation stages. This evolution was as expected, taking into account the greater availability of substrate during the initial phases of the process.

Acknowledgements. This work has been financed by the Ministry of Economy and Competitiveness through project AGL2015-64512-R.

¹ Lopez-Gonzalez, J.A., Vargas-Garcia M.C., Lopez, M.J., Suarez-Estrella, F., Jurado, M. and Moreno, J. (2014). Enzymatic characterization of microbial isolates from lignocellulose waste composting: chronological evolution. *J Environ Manag* 145: 137-146

² Goyal, S., Dhull, S.K. and Kappoor, K.K. (2005). Chemical and biological changes during composting of different. *Bioressour Technol* 96: 1584-1591.

USO DE VEHÍCULOS AÉREOS NO TRIPULADOS PARA EL CONTROL DE PROCESOS EROSIVOS EN SUELOS

P. Martínez-Carricondo, F. Carvajal-Ramírez y F. Agüera-Vega

*Servicio Periférico de Investigación y Desarrollo basado en Drones
Universidad de Almería,
04120 Almería (España); drones@ual.es*

La modificación del paisaje debido a fenómenos de erosión es un fenómeno complejo que depende de numerosos factores muy variables en el tiempo y en el espacio, lo que dificulta su caracterización y control. Las mayores evidencias de erosión de suelos son las cárcavas producidas por el agua de escorrentía, pudiendo llegar a degradar por completo el paisaje donde aparecen y evolucionan.¹

La reciente aparición de nuevas tecnologías de observación terrestre, basada en el desarrollo de nuevos sensores de tamaño reducido, y de las plataformas aéreas no tripuladas (UAV, Unmanned Aerial Vehicles), ofrecen grandes posibilidades para caracterizar de forma eficiente y económica los cambios ambientales, no sólo del relieve sino de otros componentes hidrológicos y agronómicos.

Paralelamente al desarrollo de estos sistemas, y gracias a la integración de la fotogrametría y la visión artificial, también se ha producido un gran avance en la producción de modelos digitales de superficies a partir de imágenes tomadas con cámaras no métricas, desde diferentes alturas y orientaciones, obteniéndose resultados de alta calidad.²

Varios son los softwares de bajo coste que permiten, en la actualidad, la obtención, a partir de fotografías tomadas con cámaras convencionales, del modelado 3D de superficies, así como el estudio geométrico de objetos cercanos. La mayoría de estos softwares basan su funcionamiento en la obtención de nubes de puntos mediante algoritmos especiales, tales como SfM (Structure-from-Motion).³ La georreferenciación de los modelos obtenidos se lleva a cabo mediante un reducido número de puntos de apoyo situados en elementos claramente visibles tanto en el terreno como en cada una de las imágenes.

Una vez exportados los productos resultantes, es necesario proceder a la evaluación de la precisión obtenida, siendo el estadístico error medio cuadrático (Root Mean Square Error, RMSE) el más común y usado en la literatura. La precisión obtenida en estos trabajos depende de diferentes factores, tales como altura de vuelo, número de puntos de apoyo y su distribución, geomorfología del terreno, etc.⁴

Es necesario, por tanto, desarrollar y optimizar una metodología que permita modelizar con precisión centimétrica las modificaciones del paisaje, no sólo las de gran magnitud, sino incluso aquellas de menor intensidad. En efecto, esto permitirá caracterizar las modificaciones que se han producido en un periodo de tiempo y poder adoptar estrategias para minimizar o anular los efectos negativos producidos por los diferentes procesos erosivos.

¹ Rose and others, 'The Erosive Growth of Hillside Gullies', *Earth Surface Processes and Landforms*, 39.15 (2014), 1989–2001 <<https://doi.org/10.1002/esp.3593>>.

² Hartley and Zisserman, *Multiple View Geometry in Computer Vision.2nd*, Cambridge University Press, 2003, LIII <<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>>.

³ Furukawa and Ponce, 'Accurate, Dense, and Robust Multiview Stereopsis', *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 32.8 (2010), 1362–76 <<https://doi.org/10.1109/TPAMI.2009.161>>.

⁴ Agüera-Vega, Carvajal-Ramírez, and Martínez-Carricondo, 'Accuracy of Digital Surface Models and Orthophotos Derived from Unmanned Aerial Vehicle Photogrammetry', *Journal of Surveying Engineering*, 2016, 4016025 <[https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)SU.1943-5428.0000206](https://doi.org/10.1061/(ASCE)SU.1943-5428.0000206)>; Agüera-Vega, Carvajal-Ramírez, and Martínez-Carricondo, 'Assessment of Photogrammetric Mapping Accuracy Based on Variation Ground Control Points Number Using Unmanned Aerial Vehicle', *Measurement*, 98 (2017), 221–27 <<https://doi.org/10.1016/j.measurement.2016.12.002>>.

USO DE RADIONUCLEIDOS COMO TRAZADORES DE LA INTERACCIÓN AGUA SUBTERRÁNEAS-SUPERFICIALES EN EL RÍO ANDARAX (SE ESPAÑA)

**F. Navarro-Martínez¹, F. Sánchez-Martos¹, A. Salas-García², A. Baeza²,
L. Molina-Sánchez¹, A. Rodríguez-Perulero²**

¹ *G.I. Recursos Hídricos y Geología Ambiental (RNM-189), Dpto. Biología y Geología, Universidad de Almería, 04120, Almería (España)*

² *LARUEX, Laboratorio de Radioactividad Ambiental, Dpto. Física Aplicada, Facultad de Ciencias Veterinarias, 10003, Cáceres (España)
fmm206@ual.es*

La identificación de acuíferos que alimentan a los ríos es fundamental para entender la dinámica de la hidroquímica de las aguas superficiales, especialmente en ambientes áridos y semiáridos donde el río tiene un caudal discontinuo.

Existen diferentes métodos para identificar el origen y procedencia del agua del río. En este estudio se realiza un análisis de los trazadores naturales (uranio, radio y radón) en el agua superficial y subterránea de la cuenca alta y media del río Andarax para identificar las zonas donde existe una influencia de las aguas subterráneas sobre las superficiales.

La variación de la ratio isotópica $^{234}\text{U}/^{238}\text{U}$ permite detectar la influencia que el agua subterránea del acuífero carbonatado tiene sobre el agua superficial en zona de cabecera, donde el contenido salino es menor y el agua tiene una facies bicarbonatadas cálcicas. El contenido de ^{226}Ra y ^{222}Rn es bajo en las aguas superficiales, aunque hay un ligero aumento en los tramos más bajos del río donde el caudal es permanente, los valores de salinidad son los más altos y las facies son sulfatadas calcio-magnésicas. Todo esto se ve favorecido por la influencia de las aguas subterráneas del acuífero detrítico sobre las aguas superficiales.

Los resultados de este estudio indican la posibilidad de utilizar los radionucleidos como trazadores de la interacción aguas subterráneas-superficiales en áreas semiáridas con presencia acuíferos de diferente litología (carbonatados y detríticos). Esta metodología podría tener especial interés en ambientes semiáridos donde se desarrollan ríos dependientes de las aguas subterráneas, zonas en donde la gestión conjunta y sostenible de los recursos hídricos superficiales y subterráneos tiene una importancia estratégica.

Agradecimientos. Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto P11-RNM-8115 financiado por la Consejería de Economía, Innovación y Ciencia de la Junta de Andalucía. Es una contribución al Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (ceiA3).

ZONIFICACIÓN DE LAS AGUAS SUPERFICIALES DEL RÍO ANDARAX MEDIANTE EL USO CONJUNTO DE ELEMENTOS MINORITARIOS Y ELEMENTOS TRAZA

F. Navarro-Martínez, F. Sánchez-Martos, J. Gisbert-Gallego

*G.I. Recursos Hídricos y Geología Ambiental (RNM-189), Dpt. Biología y Geología.
Universidad de Almería, 04120, Almería (España); fnm206@ual.es*

El río Andarax es un buen ejemplo de río mediterráneo, con una elevada variabilidad en la cantidad y calidad del agua y en su cuenca afloran rocas de litología muy diversa con una gran complejidad tectónica. Todo ello condiciona su dinámica hidrológica que presenta todas las tipos de corrientes de agua. En este estudio utilizamos trazadores químicos para identificar y discriminar la influencia litológica junto con la interacción agua superficial-subterránea sobre la evolución hidroquímica de las aguas superficiales. De acuerdo con la variabilidad hidrológica e hidroquímica de las aguas superficiales y la presencia de distintos de acuíferos, se han definido tres zonas con características y procesos hidroquímicos diferentes (LF, CA y DS).

Las aguas superficiales en la zona de cabecera (LF) están influenciadas notablemente con la recarga directa asociada a las precipitaciones. El agua del último punto analizado en la zona LF presenta una ratio Sr/SO₄ similar a la del acuífero detrítico, y muy distinta a los puntos agua arriba, mostrando la posible influencia subterránea en este tramo. La descarga de aguas subterráneas del acuífero carbonatado de Sierra de Gádor es la responsable del aumento en la ratio Sr/Ca y Mg/HCO₃ en las aguas superficiales de la zona media (CA). Esta influencia del agua subterránea sobre las aguas superficiales contribuye al mantenimiento del caudal y afecta las características hidroquímicas de las aguas superficiales en la zona. En la zona baja (DS) el agua superficial tiene la salinidad más alta de todo el estudio y los valores de la relación Ca/SO₄ (0.73-1.38) y Sr/SO₄ (0.005-0.008) son inferiores a las que presentan la zona media (1.49-2.50) y (0.009-0.011). En esta zona baja hay dos tramos con diferente comportamiento hidrológico. El tramo final tiene el caudal permanente y la ratio B/Li (1.07-1.26) con valores similares en las aguas superficiales y subterráneas, que son más elevados que los que muestran en la zona no permanente (0.31-0.93) situada aguas arriba. En definitiva, la interacción aguas subterráneas-superficiales y la influencia litológica condicionan notablemente la evolución hidroquímica de las aguas superficiales.

El uso de trazadores hidroquímicos es una herramienta muy útil para entender los procesos que afectan a la evolución de la salinidad en las aguas superficiales, considerando la influencia de diferentes factores ambientales. Su conocimiento es útil para la gestión de los recursos hídricos en zonas semiáridas con problemas relacionados con la calidad y cantidad de las aguas superficiales.

Agradecimientos. Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto P11-RNM-8115 financiado por la Consejería de Economía, Innovación y Ciencia de la Junta de Andalucía. Es una contribución al Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (ceiA3).

DISEÑO DE UNA PROPUESTA EDUCATIVA PARA EL RECURSO AGUA

M. Rodríguez

*Departamento de Biología y Geología, Facultad de Ciencias Experimentales,
Universidad de Almería
Ctra. Sacramento s/n, 04120 Almería
maria-188@hotmail.com*

Los científicos no debemos olvidar que tan importante es crear ciencia como divulgarla. La divulgación de la misma es un deber además de una necesidad. La finalidad de este trabajo por tanto es poner de manifiesto la importancia de una correcta divulgación para la continuidad de la ciencia. Para ello se propone un diseño educativo para la enseñanza del recurso agua, como tema de vital importancia para la sociedad almeriense¹. El diseño de la propuesta se basa en una serie de actividades que siguen en medida de lo posible el Método de Enseñanza por Indagación (IBSE), que pretende demostrar su mayor eficacia en comparativa con la enseñanza más tradicional². Esta propuesta fue aplicada a una muestra de alumnos de 4ºESO, en la que se compararon sus conocimientos previos y posteriores a esta propuesta para valorar la eficacia de la misma. Esta comparación fue posible gracias a las actividades que produjeron a lo largo de toda la secuencia, y más concretamente sus diseños sobre el ciclo del agua. Los resultados que se obtuvieron pusieron de manifiesto una evolución en su conocimiento, ya que el 100% de los alumnos mostraron un mayor conocimiento sobre el agua al finalizar la secuencia. Las conclusiones que se obtienen en este trabajo son una mayor eficacia del método IBSE frente a la enseñanza más tradicional, ya que los alumnos son los protagonistas de su aprendizaje y disfrutaron haciendo ciencia. Se produjo en ellos una mayor concienciación medioambiental al conocer en mayor profundidad una problemática tan cercana. Tuvieron un mayor acercamiento al pensamiento científico e interés por la ciencia al no mostrársela como algo lejano y aburrido, si no como entendimiento del mundo que les rodea aplicada a un tema concreto.

¹ Ferraro García, F., & Aznar Sánchez, J.Á. (2008). El distrito agroindustrial de Almería: un caso atípico. *Mediterráneo Económico*, 13, 353-382.

² Jasmin, D., Baptist, P., Artigue, M., Dillon, J., Harlen, W. y Léna, P. (2010). Fibonacci Starting Package: Scientific Background. *The Fibonacci Project*, (<http://www.fibonacci-project.eu/>)

MODIFICACIÓN DEL VALOR NUTRITIVO DE LA LARVA DE *HERMETIA ILLUCENS* (LINNAEUS, 1758) MEDIANTE EL SISTEMA DE CRÍA

B. Rodríguez-Lozano, F. García-Barroso and M. J. Sánchez-Muros

*Dpto. Biología y Geología. CITE II-B. Universidad de Almería. Ctra. Sacramento s/n., 04120, La Cañada (Almería), España.
brl169@hotmail.com*

Hoy día, dada la gran cantidad de residuos producidos anualmente por las sociedades desarrolladas, la necesidad de su revalorización es imperante. Por otra parte, el crecimiento de la demanda de productos agropecuarios provoca la necesidad de encontrar nuevas fuentes proteicas económicamente y medioambientalmente sostenibles. La FAO, en el año 2014, propuso los insectos como solución viable por su excelente potencial como fuente de proteína animal y por su capacidad de reciclar residuos. Sin embargo, las larvas de insectos analizadas muestran algunos limitantes, como puede ser su alta composición grasa o el bajo porcentaje de ácidos grasos de la serie n-3.

En ensayos anteriores se ha comprobado como la cantidad y la calidad de su grasa podría modificarse mediante el sistema de cría. Por tanto, el objetivo de este trabajo es determinar el efecto de distintos sustratos para la cría de *H. illucens* sobre su composición nutritiva. Para ello se emplearon 5 sustratos experimentales de diversa naturaleza: 2 cárnicos (hígado de cerdo y mixto de entrañas porcinas y vacunas) 3 vegetales (coco, tomate y manzana). Como grupo control se utilizaron *Hermetias* alimentadas con pienso de maíz.

Los resultados muestran como las larvas alimentadas con sustratos altamente grasos como el coco presentan una mayor cantidad de grasa. En el resto de tratamientos se alcanzan niveles próximos al control, a excepción de la manzana, donde se alcanza el 70% del peso seco de la larva. Ambos sustratos, coco y manzana presentan niveles menores de proteína para las larvas. Además, podemos observar como los sustratos con mayor cantidad de proteínas (cárnicos) repercuten positivamente en el nivel de proteína de las larvas, incrementándolo sobre el control.

Estos resultados indican que la alimentación de la larva influye su valor nutritivo, siendo esta por tanto una herramienta para bioacumular lípidos y proteínas de distintas fuentes orgánicas como subproductos de ganadería o agricultura, considerados actualmente residuos. Estudiar el perfil lipídico es el siguiente paso para comprender su relación con la dieta, pues podrían existir distintas afinidades de acumulación según el tipo de ácidos grasos, como sugiere el caso de la manzana donde se han registrado una altísima acumulación de grasa pese a poseer el sustrato alrededor del 5%, posiblemente debido a la transformación de los azúcares en grasa.

ASSESSMENT OF THE INFLUENCE OF CLIMATE CHANGE ON OLIVE CROPS AGROECOSYSTEMS IN ANDALUSIA, SPAIN

R. F. Ropero¹, R. Rumi² and P.A. Aguilera¹

¹*Department of Biology and Geology; ²Department of Mathematics, Faculty of Experimental Sciences, Universidad de Almería, E04120 Almería (Spain); rosa.ropero@ual.es*

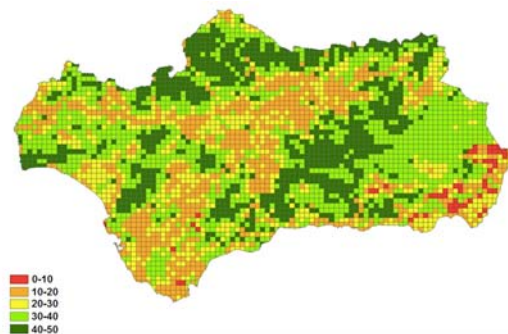
Olive crops (*Olea europaea* L.) is one of the oldest domesticated crops which best adapted to the Andalusian climatic conditions which have been identified as an important agroecosystem. Besides, olive production is an important economic sector configuring an element of social cohesion, territorial management and employment and richness producer¹.

The Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) predicts important changes into temperature and rainfall patterns in Andalusia, with an increase in the number and force of extreme events². Under these changes, the potential spatial distribution of several species will be affected. In the case of olive crops, their great socioeconomic importance makes the mitigation of Climatic Change (CC) effects an important strategy. But firstly, these effects need to be clearly known, and here is where modelling process becomes crucial.

Bayesian network (BNs) is a powerful tool hardly applied in CC assessment even when literature had demonstrated their ability to deal with real life problems, mainly in environmental sciences³. In this paper, the potential spatial distribution of olive crops under a scenario of change from the IPCC reports were evaluated through a regression problem based on BNs.

Results show that, a priori, there is an important area of olive production nearby the *Guadalquivir* river area, and a limit of olive extension marked by the relief. However, this altitudinal structure is lost under the IPCC scenario. The predicted increase of temperature involves olive area to move upward in the mountainous ranges. This territorial change will have an impact over the Andalusia socio-economy since an important population sector depends on the olive production.

Figure 1. Maps for the predicted percentage of olive extensión per grid cell under the IPCC-A2 scenario, horizon 2100.



Acknowledgements. This work has been supported by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness through projects TIN2016-77902-C3-3-P and TIN2013-46638-C3-1-P, and by the Regional Government of Andalusia through project P12-TIC-2541. Rosa F. Ropero is supported by a *Contrato Puente* funded by the University of Almería.

¹Plan Director del Olivar Andaluz (2015). Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía

²Méndez-Jiménez, M. (2012) Estudio Básico de Adaptación al Cambio Climático. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía

³Ropero, R. F. (2016) Hybrid Bayesian networks: A statistical tool in Ecology and Environmental Sciences. PhD Thesis, Dpt. Biology and Geology, University of Almería.

ESTIMATION OF SPECIES RICHNESS USING BAYESIAN NETWORKS

A. D. Maldonado¹, **R. F. Ropero**², P. A. Aguilera², R. Rumí¹ and A. Salmerón¹

¹Department of Mathematics, ²Department of Biology and Geology
Faculty of Experimental Sciences,
Universidad de Almería,
E04120 Almería (Spain); rosa.ropero@ual.es

Species richness is the target of many hypotheses. Two of the main approaches for explaining the distribution of biodiversity are 1) the *habitat heterogeneity hypothesis*¹, which assumes that species richness increases as the habitat becomes structurally more complex; and 2) the *species energy hypothesis*², which establishes that regional richness is limited by the energy available to the system (i.e. temperature, evapotranspiration, precipitation or net primary productivity, among others)³. We propose a methodology based on continuous Bayesian networks for assessing species richness. Specifically, we applied a restricted structure Bayesian network, known as *tree augmented naive Bayes* (TAN), regarding a set of environmental continuous predictors.

Firstly, we analyzed the relationship between the response variable (called the *terrestrial vertebrate species richness*) and a set of 10 environmental predictors by observing the changes in the posterior probabilities of the response variable (Y) when new information is introduced in any of the explanatory variables (evidence, e). The posterior distributions were summarized into their means and plotted on 10 graphs (1 per explanatory variable), which provided information about the type of relationship: direct, if e influences Y positively; indirect, if e influences Y negatively; and curvilinear, if the influence of e on Y changes its sign. Secondly, the learnt model was used to estimate the species richness in Andalusia (Spain) and the results were depicted on a map.

The TAN regression model managed to deal with the species *richness - environment* relationship, which is complex from the ecological point of view, avoiding the discretization of the data thanks to the use of *Mixture of Truncated Exponentials (MTEs)*⁴. On the other hand, by separately introducing new pieces of evidence in each explanatory variable, we obtained information about the relationship between the species richness and each explanatory variable. The results highlight that landscape heterogeneity, topographical and social variables had a direct relationship with species richness while climatic variables showed more complicated relationships with the response variable.

Acknowledgements. This work has been supported by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness through projects TIN2016-77902-C3-3-P and TIN2013-46638-C3-1-P. R.F. Ropero is supported by a *Contrato Puente* funded by the University of Almería. A. D. Maldonado is supported by the Spanish Ministry of Education, Culture and Sport through an FPU research grant, FPU2013/00547.

¹ MacArthur, R.H., Wilson, E.O.: The theory of island biogeography. Princeton University Press (1967)

² Hutchinson, G.E.: Homage to Santa Rosalia or Why are there so many kinds of animals? The American Naturalist 93, 145-159 (1959)

³ Wright, D.H.: Species-energy theory: an extension of species-area theory. Oikos 141, 496-506 (1983)

⁴ Moral S., Rumí R., Salmerón A.: Mixtures of truncated exponentials in hybrid bayesian networks. In: Benferhat S, Besnard P (eds) Symbolic and quantitative approaches to reasoning with uncertainty. Lecture notes in artificial intelligence, vol 2143. Springer, Lisbon, pp 156-167 (2001)

AGUAS FÓSILES EVIDENCIAN LA EXISTENCIA DE UNA LAGUNA COSTERA EN CABO DE GATA (ALMERÍA)

F. Sola, A. Vallejos y A. Pulido-Bosch

*Departamento de Biología y Geología, Facultad de Ciencias Experimentales,
Universidad de Almería,
E04120 Almería (España); fesola@ual.es*

Bajo la llanura costera de Cabo de Gata se desarrolla un acuífero detrítico de unos cien metros de potencia. La salinidad de la parte inferior del acuífero (~ 690 mmol/L de Cl^-) es claramente superior al agua de mar (~ 600 mmol/L de Cl^-). Se ha realizado un estudio hidrogeoquímico e isotópico con objeto de dilucidar a qué se debe esta salinidad anómala. Los valores isotópicos registrados corresponden a aguas salobres con un 60% de agua de mar, mientras sus datos químicos indican que se trata de un agua más salada que el agua de mar.

Se ha realizado una modelización hidrogeoquímica utilizando el código Phreeqc¹ bajo la hipótesis de que estas aguas son el resultado de la mezcla entre el agua dulce acuífera y la intrusión marina. Como resultado se obtiene un agua con un 60% de agua de mar, la cual habría alimentado una antigua laguna costera, donde se habría parcialmente evaporado hasta dar la composición química actual. Según esta modelización el agua habría sufrido una evaporación de un 40% antes de su definitiva infiltración. Las medidas de C^{14} nos permiten estimar la edad de la laguna, entre 6000 a 8000 años. En este momento el nivel del mar en el área estaba entre 1 y 2 m por encima del actual debido a la transgresión Flandriense². A partir de estos datos se ha podido reconstruir la posición y tamaño que debió tener la laguna, la cual englobaría las actuales salinas de Cabo de Gata (Fig. 1). Datos sedimentológicos demuestran que bajo el área teóricamente inundada por la laguna existió un cuerpo de agua cuya edad es similar a la aquí calculada.

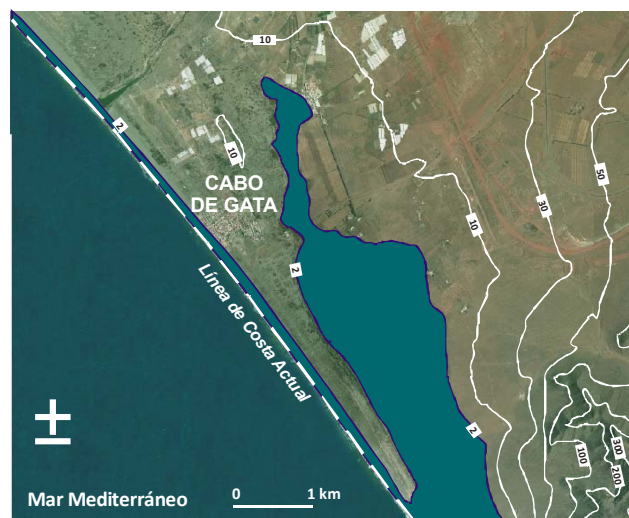


Figura 1. Reconstrucción paleogeográfica durante la transgresión Flandriense.

Agradecimientos. Este trabajo forma parte de las líneas de investigación que promueve CEI-MAR y ha sido financiado por MINECO y FEDER (Proyecto CGL2015-67273-R).

¹ Parkhurst, D.L., Appelo, C.A.J. Description of input and examples for PHREEQC version 3—A computer program for speciation, batch-reaction, one-dimensional transport, and inverse geochemical calculations: U.S. Geological Survey Techniques and Methods, book 6, chap. A43, **2013**, 497 p.

² Goy, J.L., Zazo, C., Dabrio, C.J. A beach-ridge progradation complex reflecting periodical sea-level and climate variability during the Holocene (Gulf of Almería, Western Mediterranean). *Geomorphology*, 50: 251–268. **2003**.

LA CIUDAD DE ALMERÍA INUNDADA POR EL MAR (~10.000 AÑOS BP)

F. Sola, A. Vallejos y A. Pulido-Bosch

*Departamento de Biología y Geología, Facultad de Ciencias Experimentales,
Universidad de Almería,
E04120 Almería (España); fesola@ual.es*

La ciudad de Almería y alguna de sus pedanías como La Cañada se asienta parcial o totalmente sobre los sedimentos que conforman el delta del río Andarax. Bajo este delta se desarrolla un acuífero costero en el que se pueden diferenciar cuatro tipos de aguas en función de su composición química e isotópica. Estos tipos de aguas son: (1) Agua dulce, con conductividades comprendidas entre 1-10 mS/cm. Son aquellas aguas de las que se abastece a través de sondeos la agricultura localizada sobre el delta. (2) Una zona de interfase con una potencia de 15-30 m que se incrementa hacia el continente. (3) Una zona de agua salada que se extiende desde la base de la interfase hasta la base del acuífero. La conductividad de estas aguas es de aproximadamente 50 mS/cm. (4) Agua de mar. Se trata de una pequeña cuña de agua marina que penetra unas decenas de metros desde el mar hacia el interior del acuífero. Este sería el agua que capta la planta desaladora que abastece a la ciudad de Almería. La composición química así como las concentraciones isotópicas en O^{18} y H^2 de esta cuña de agua de mar son muy similares a los que tiene la masa de agua salada más hacia el interior bajo el delta (3). Sin embargo, los valores de C^{14} y C^{13} de ambas masas de agua son muy diferentes. Se han calculado las edades de infiltración de cada una de las masas de agua diferenciadas obteniéndose valores recientes para el agua dulce y el agua de mar, valores en torno a 10000 años en el agua salada, y valores intermedios en la interfase.

Estos resultados son indicativos de que antes de formarse el actual delta del río Andarax, el área era un estuario sumergido bajo las aguas del Mediterráneo (Fig. 1). La sedimentación posterior, alimentada por el río Andarax, habría ido colmatando este estuario hasta dar lugar a la configuración deltaica actual, dejando en su interior aguas salinas fósiles. Estos resultados concuerdan con los sugeridos a partir de datos paleontológicos¹.

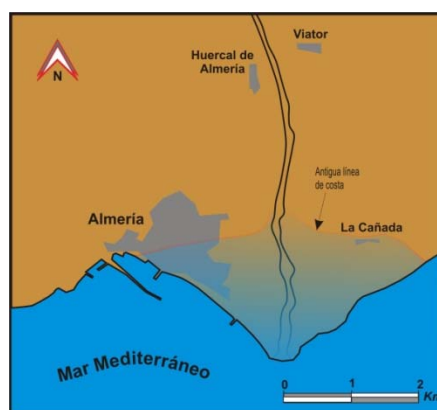


Figura 1. Reconstrucción de la posición de la línea de costa hace unos 10000 años.

Agradecimientos. Este trabajo forma parte de las líneas de investigación que promueve CEI-MAR y ha sido financiado por MINECO y FEDER (Proyecto CGL2015-67273-R).

¹Hoffmann, G. (1988): Holozänstratigraphie und Küstenlinienverlagerung an der andalusischen Mittelmeerküste. Universität Bremen, Bremen. 1988.

LONGITUDINAL VIBRATIONS EFFECT ON VISION VIA THE STREHL RATIO OPTICAL TRANSFER FUNCTION METRIC (SOTF)

A. B. Castaño-Fernández, A. Martínez-Finkelshtein and R. Iskander

*Department of Mathematics, Faculty of Experimental Sciences,
Universidad de Almería,
E04120 Almería (Spain); acf583@ual.es*

It is known that SOTF¹, which is constructed from the Optical Transfer Function (OTF)², is expressed by the 2D Fourier Transform. But, it in general cannot be calculated explicitly. Hence, the corresponding integrals are discretized (replaced by finite sums), reducing the problem to a 2D Discrete Fourier Transform (DFT). This approach, very popular in optics, has several well-known drawbacks: the phenomenon of aliasing³, which causes different wavefronts to become indistinguishable due to an improper sampling, the Gibbs effect⁴, appearing in the presence of input signals with discontinuities, such as at the boundary of its domain of definition. In order to tackle this problem we have developed semi-analytic approaches for the OTF and related function that allowed us to improve the computational efficiency of their evaluation, avoiding the problems inherent to the direct Fourier Transform evaluation. Using this tool and taking into account the potential applications in the biomedical optics, we restrict our attention to a circular pupil. For non-trivial, but radially-symmetric wavefronts the expressions obtained will be expressed in terms of the Bessel function of first kind.

These formulas are applied to the problem of an objective assessment of the image quality, and in particular, of the influence of vibrations on the image. Recent studies have proved that certain longitudinal vibrations of high frequency outside of the focal plane can potentially increase the visual quality⁵. We provide a computational and theoretical background to this experimental result by means of the analysis of the influence of vibrations of the averaged SOTF, where the only two possible averaging were considered: in the diffraction integral and in the Point Spread Function (PSF)⁶. With this purpose, we implement alternative computational schemes (using either the derived analytic expressions for the metrics or the DFT), considering that some components of the wavefront undergo longitudinal vibrations, both having plausible physiological explanations, and compare the results. In particular, we are interested in the occurrence of the phenomenon when the values of the averaged SOTF metric are larger than those without oscillations, which is the objective expression of improvement of the visual quality in the presence of oscillations. In this poster, we consider the case when the only component of the wavefront experimenting oscillation is the defocus (phenomenon described experimentally by Lohmann and Paris).

Acknowledgements. Excellence Project P11-FQM-7276 from Junta de Andalucía, the research group “Approximation Theory and Orthogonal Polynomials” (TAPO) from University of Almería, the research Project MTM2014-53963-P from the Ministry of Economy and Competitiveness of Spain and the European Regional Development Fund, and CEIMAR.

¹ L. N. Thibos, X. Hong, A. Bradley and R. A. Applegate, *Accuracy and precision of objective refraction from wavefront aberrations*, Journal of Vision, 4, pp. 329—351, 2004.

² J. Goodman, *Introduction to Fourier Optics*, McGraw-Hill, New York, 2th ed., 1968.

³ F. Miller A. Vandome and J. McBrewster, *Aliasing*, Alphascript Publishing, 2009.

⁴ J.W. Gibbs, *Fourier's Series*, Nature, 59 2009.

⁵ D. Iskander, *Signal processing in visual optics*, IEEE Signal Processing Magazine, 31, pp. 155—158, 2014.

⁶ M. Born and E. Wolf, *Principles of Optics*, Pergamon Press, 4th rev. ed., 1970.

THE DISTRIBUTION FUNCTION OF A PROBABILITY MEASURE ON A POLISH ULTRAMETRIC SPACE

J. F. Gálvez-Rodríguez and M. A. Sánchez-Granero

*Department of Mathematics, Faculty of Experimental Sciences,
Universidad de Almería,
E04120 Almería (Spain); jgr409@inlumine.ual.es*

In this work we describe a theory of a cumulative distribution function on a Polish ultrametric space from a probability measure defined in this space. For that purpose, we first need to define an order in the space. This distribution function plays a similar role to that played in the classical case. Moreover, we define its pseudo-inverse and study its properties.

The cumulative distribution function (in short, cdf) of a probability measure μ on a Polish ultrametric space (X, d) is a function $F: X \rightarrow [0,1]$ defined by $F(x) = \mu(\leq x)$, where $(\leq x) = \{y \in X: y \leq x\}$. The order \leq is the one which results from enumerating the balls of the space.

Its properties are:

1. F is non-decreasing.
2. F is right τ -continuous (the topology related to the ultrametric d).
3. $\lim_{x \rightarrow \infty} F(x) = 1$, what means that for each $\varepsilon > 0$ and $x \in X$ there exists $y \in X$ with $y \geq x$ and such that $1 - F(y) < \varepsilon$.

We can also define $F_-(x) = \mu(< x)$, where $(< x) = \{y \in X: y < x\}$. That function plays a similar role to that played by $\lim_{x \rightarrow a^-} F(x)$ in the classical case.

If $\mu(\{x\}) = 0$, for each $x \in X$, then F is continuous in x with respect to the topology τ . However the converse is not true.

Moreover, a cdf and its probability measure are univocally determined.

By using the previous result we can give a decomposition theorem for a cdf, where we will use the condition $F = F_-$ instead of the continuity of F (as it happens in the classical case) in order to get the uniqueness of the decomposition: let X be a Polish ultrametric space and let $F: X \rightarrow [0,1]$ be a cf. Then F can be decomposed as a convex sum $F = \alpha G + (1 - \alpha)H$ with $0 \leq \alpha \leq 1$, where G is a step cdf, and H is a cdf satisfying that $H = H_-$. Moreover, the decomposition is unique.

Finally, we define the pseudo-inverse of a cdf F as $G: [0,1] \rightarrow X^*$ given by $G(r) = \inf\{x \in X: F(x) \geq r\}$, for each $r \in [0,1]$, where $X^* = X \cup \{\infty\}$ if $F(x) < 1$, for each $x \in X$ or $X^* = X$ if $F(x) = 1$ for some $x \in X$. Its properties will allow us to generate samples of a distribution, as it happens in the classical case, and give us the chance to calculate integrals with respect to the related probability measure.

MEHLER-HEINE ASYMPTOTICS AND ZEROS OF VARYING DISCRETE SOBOLEV ORTHONORMAL POLYNOMIALS

J. F. Mañas-Mañas, and J. J. Moreno-Balcázar

*Department of Mathematics, Faculty of Experimental Sciences,
Universidad de Almería,
E04120 Almería (Spain); jmm939@ual.es; balcazar@ual.es*

The main aim of this work is the study of asymptotic behavior of the sequences of polynomials $\{q_n\}_{n \geq 0}$ which are orthonormal with respect to the inner product

$$(f, g)_S = \int f(x)g(x)d\mu + M_n f^{(j)}(c)g^{(j)}(c), \quad j \in \mathbb{N} \cup \{0\}, \quad (1)$$

where μ is a finite positive Borel measure supported on an infinite subset of the real line, c is adequately located on the real axis, and $\{M_n\}_{n \geq 0}$ is a sequence of nonnegative real numbers satisfying a very general condition:

$$\lim_{n \rightarrow \infty} M_n K_{n-1}^{(j,j)}(c, c) = L \in [0, +\infty],$$

with $K_n^{(s,t)}(x, y)$ denoting the partial derivatives of the n th kernel for the sequence $\{p_n\}_{n \geq 0}$ of orthonormal polynomials with respect to the measure μ , i. e.

$$K_n^{(s,t)}(x, y) = \frac{\partial^{s+t}}{\partial x^s \partial y^t} K_n(x, y) = \sum_{i=0}^n p_i^{(s)}(x) p_j^{(t)}(y).$$

We focus our attention on Mehler-Heine type formulae of the polynomials $\{q_n\}_{n \geq 0}$. These formulas describe in detail the asymptotic behavior of these polynomials around c , just the point where we have located the perturbation of the standard inner product.

One motivation to study this type of inner product arises from ¹. In that paper, the authors studied a particular case of (1) involving the Laguerre weight: $w(x) = x^\alpha e^{-x}$, with $\alpha > -1$. Later, the authors got similar results for Jacobi weight: $w(x) = (1-x)^\alpha (1+x)^\beta$, with $\alpha, \beta > -1$ (see ²). More recently, we study the general case, where μ is a very general measure. Our methods are strongly based on the techniques developed in ⁴. We highlight to obtain our results we do not need to know explicitly the coefficients in the corresponding connection formula between Sobolev orthogonal polynomials and the orthogonal polynomials with respect to μ . Thus, we establish Mehler-Heine formulae in this general framework (see ³). Finally, we pay attention to the asymptotic behavior of the (scaled) zeros of these varying Sobolev polynomials and several numerical experiments are shown.

Acknowledgements. The authors are partially supported by Research Group FQM-0229 (belonging to Campus of International Excellence CEIMAR). The author JFMM is funded by a grant of Plan Propio de la Universidad de Almería. The author JJMB is partially supported by Ministerio de Economía y Competitividad of Spain and European Regional Development Fund, grant MTM2014-53963-P, and Junta de Andalucía (excellence grant P11-FQM-7276).

¹ J. F. Mañas-Mañas, F. Marcellán, J. J. Moreno-Balcázar, in "Varying discrete Laguerre-Sobolev orthogonal polynomials: asymptotic behavior and zeros", Appl. Math. Comput. **2013**, 222, 612-618.

² J. F. Mañas-Mañas, F. Marcellán, J. J. Moreno-Balcázar, in "Asymptotic behavior of varying discrete Jacobi-Sobolev orthogonal polynomials and zeros", J. Comput. Appl. Math. **2016**, 300, 341-353.

³ J. F. Mañas-Mañas, F. Marcellán, J. J. Moreno-Balcázar, in "Asymptotic for varying discrete Sobolev orthogonal polynomials", Appl. Math. Comput. **2017**, 314, 65-79.

⁴ A. Peña, M. L. Rezola, in "Connection formulas for general discrete Sobolev polynomials. Mehler-Heine asymptotics", Appl. Math. Comput. **2015**, 261, 216-230.

BAYESIAN MODELS OF DATA STREAMS WITH HIERARCHICAL POWER PRIORS

A. R. Masegosa

*Departamento de Matemáticas,
Universidad de Almería,
E04120 Almería (Spain); andresmasegosa@ual.es*

Making inferences from data streams is a pervasive problem in many modern data analysis applications. But it requires addressing the problem of continuous model updating, and adapt to changes or drifts in the underlying data generating distribution. In this paper, we approach these problems from a Bayesian perspective covering general conjugate exponential models. Our proposal makes use of non-conjugate hierarchical priors to explicitly model temporal changes of the model parameters. We also derive a novel variational inference scheme which overcomes the use of non-conjugate priors while maintaining the computational efficiency of variational methods over conjugate models. The approach is validated on three real data sets over three latent variable models.

Our modelling is inspired by previous works on Bayesian recursive, power priors and exponential forgetting approaches. However, these methods were developed for slowly changing processes, where the rate of change anticipated by the model is controlled by a quantity that must be set manually. Our solution, on the other hand, can accommodate both gradual and abrupt concept drift by continuously assessing the similarity between new and historic data using a fully Bayesian paradigm.

Building Bayesian models for data streams raises computational problems, as data may arrive with high velocity and is unbounded in size. We therefore develop an approximate variational inference technique based on a novel lower-bound of the data likelihood function. The appropriateness of the approach is investigated through experiments using both synthetic and real-life data, giving encouraging results. The proposed methods are released as part of an open-source toolbox for scalable probabilistic machine learning (<http://www.amidsttoolbox.com>).

This work was presented in the 34th International Conference on Machine Learning, the annual premier conference of the research field.

¹H NMR BASED PROFILING OF SPENT HUMAN EMBRYO CULTURE MEDIA FOR ASSESSMENT OF *IN VITRO* EMBRYO QUALITY

A. C. Abreu¹, L. M. Aguilera-Sáez¹, F. M. Arrabal-Campos¹, M. A. Vilches Ferrón² and I. Fernández¹

¹ *Department of Chemistry and Physics, Research Centre CIAIMBITAL, University of Almería, Ctra. Sacramento s/n, 04120 Almería (Spain); acabreu@ual.es*

² *Hospital Torrecardenas, Paraje Torrecárdenas s/n, E04009, Almeria (Spain)*

Since its introduction in 1978, human in-vitro fertilization (IVF) has helped to treat infertility and allowed the birth of more than five million test-tube babies around the world.¹ However, IVF still faces a low delivery rate per started cycle (between 15.6 and 18.1%).² The difficulty in assessing the implantation potential of the embryo before its transfer highly contributes to the low success of IVF. Morphological assessment of embryos (fragmentation, blastomere symmetry, inclusion bodies, etc.), usually on day 2/3 after oocyte insemination, still remains the primary method used to determine embryo viability during IVF cycles,³ but has been reported to result in an implantation rate between 36-37%.² Over recent years, there has been much interest in the use of metabolomics to detect biomarkers of embryo viability, which might help embryologists to successfully increase implantation rates. This metabolic profiling in spent culture media can be readily investigated using non-invasive metabolic techniques, such as high-resolution nuclear magnetic resonance (¹H-NMR) spectroscopy.

The aim of this study is to improve embryo implantation success, through the construction of a predictive model of the embryo quality assigned during its development. The quality of the embryo was classified by morphological evaluation by microscopic visualization according to ASEBIR criteria,⁴ and categorized in four classes (A, B, C and D), being the embryonic quality A the one of greater implantation. After each incubation period (18 h), the culture media were carefully collected, transferred to cryovials and frozen at -20 °C. The samples for NMR measurements were prepared in a solution of NaCl (0.09%) in D₂O and were carried out on a Bruker Avance III 600 spectrophotometer equipped with a cryoprobe. The spectra were acquired using a ¹H CPMG sequence and processed through the TOPSPIN 3.2 software (Bruker BioSpin GmbH). Then, the whole dataset was subjected to a multivariate analysis using the SIMCA-P software (v. 14.0, Umetrics).

This study has demonstrated that it is possible to obtain discriminatory models for the diagnosis of embryonic development and viability by conjugating high sensitivity NMR with multivariate data analysis tools. A number of biomarkers associated with the quality of embryonic development were identified. We are currently performing a more developed study with a more representative sample set towards the correlation of the metabolic profile of the culture media of cultured embryos with the reproductive potential of the embryos, which will allow us to improve the efficiency rate of the IVF techniques.

Acknowledgements. Financial support was given by Junta de Andalucía (Spain) under the project number P12-FQM-2668. A. C. A. thanks Ministerio de Economía, Industria y Competitividad for a postdoctoral fellowship (RTC-2016-5239-2).

¹ R. M. Kamel. *J. Reprod. Infertil.* **2013**, *14*, 96-109.

² *Sociedad Española de Fertilidad Informe estadístico de Técnicas de Reproducción Asistida.* Report obtained from https://www.registrosef.com/public/docs/sef2015_IAFIVm.pdf (data from **2015**).

³ R. Singh, K. D. Sinclair. *Theriogenology.* **2007**, *68*, S56-S62.

⁴ Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción (ASEBIR).

EXPLORING THE METABOLOME OF *ANNONA CHERIMOLA* L. LEAVES BY A COMBINED APPROACH BASED ON NMR AND HPLC-TOF-MS

**L. M. Aguilera-Sáez¹, E. Díaz-de-Cerio^{2,3}, A. M. Gómez-Caravaca^{2,3}, V. Verardo⁴,
D. Muñoz-Jiménez¹, D. Arráez-Román^{2,3}, I. Fernández¹**

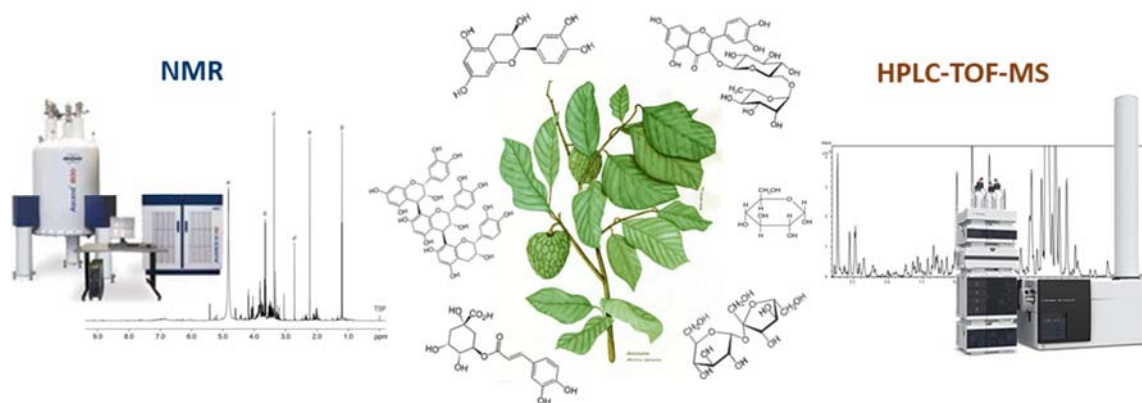
¹ Department of Chemistry and Physics, Research Centre CIAIMBITAL, University of Almería, Ctra. Sacramento, s/n, E04120, Almería (Spain); las768@ual.es

² Department of Analytical Chemistry, Faculty of Sciences, University of Granada, Avd. Fuentenueva s/n, E18071, Granada (Spain).

³ Research and Development Functional Food Centre, Health Science Technological Park, Avd. del Conocimiento 36, Bioregion building, E18016, Granada (Spain).

⁴ Department of Nutrition and Bromatology, University of Granada, Campus Universitario de Cartuja, E-18071 Granada (Spain).

Annona cherimola Mill. (cherimoya) is a deciduous tree that belongs to the *Annonaceae* family, and is native from Peru and Ecuador.¹ The leaves of this tree possess several health benefits, which are, in general, attributed mainly to its bioactive composition.² However, literature lacks publications concerning a comprehensive characterization of primary and secondary metabolites from these leaves. Thus, the aim of this work was to achieve a broad view of the metabolome of cherimoya leaves by a combined approach which consisted on nuclear magnetic resonance (NMR) and high-performance liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry (HPLC-TOF-MS). For the first time, a total of 77 compounds have been characterized, 12 of which were identified by both techniques. It is worth mentioning that different solvent mixtures were tested and the total phenolic content (TPC) in the extracts quantified. The tendency observed was: EtOH/water 80/20 (v/v) (17.0 ± 0.2 mg TPC/g leaf dry weight ((d.w.)) \geq acetone/water 70/30 (v/v) (16.1 ± 0.7 mg TPC/g leaf d.w.) $>$ EtOH/water 70/30 (v/v) (14.0 ± 0.3 mg TPC/g leaf d.w.) $>$ acetone/water 80/20 (v/v) (13.5 ± 0.4 mg TPC/g leaf d.w.). Interestingly, from 63 to 76 % of the evaluated TPC, corresponded to flavonoids derivatives.³



Acknowledgements. Financial support was given by Junta de Andalucía (Spain) under the project number P12-FQM-2668.

¹ M. E. González-Vega, *Cultivos Tropicales*. **2013**, 34, 52–63.

² B. Arun-Jyothi, K. Venkatesh, P. Chakrapani, A. Roja Rani, *Int J Phytomedicine*. **2011**, 3, 439–447.

³ E. Díaz-de-Cerio; L. M. Aguilera-Sáez, A. M. Gómez-Caravaca, V. Verardo, D. Muñoz-Jiménez, D. I. Fernández, D. Arráez-Román, *Anal. Bioanal. Chem.* **2017**, submitted.

EFFECT OF ORGANIC AMENDMENT ON FLUSILAZOLE LEACHING

**K. Aït Hammi^{1,3}, M. D. Ureña-Amate², M. M. Socías-Viciana²,
M. M. Urbano-Juan²**

¹Department of Chemistry, Laboratory of Materials Chemistry, University of Oran 1 Ahmed Ben Bella, BP 1524 El-M'Naouer, Oran, Algeria. Email: aithamihakina@yahoo.fr

²Department of Chemistry and Physics, Agroalimentary Campus of International Excellence, ceiA3, University of Almeria, 04120, Almeria, Spain.

³Scientific and Technical Research Center in Physico-Chemical Analysis, BP 384, Siège ex-Pasna Industrial Zone, Bou-Ismaïl CP 42004, Tipaza, Algeria.

The capacity of a soil to adsorb or retain a pesticide is the key parameter to know the extent to which it will leach through soil to groundwater, the adsorption process being related to soil characteristics such as clay content, organic matter content and cation exchange capacity. In this study, column leaching experiments were developed to evaluate the leaching of the fungicide flusilazole in three Algerian soils. Downward mobility was compared by using original soils and those amended with 18% of commercial peat under laboratory conditions.

The distribution of fungicide along the soil profile indicated that flusilazole was mainly retained in the top 0-5 cm layer, showing a low mobility on the soils studied. A different trend is noted in native soil C, where flusilazole was slightly mobile in this sample as this pesticide leached down to the second layer (5-10 cm depth) with 4.85% of the fungicide retained, whereas for this same amended sample, the pesticide was retained at 96.76% in the top 0-5 cm layer and no trace of pesticide was observed in the second layer. This result was expected if we take into account a higher adsorption and hysteretic behavior (Table 1) of flusilazole after amendment.

The fact that no fungicide was detected in any of the amended soils beyond the 5-10 cm depth, demonstrates that the organic amendment added to soils delayed leaching of flusilazole and increased the amount of fungicide retained¹. The presence of additional organic matter in amendment soil could not only decrease leaching² but also make structural changes in the porosity induced by the higher organic carbon content³. The calculated K_{OC} parameter values and the average half-life (DT_{50}) of the fungicide allowed to determine the GUS index, indicative of the leaching potential. Thus, according to the GUS index, flusilazole would show a very low risk of leaching in B soil, whereas for C and especially for the A soil, the fungicide seems to show a moderate risk of leaching (2.35).

Table I. General characteristics of soils, K_f , K_{OC} , H and GUS parameters

Soil	CEC (meq.100 g ⁻¹)	OM (%)	Clay (%)	S _{BET} (m ² .g ⁻¹)	K _f	K _{oc}	H	GUS
A	14,79	1,53	20	25,98	0,01	1121,1	0,12	2,35
A- 18%	26,04	2,93	10	23,15	0,07	3049,8	0,16	1,28
B	-	3,16	5	18,62	0,13	6151,3	0,43	0,52
B - 18%	-	4,16	2	23,89	0,15	5167,4	0,25	0,71
C	21,67	1,19	26	42,18	0,01	1729,1	0,24	1,89
C - 18%	28,96	3,20	16	38,95	0,06	3931,6	0,05	1,00

Acknowledgments: The authors of this work thanks the AECID funding awarded through the Integrated Action A1/035959/11.

¹ B. S. Ismail, M. Sameni, M. Halima. *Asian J. Agri. Res.* **2009**, 3, 67-77.

² T. Undabeytia, T. Sanchez-Verdijo T, E. Morillo E, C. Maqueda C. *J Agric Food Chem.* **2004**, 52, 4493-4500.

³ F. Worrall, M. Fernández-Pérez, A.C. Johnson, F. Flores-Céspedes, E. González-Pradas. *J. Contam. Hydrol.* **2001**, 49 (3-4), 241-262.

MOLECULAR WEIGHT PREDICTION OF GLOBULAR PROTEINS THROUGH THE USE OF PULSE-FIELD GRADIENT DIFFUSION NMR

F. M. Arrabal-Campos, L. M. Aguilera-Sáez, M. Andújar-Sánchez, E. Ortiz-Salmerón, I. Fernández

Department of Chemistry and Physics, Research Centre CIAIMBITAL, University of Almería, Ctra. Sacramento, s/n, E04120 Almería (Spain); fmarrabal@ual.es

Characterization of proteins in solution involves not only molecular dimension but also structural and transport properties, shape, conformation, solvation degree, charge and aggregation states.¹ Most studies of molecular dimensions have relied on measurements of the hydrodynamic or Stokes radii by translational diffusion coefficient measurements using dynamic light scattering or by size-exclusion chromatography. We report herein a new PGSE (Pulse Field Gradient Spin Echo) NMR methodology for the successful prediction of weight-average molecular weight of globular proteins, with the only need of the quantitative D -value and the viscosity of the solvent. We have recently described an equation which linearly relates diffusion coefficients and Mw, but with no dependence on the viscosity of the media where the measurements were performed.² From our approach, the values of $D\eta$ are constant since an isoentropic situation is obtained. In this sense, the construction of $\log(D\eta)$ vs $\log(Mw)$ plots yields a linear fit, which we have called universal calibration curve (UCC). Figure 1 (left) shows the self-diffusion coefficients obtained for D₂O samples of myoglobin (17.6 kDa) at different viscosities. The viscosity of the samples was tuned adding different amounts of fructose (2, 4, 6, 8 and 18 mg) within the NMR samples. These viscosities were estimated by the incorporation of TSP (3-trimethylsilylpropionic-2,2,3,3-*d*₄ acid sodium salt) to each sample. Since the r_H -value for TSP at ambient temperature can be determined, the measured D -values at 294 K, together with the Stokes-Einstein equation, afford realistic estimates of the D₂O viscosities (η). The calculated $D\eta$ -values for our five myoglobin samples were estimated and are shown in Figure 1 (right). The results show that the $D\eta$ -values become almost constant with weight-average Mw prediction values centered in 17.6 KDa and errors below 6.7%.

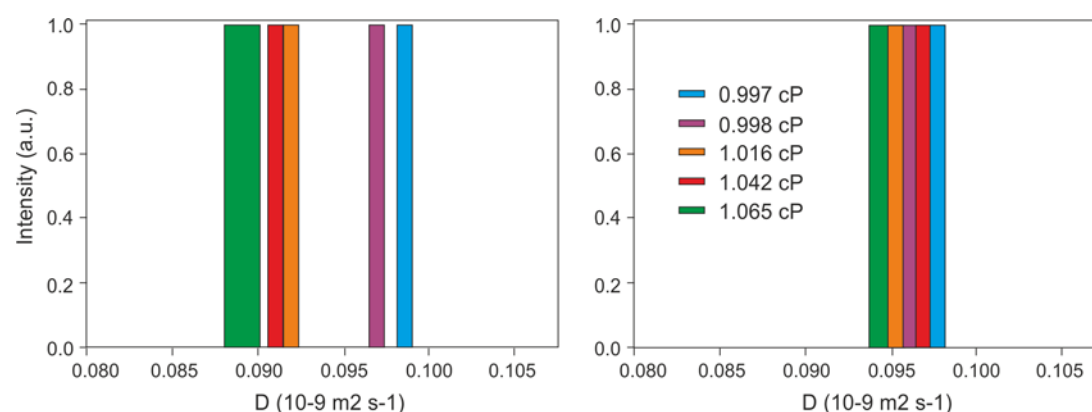


Figure 1. Values of the diffusion coefficients (D) for five myoglobin D₂O samples at different viscosities after adding different amounts of fructose.

Acknowledgements. Financial support was given by Junta de Andalucía (Spain) under the project number P12-FQM-2668.

¹ Haynes, C. A.; Norde, W *Colloids Surf., B* **1994**, 2, 517–566.

² F. M. Arrabal-Campos, P. Oña-Burgos, I. Fernández, *Polym. Chem.* **2016**, 7, 4326-4329.

ALCOHOLIC BEVERAGE CLASSIFICATION BASED ON FINGERPRINTING ANALYSIS BY HEADSPACE SOLID PHASE MICROEXTRACTION COUPLED TO GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY

**J. R. Belmonte-Sánchez, J. Arrebola-Liébanas, R. Romero-González,
J. L. Martínez- Vidal, A. Garrido Frenich**

Department of Chemistry and Physics, Research Centre for Agricultural and Food Biotechnology (BITAL), University of Almería, Agrifood Campus of International Excellence, ceiA3, Carretera de Sacramento s/n, E-04120 Almería, Spain.

Email: joseraulbs@gmail.es

Nowadays, numerous methods have been described for the differentiation and classification of alcoholic beverages based on the analysis of the volatile composition.¹ With this aim, gas chromatography (GC) coupled to mass spectrometry (MS) is often used in combination with head space solid phase microextraction (HS-SPME). This combination has been applied to different matrices as wine or beer as well as to other popular spirit beverages, such as whiskey, vodka, gin, brandy or cognac. However, rum studies are less frequent, and the complex elaboration of this kind of beverage makes it a potential object of study, due to the wide variability and differences that may arise in its production. Moreover, beverage vendors have always used different categories to identify their rums and distinguish them from competitors, such as Premium or Reserve, which allow for a clear differentiation from other cheaper rums. In many cases, good and poor quality rums are included in these categories without any quantitative justification. Notwithstanding these classifications are not related to the rum age, fermentation, distillation, mixing or style, but there are marketing strategies to increase consumers' confidence. Due to the complexity and variability of rum composition, their classification represents an analytical challenge.

The aim of this study was the development of a comprehensive and robust analytical strategy for the analysis of the volatile/semivolatile compounds for rums differentiation and their quality classification. The analyses were carried out with commercially available rum samples from local liquor stores. After the HS-SPME-GC-MS analysis, the raw data were processed applying available statistical tools. For exploratory data analysis, unsupervised chemometric techniques as hierarchical cluster analysis (HCA) and principal component analysis (PCA) were applied. Meanwhile, supervised techniques as linear discriminant analysis (LDA), were tested to train the classifier on the labelled examples and make predictions on the unlabelled data, achieving classification results due to the correlation between samples. All the chemometric tools employed allowed for the correct classification of the complete rum batch (a total of 33 brands rum of different ages). The HCA showed relevant differences between the rum samples due to addition of honey, syrup and manually flavoured. Therefore, these rum types were clearly classified by this chemometric method. PCA indicated 40 ions as relevant chemical descriptors related to discriminant compounds (e.g. hexanoic acid, octanoic acid, decanoic acid, ethyl acetate or 5-(hydroxymethyl) furfural) for the correct rum classification. The rums were classified based on manufacturing country, raw material, distillation method, barrel type, and aging period with a correct assignment percentage of 94, 91, 92, 95 and 94%, respectively. The cross-validation results ranged from 65% to 97% indicating the importance of complete and accurate label information, as well as the importance of enough representative sample for each group.

¹ P. Wiśniewska; M. Śliwińska; T. Dymerski; W. Wardencki; J. Namieśnik, *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 45 (2014) 201.

DISEÑO Y SÍNTESIS DE NUEVOS MATERIALES MOLECULARES MULTICOMPONENTE CON ACTIVIDAD ANTIDIABÉTICA

A. Calvo¹, C. Verdugo-Escamilla², D. Choquesillo-Lazarte², A. Rodríguez Diéguez¹

¹*Departamento de Química Inorgánica, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, 18071, Granada.* ²*Laboratorio de Estudios Cristalográficos, IACT-CSIC, 18100 Armilla (Granada); acalvo048@correo.ugr.es*

El interés en el desarrollo de nuevas formas sólidas multicomponente ha aumentado en los últimos años tanto en la industria farmacéutica así como en la comunidad científica debido a la posibilidad de obtener materiales con mejores y nuevas propiedades¹. El desarrollo de nuevas estrategias de síntesis, basadas en técnicas en solución o en estado sólido, ha recibido también la atención por parte de la comunidad científica para la obtención de estos sistemas moleculares.

En este trabajo se plantea la síntesis de nuevos materiales moleculares multicomponente, utilizando moléculas con actividad antidiabética de primera y segunda generación, buscando la mejora de la solubilidad de las moléculas modelo. Para ello, en una primera etapa se ha realizado una búsqueda de las formas sólidas reportadas en la base de datos CSD y se han seleccionado un grupo de coformadores con posibilidad de generar cocristales farmacéuticos sobre la base de criterios de complementariedad de sintones supramoleculares y cálculos termodinámicos de estabilidad. En una segunda etapa, se plantea la síntesis de estos nuevos sistemas tanto en solución como en estado sólido (LAG) seguido de la caracterización del material sólido por difracción de rayos X de polvo y espectroscopías FT-IR y Raman. En aquellos casos donde exista evidencia de la formación de nuevas fases cristalinas, se procederá a la recristalización por evaporación controlada de solvente con objeto de obtener cristales de tamaño apropiado para su posterior estudio por difracción de rayos X de monocristal. En una etapa final, se procederá a evaluar la mejora en solubilidad de las nuevas formas sólidas obtenidas así como su estabilidad en condiciones controladas de humedad.

Agradecimientos: Junta de Andalucía, Proyecto de Excelencia P12-FQM-1484.

¹ N. Blagden, D. J. Berry, A. Parkin, H. Javed, A. Ibrahim, P. T. Gavan, L. L. De Matos, C. C. Seaton. *New J. Chem.* **2008**, 32, 1659

MULTIRESIDUE METHOD FOR THE ANALYSIS OF PESTICIDES IN WASTEWATER OF DIFFERENT ORIGIN BY SOLID-PHASE EXTRACTION AND LIQUID CHROMATOGRAPHY–TANDEM MASS SPECTROMETRY

M. C. Campos-Mañas, A. Lorenzo, P. Plaza-Bolaños, J. A. Sánchez-Pérez, A. Agüera

Solar Energy Research Centre (CIESOL), Joint Centre University of Almería-CIEMAT, 04120, Almería, Spain. mcm029@ual.es

Agricultural practices have traditionally been considered as the main source of water contamination by organic microcontaminants such as pesticides¹. In the last years attention has been paid to other non-agricultural sources such as effluents from urban or industrial wastewater treatment plants (WWTPs)². Pesticides are probably the most studied organic contaminants in the aquatic environment, but their occurrence and behaviour in WWTP effluents demand further evaluation. This can be particularly important in the case of food-packaging or food-processing industries, where the application of pesticides for the control of fungal infestations during storage or the application of washing steps prior to processing can result in the production of high volumes of pesticide-contaminated wastewaters. The monitoring of agro-food industrial WW effluents is therefore of high interest.

With this purpose, an analytical methodology based on solid-phase extraction (SPE) and subsequent determination by liquid chromatography coupled to hybrid quadrupole/linear ion trap tandem mass spectrometry (LC-QqLIT-MS/MS) was optimized for the determination of 29 target pesticides in WW effluents. The optimized method was applied to monitoring industrial wastewater (IWW) from an agro-food factory, and urban wastewater (UWW). The method was validated: recoveries obtained for most analytes at the three concentration levels (50, 500 and 1000 ng L⁻¹) were in the range 80-110%, with relative standard deviations below 20%; matrix-matched calibration was used for quantification; method detection limits varied from 0.02 to 10.0 ng L⁻¹; and linearity was also adequate ($r^2 > 0.99$).

The results showed the occurrence of pesticides in both urban and industrial WW. 24 out of the 29 target compounds were detected in UWW samples at concentration levels ranging from 0.6 ng L⁻¹ (pirimicarb) to 1357 ng L⁻¹ (imidacloprid). In the IWW only 15 pesticides were identified but at concentrations that reached up to 19802 ng L⁻¹, in the case of imazalil. Comparing the total charge of pesticides detected, this was remarkably higher in IWW (16678 – 25251 ng L⁻¹) than in UWW (182 – 2970 ng L⁻¹). These results stresses the importance of controlling IWW effluents, which can represent a relevant hotspot of pesticide diffusion and discharge into the environment. In this sense, the present method is a powerful tool for the monitoring of WW, which can help to increase current data of pesticide occurrence useful to environmental regulation development.

Acknowledgements. The authors gratefully acknowledge the financial support by the Ministry of Economy and Competitiveness of Spain (Ref. CTQ2013-46398-R) and the European Regional Development Fund (ERDF). M.C. Campos-Mañas is grateful for her pre-doctoral grant from University of Almería. P. Plaza-Bolaños acknowledges for personal funding through the Hipatia Program (University of Almeria).

¹ Cahill, M.G., Caprioli, G., Stack, M., Vittori, S., James, K.J.,. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. **2011**, *400*, 587–594.

² Rodríguez-Mozaz, S., Ricart, M., Köck-Schulmeyer, M., Guasch, H., Bonnineau, C., Proia, L., de Alda, M.L., Sabater, S., Barceló, D. *Journal of Hazardous Materials*. **2015**, *282*, 165-173.

MANNOSYLATED CYCLODEXTRIN-NO-PHOTODONOR CONJUGATES FOR TARGETING SPECIFIC ANTIBIOTIC-RESISTANT BACTERIA

G. Cutrone¹, G. Benkovics,² M. Malanga,² J. M. Casas-Solvas,¹ S. Sortino,³ L. García-Fuentes,¹ A. Vargas-Berenguel¹

¹ *Group of Carbohydrates and Proteins, Department of Chemistry and Physics
Universidad de Almería, E04120 Almería (Spain); cutrone@ual.es*

² *Cyclolab Kft, Illatos út 7, H-1097, Budapest, Hungary*

³ *Department of Drug Sciences, University of Catania,
Viale Andrea Doria 6, I-95125, Catania, Italy*

One of the most promising alternative approaches to face the problems of antibiotic Multi Drug Resistance (MDR) is based on the use of the free radical NO as a very efficient antimicrobial and antioxidant agent to tackle bacterial infections and cardiovascular diseases.¹ This radical is able to attack biological substrates of different nature, thus acting as multitarget cytotoxic. Moreover, biocompatible NO-releasing scaffolds are suitable vehicles because enhance NO storage, improve therapeutic output, and reduce side-effects.² Mannose-receptors, such as lectins DC-SIGN and FimH, are highly expressed in cells of the immune system (i. e. macrophages and dendritic cells) and displayed on the surface of many bacteria, respectively.³ This complex system allows cell recognition and signaling, and is used by bacteria to gain entrance to cells. Multivalent carbohydrate-containing nanostructures are of potential application for the inhibition of the bacteria adhesion and effective biodistribution of drugs.

In this communication we report the synthesis of β -cyclodextrin (CD)-scaffolded mannoside (**1**) and 1,2-mannobioside (**2**) derivatives containing a 4-nitro-3-(trifluoromethyl)aniline appendage as nitric oxide (NO) photodonor (Figure 1). The self-association behavior as well as the binding affinity of **1** and **2** to mannose-binding protein model ConA were studied by ITC. In addition, we found that visible light excitation of compounds **1** and **2** triggers NO generation with a higher efficiency than that shown by the free NO photodonor as a result of the encapsulation of the hydrophobic aniline moiety by the CD cavity.

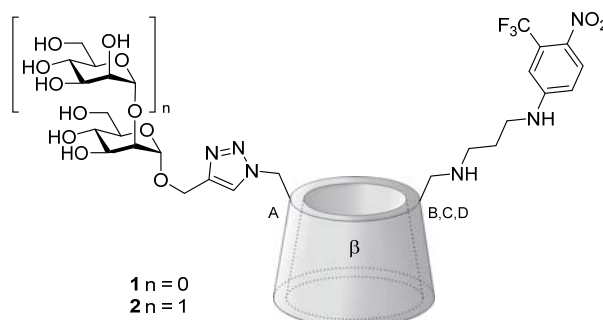


Figure 1. Mannose-containing β -CD derivatives.

Acknowledgements. We acknowledge the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness-ERD Fund (Grant CTQ2013-48380-R) and the EU through a Marie Curie ITN program (CYCLON HIT 608407) for financial support.

¹ A. W. Carpenter and M. H. Schoenfisch, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 3742-3752.

² A. Fraix, N. Marino, S. Sortino, *Top. Curr. Chem.* **2016**, *370*, 225-257.

³ T. K. Lindhorst, in "Synthesis and Biological Applications of Glycoconjugates", O. Renaudet and N. Spinelli (Eds), Bentham eBooks, **2011**; pp. 12-35.

BIOLOGICAL ACTIVITY AND COMPONENTS OF *HELIOTROPIUM ARBORESCENS* L.

**D. Fabrikov^{1,2}, M. J. González-Fernández², M. Álvarez-Corral¹,
I. Rodríguez-García¹ and J. L. Guil-Guerrero²**

¹ Organic Chemistry Division, ceiA3, University of Almería, E-04120, Almería, Spain

² Food Technology Division, ceiA3, University of Almería, E-04120, Almería, Spain

df091@inlumine.ual.es

A growing problem in Western countries is colon cancer. Medicinal plants are often a source for bioactive compounds, with special emphasis on those with antitumor or chemopreventive activity. *Heliotropium* is a genus of herbs belonging to the family of the Boraginaceae. The different species of this genus are distributed in tropical and temperate regions of the world. About 300 species belong to this genus.¹ In addition to their potential in biological studies, these plants have attracted attention in the study of their phytoconstituents for the treatment of different diseases. Heliotropes have been used as medicinal plants in traditional medicine for the treatment of gout, rheumatism, have also been used as febrifuges, antiseptics, cholagogues, anti-inflammatory.² The HT-29 human adenocarcinoma cell line has been used for the study of the cytotoxicity of chemical compounds, microbial infections and mechanisms of intestinal cell differentiation.³

The present work describes the extraction with different solvents of the aerial parts of *Heliotropium arborescens* L. and the measurement of the antitumor activity of the extracts thus obtained. The antitumor activity was measured by an MTT assay against the HT-29 human adenocarcinoma cell line. The main constituents of the most active extracts were flavonoids and polyphenols. Three of them (**1-3**) could be isolated after several meticulous column chromatography on silicagel at preparative scale. Their characterization was achieved through 1D and 2D NMR spectroscopy.

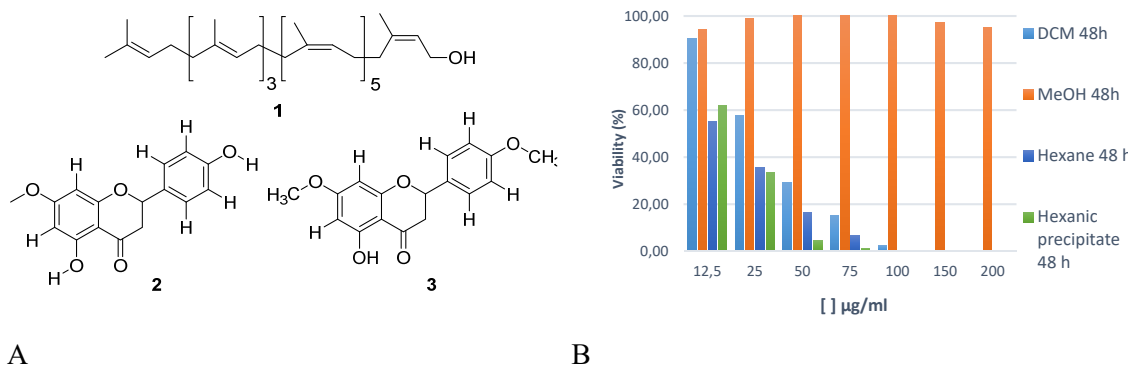


Figure 1. (A) Compounds (**1-3**) isolated from *Heliotropium arborescens* and (B) viability assay results for different extracts.

Acknowledgements. We thank "Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3" and "Ministerio de Economía y Competitividad" (Project CTQ2015-70724-R) for financial support.

¹ N. Goyal, S.K. Sharma, *Int. J. Green Pharm.*, **2014**, 8(4), 217-225.

² G.D. Pamplona-Roger, *Encyclopaedia of medicinal plants*. 4th Ed. Safeliz, Madrid, **2004**, pp. 713.

³ J. Pérez-Vega, L. Olivera-Castillo, J.T. Gómez-Ruiz, B. Hernández-Ledesma, *J. Funct. Foods*, **2013**, 5, 869-877.

CRISTALIZACIÓN DEL DOMINIO GYF

J. Gallardo-Reche, M. Andújar-Sánchez, C. Andújar-Sánchez, A. Cámara Artigas y E. Ortiz Salmerón

Departamento de Química y Física, Facultad de Ciencias Experimentales, Campus de Excelencia Internacional en Agroalimentación (ceiA3), Centro de Investigación en Agrosistemas Intensivos Mediterráneos y Biotecnología Agroalimentaria (CIAMBITAL) Universidad de Almería, E04120 Almería (España); jgr856@inlumine.ual.es

Los dominios GYF (Glycine-Tyrosine-Phenylalanine) forman parte de la familia de dominios modulares que reconocen secuencias ricas en prolina¹. Estos constituyen modelos apropiados para el estudio del plegamiento de proteínas por ser dominios monoméricos de pequeño tamaño y estructuralmente independientes. En estos dominios, se conserva la secuencia W-X-Y-X₆₋₁₁-GPF-X₄-M-X₂-W-X₃-GYF que es el sitio candidato de interacción con los péptidos ricos en prolina. La estructura del dominio GYF de humano se conoce a partir de técnicas de resonancia magnética nuclear (RMN)² y muestra una topología $\beta\beta\alpha\beta\beta$ con las cadenas β en lámina antiparalela. El análisis estructural y la comparación de secuencia de aminoácidos clasifican a los dominios GYF en varias subclases. Nosotros hemos estudiado el dominio GYF-CD2BP2³. Estudios previos de caracterización termodinámica⁴ realizados por nuestro grupo en este dominio muestran valores inusualmente elevados de entalpía, entropía y capacidad calorífica. Una explicación para estos resultados es el posible efecto de las moléculas de agua en el proceso de plegamiento del dominio GYF debido a la cantidad extra de enlaces de hidrógeno que aportarían las moléculas de agua incrustadas en el estado plegado del dominio GYF-CD2BP2. La información estructural obtenida a partir de técnicas de RMN no permite la determinación de la estructura del solvente asociado con la proteína. Para poder determinar la influencia de las moléculas de agua en la estructura del dominio GYF hemos iniciado el proceso para la determinación estructural mediante cristalografía de rayos X, técnica que a la adecuada resolución proporciona una información precisa del disolvente. Para ello, lo primero es obtener una proteína con un elevado nivel de pureza y monodispersa, por lo que el objetivo principal del trabajo que se presenta es primero purificar para luego cristalizar el dominio GYF-CD2BP2. De la purificación de la proteína, expresada en Ecoli en el vector pTFT74, se han obtenido 40 mg por litro de cultivo con un nivel de pureza adecuado para afrontar su cristalización. Las pruebas de cribado han proporcionado dos condiciones que producen monocristales, si bien se está trabajando actualmente en la mejora del tamaño y calidad de los mismos.

Agradecimientos: Esta investigación ha sido financiada por el Ministerio de Economía y Competitividad (España) y FEDER (EU) [BIO2016-78020-R]. Este trabajo ha sido realizado por miembros del grupo de investigación BIO328, Estructura de proteínas, perteneciente a la Junta de Andalucía (España).

¹ M. Kofler, C. Freund, *FEBS Journal*. **2006**, 273, 245-256.

² C. Freund, V. Dotsch, K. Nishizawa, E.L. Reinherz, G. Wagner, *Nature Structural Biology*. **1999**, 6, 656-660.

³ M. Kofler, K. Heuer, T. Zech, C. Freund, *Journal of Biological Chemistry*. **2004**, 279, 28292-28297.

⁴ M. Andújar Sánchez, E. Sánchez-Cobos, I. Luque, J.C. Martínez, *The Journal of Physical Chemistry B*. **2012**, 116, 7168-7175.

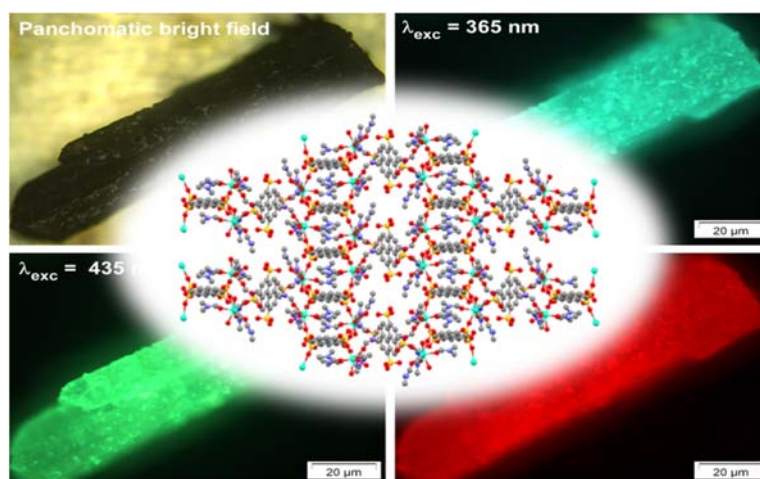
NUEVO MOF BASADO EN DISPROSIO Y PYRENE-1,3,6,8-TETRASULFONIC CON INTERESANTES PROPIEDADES MAGNÉTICAS Y LUMINISCENTES

A. García-García¹, I. Oyarzabal², J. Cepeda², J.M. Seco², A.A. García-Valdivia¹, A. Salinas-Castillo³ y A. Rodríguez-Diéguez¹

¹Departamento de Química Inorgánica, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, 18071, Granada. ²Departamento de Química Aplicada, Facultad de Química, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, UPV/EHU, 20018, San Sebastián; ³Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, 18071, Granada; amaliagarcia@correo.ugr.es

Los polímeros de coordinación se definen como estructuras extendidas en 1, 2 o 3 direcciones, formadas por la unión, mediante enlaces de coordinación, de centros metálicos y ligandos orgánicos¹; concretamente, y según la IUPAC, un MOF (o Metal-Organic Framework) es aquel polímero de coordinación bi- o tri-dimensional potencialmente poroso.

Esta familia de compuestos tiene un gran interés, ya que gracias a la amplia selección de metales y los infinitos ligandos disponibles, podemos dirigir la síntesis hacia la formación de MOFs multifuncionales, aunando en un mismo compuesto las propiedades luminiscentes, magnéticas, catalíticas, etc., que nos interesen.



Por ello hemos sintetizado un nuevo MOF basado en iones de Dy(III) y ligandos orgánicos de pyrene-1,3,6,8-tetrasulfonic (*pytet*)⁴⁻, mediante un método hidrotermal suave. Este compuesto presenta relajación lenta de la magnetización y propiedades fotoluminiscentes en estado sólido a temperatura ambiente.²

Agradecimientos: Junta de Andalucía, Proyecto de Excelencia P12-FQM-1484.

¹ H. Li, M. Eddaoudi, M. O'Keeffe, O. M. Yaghi, *Nature* **1999**, *402*, 276.

² A. García-García, I. Oyarzabal, J. Cepeda, J. M. Seco, A. A. García-Valdivia, S. Gómez-Ruiz, A. Salinas-Castillo, A. Rodríguez-Diéguez, *CrystEngComm* **2017**

DISEÑO DE IMANES MOLECULARES Y/O FOSFORESCENTES BASADOS EN 1-METILIMIDAZOL-5-CARBOXILATO Y METALES DE TRANSICIÓN

A. A. García-Valdivia^a, J. M. Seco,^b J. Cepeda,^b A. Rodríguez-Diéguez^a

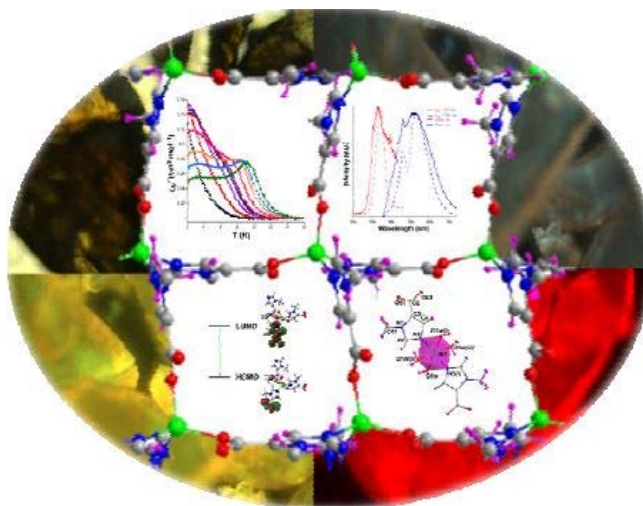
a) Departamento de Química Inorgánica, Universidad de Granada, 18071, Granada, España.

*b) Departamento de Química Aplicada, Facultad de Química, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, UPV/EHU, 20018, San Sebastián, España.
antonioandresgarval@correo.ugr.es*

Se ha reportado la caracterización estructural, magnética y fosforescente de 4 nuevos compuestos basados en el ligando 1-metilimidazol-5-carboxilato (mimc) y diferentes metales de transición. Dichos compuestos son $\text{Ni}(\text{mimc})_2(\text{H}_2\text{O})_4$ (1), $[\text{Co}(\mu\text{-mimc})_2]_n$ (2), $\{[\text{Cu}_2(\mu\text{-mimc})_4(\text{H}_2\text{O})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}\}_n$ (3) y $[\text{Cd}(\mu\text{-mimc})_2(\text{H}_2\text{O})]_n$ (4). Su diversidad estructural deriva de la versatilidad de coordinación del ligando, capaz de actuar tanto como ligando terminal formando una red supramolecular de entidades monoméricas (1) como de ligando puente para formar un polímero de coordinación 2D isorecticular (2, 3 y 4).

Se han realizado medidas de susceptibilidad magnética en los compuestos (1, 2 y 3) para analizar la interacción entre los centros paramagnéticos, lo cual ha sido apoyado por cálculos basados en Broken Symmetry (BS) y Density Functional Theory (DFT). La dependencia de la temperatura de la susceptibilidad y magnetización del compuesto (2) es indicativo de un plano simple de anisotropía que involucra un estado fundamental bi-estable. Las curvas de susceptibilidad de corriente alterna (ac) muestran que ocurre un comportamiento de ión magnético inducido por debajo de 14 K, cuando se aplica un campo de corriente continua externa (dc), caracterizado por 2 procesos de relajación de spin activados térmicamente regidos por anisotropía transversal.

Un exhaustivo análisis de fosforescencia del compuesto (4) en estado sólido confirma que la emisión verde fosforescente a baja temperatura con tiempos de vida en el rango de 0,25-0,43 s explica el resplandor de aproximadamente después de la eliminación de la fuente de UV. Los cálculos computacionales DFT han sido utilizados para describir con precisión el rendimiento fosforescente.



Agradecimientos. A la Junta de Andalucía por el Proyecto (FQM-1484)

IN VITRO ANTITUMORAL ACTIONS OF ARACHIDONIC AND DOCOSAHEXAENOIC ACIDS ON HT-29 COLORECTAL CANCER CELL LINE

M. J. González-Fernández¹, R. P. Ramos-Bueno¹, D. Fabrikov¹, J. L. Guil-Guerrero¹, M. A. Rincón-Cervera², N. Bandarra³

¹*Food Technology Division, University of Almería, Almería (Spain)*

²*Institute of Nutrition and Food Technology, University of Chile (Santiago, Chile)*

³*Portuguese Institute of the Sea and the Atmosphere, Lisbon (Portugal)*

mgf523@inlumine.ual.es

Colorectal cancer development can be partially prevented by diet, while certain natural compounds such as fatty acids (FA), which can be easily supplied through the diet, represent ideal candidates as chemopreventive agents¹. Triacylglycerols (TAG) containing beneficial FAs located in the *sn*-2 position could be considered functional nutrients of great interest². In the metabolism of lipids in humans, the FA esterified in the *sn*-2 position remains unreacted, being absorbed by the intestinal mucosa as monoacylglycerol (2-MAG), which are highly bioavailability for metabolic needs. Moreover, recent studies showed that both 2-MAGs and free FAs (FFAs) exercise specific inhibitory actions on cancer cells through different mechanisms^{3,4}. The aim of this study was to compare the antitumor effects of arachidonic acid (ARA, 20:4n6) and docosahexaenoic acids (22:6n3), as 2-MAG and FFA, on the HT-29 colorectal cancer cell line by means of the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) test, which is a sensitive and quantitative colorimetric method, to measure cell survival and proliferation.

Briefly, MAGs based on arachidonic (ARA, 20:4n6) and docosahexaenoic (DHA, 22:6n3) acids derived from ARASCO[®] and DHASCO[®] oils, respectively, were located at the *sn*-2 position of the glycerol backbone and were purified by means of enzymatic hydrolysis reaction and subsequent chromatography processes using an open chromatography column⁵. Also, FFAs based on ARA and DHA were purified by a chromatography processes⁶. After that, both were tested by the MTT test in cancer cells at 48 and 72 hours. Analyses were made by measuring the absorbance at 570 nm on an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) plate reader⁷. The output of the MTT analyses reveal that all the acyl species assayed showed concentration-dependent inhibitory effects on HT-29 cell proliferation. Being the MAGs, the compound more cytotoxic. Higher values of cell growth inhibition were exerted by *sn*-2 MAGs based on DHA derived from DHASCO[®] oil, showing IC₅₀ values below 50 µg·mL⁻¹. Followed by ARA-MAG with IC₅₀ of 49.87 µg·mL⁻¹. ARA- and DHA-FFA inhibited up to 50% with higher concentrations.

According to this study, it can be concluded that both ARA- and DHA-based MAG were most effective than their respective FFAs for preventing HT-29 colon cancer cells proliferation. Then, such MAGs could be considered as new functional ingredients with health interest.

¹ S. Larsson, M. Kumlin, M. Ingelman-Sundberg, A. Wolk. *Am J Clin Nutr* **2004**; 79, 935–945.

² M. Ramírez, L. Amate, A. Gil. *Early Hum Dev* **2001**; 65, 95-101.

³ M.A. Rincón-Cervera, I. Rodríguez-García, J.L. Guil-Guerrero. *J Am Oil Chem Soc* **2009**; 86, 605-609.

⁴ L. Fini, G. Piazza, C. Ceccarelli, Y. Daoud, A. Belluzzi, A. Munarini, G. Graziani, V. Fogliano, M. Selgrad, M. Garcia, A. Gasbarrini, R. Genta, R. Boland, L. Ricciardiello. *Clin Cancer Res* **2010**; 16, 5703-5711.

⁵ M.J. González-Fernández, R.P. Ramos-Bueno, I. Rodríguez-García, J.L. Guil-Guerrero. *Biochimie* **2017**; 139, 107-114.

⁶ L. Vázquez, C. Akoh. *J Am Oil Chem Soc* **2011**; 88, 1775–1785.

⁷ P.R. Twentyman, M. Luscombe. *Brit J Cancer* **1987**; 56, 279-285

INDUCCIÓN, PURIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA HISTIDINASA DE *Geobacillus kaustophilus*

A. Hernández-Zanoletty, J. M. Clemente-Jiménez y F. J. Las Heras-Vázquez

Departamento de Química y Física, Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Almería, CP 04120 Almería (España); alba.zanoletty@gmail.com

Los estudios bioquímicos de caracterización de proteínas requieren una gran cantidad de las mismas, pero en la naturaleza, no se encuentran en tan elevada proporción. Una posible solución es la utilización de proteínas recombinantes.

En este trabajo conseguimos purificar y caracterizar la enzima Histidinaso Amonio Liasa (HAL)¹, del organismo *Geobacillus kaustophilus*, mediante la sobreexpresión del gen *hal* clonado en el plásmido pJMC93. Las células utilizadas como hospedadoras del plásmido fueron de *Escherichia coli*.

La enzima HAL es una de las transaminasas que participan en la degradación de L-Histidina a Glutamato.² Esta degradación se lleva a cabo siguiendo la reacción propuesta en la Figura 1, dando lugar a ácido *trans*-urocánico y NH₃, estando la reacción muy desplazada hacia la formación del ácido. La enzima HAL elimina el grupo α -amino produciendo ácido *trans*-urocánico α , β -insaturado.

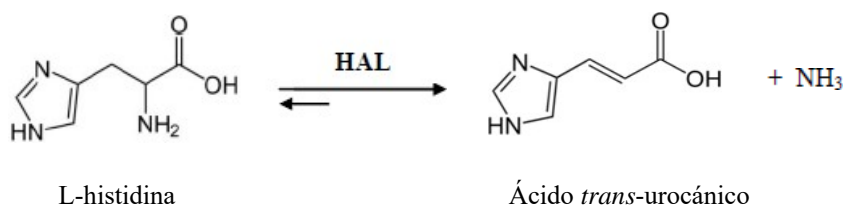


Figura 1. Reacción propuesta para la enzima HAL con los intermedios de reacción L-histidina y ácido *trans*-urocánico.

Tras el proceso de inducción y purificación, obtuvimos una cantidad de 19,21 mg·L⁻¹ de proteína de cultivo bacteriano. Determinamos el tamaño del monómero de HAL mediante electroforesis en “condiciones desnaturalizantes”, siendo 53,36 kDa. Establecimos su temperatura óptima de reacción en 60 °C, pH óptimo en tampón dietanolamina 100 mM (pH 8,5) y evidenciamos una elevada estabilidad térmica de la enzima, tras distintas horas de incubación. También determinamos las constantes cinéticas Km (constante de Michaelis-Menten) con un valor de 1,076 mM, la Vmáx (Velocidad máxima) de 0,302 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ y la actividad específica de 0,0147 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ proteína.

¹ Seff, A.; Pilbák S.; Silaghi-Dumitrescu, I.; Poppe, L. “Computational investigation of the histidine ammonia-lyase reaction: a modified loop conformation and the role of the zinc (II) ion”. Springer-Verlag, **2010**, *17*, 1551–1563.

² Murray, R.K.; Bender, D.A.; Botham, K.M.; Kennelly, P.J.; Rodwell, V.W.; Weil P.A. “HARPER Bioquímica ilustrada” 28ª Edición. Editorial McGraw-Hill. México. **2010**. ISBN: 978-607-15-0304-6.

SIMULTANEOUS ANALYSIS OF ALOIN A AND B IN PRODUCTS CONTAINING ALOE VERA BY ULTRA-HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY-TANDEM MASS SPECTROMETRY

M. L. Jiménez-Medina, J. A. Martínez-Martínez, R. Romero-González, A. Garrido-Frenich

Research Group "Analytical Chemistry of Contaminants", Department of Chemistry and Physics, Research Centre for Agricultural and Food Biotechnology (BITAL), University of Almeria, Agrifood Campus of International Excellence, ceiA3, E-04120 Almeria (Spain); mjm696@inlumine.ual.es

Aloe vera L. is a perennial plant with turgid green leaves joined at the stem in a rosette pattern. In the last years it has been widely cultivated due to its therapeutic properties as purgative and to treat skin disorders. These benefits are related to the presence of a huge amount of bioactive compounds belonging to polysaccharides and anthraquinone derivatives. In the food industry, *Aloe vera* has been used a resource of functional food, especially for the preparation of health food drinks.

Currently the main marker used for quality control of aloe-based products is aloin, an anthraquinone glycoside that is a mixture of two diastereomers, aloin A and B, having different bioactivities.

There are pharmacological studies that have shown that the consumption of aloin-containing products can cause chronic or acute adverse reactions such as abdominal pain, electrolyte disturbances and hepatitis¹ and the International Aloe Science Council (IASC) recommends that the aloin concentration should be lower than 10 mg/L.

Although there are different methods to determine Aloin A and B in aloe-based products using liquid chromatography (LC), most of them utilize traditional detectors as UV or photodiode array detection (PAD)², exhibiting some drawbacks as longer analysis time, higher detection limits and lack of confirmation of the identity of the target compounds.

Therefore, the aim of this study is the development of a fast and reliable method based on ultra-high performance liquid chromatography coupled to triple quadrupole tandem mass spectrometry (UHPLC-QqQ-MS/MS) for the simultaneous determination of Aloin A and B in aloe-based drinks. Chromatographic conditions (stationary phase, mobile phase composition, gradient profile, etc...) were evaluated obtaining better results using as mobile phase an aqueous solution of ammonium formate (0.1 M) and methanol as organic phase, with a total running time of 8 min, including reequilibration of the stationary phase. MS/MS parameters were also studied, monitoring the compounds in negative ion mode, using 4 product ions (1 for quantitation purposes and 3 for confirmation). Lower limits were also evaluated and for both compounds limit of quantification (LOQ) was set at 5 µg/L, and relative standard deviation was lower than 10 %. The method was applied to aloe-based drinks and concentrations of Aloin A ranged from < LOQ to 1800 µg/L whereas for Aloin B, they ranged from < LOQ to 1500 µg/L.

¹ P. N. Brown, R. Yu, C. H. Kuan, J. Finley, E. M. Mudge, S. Dentali, *J. AOAC Int.* **2014**, *97*, 1323-1328

² K. Logaranjan, T. Devasena, K. Pandian, *Am. J. Anal. Chem.* **2013**, *4*, 600-605

THE APPLICATION OF SILICIC MATERIALS TO THE ADSORPTION OF PESTICIDES IN ENVIRONMENTAL WATER

L. Kharbouche^{a,b}, M. D. Gil García^a, H. Hadj^b, M. Martínez-Galera^a

^a*Departamento de Química y Física, Universidad de Almería, España*

^b*Department of Chemistry, University of Oran 1 Ahmed Ben Bella, Algeria
llilasse31@live.fr*

The confinement of molecules or particles at the nanoscopic scale requires the manufacture of host materials with confinement sites, which means sites having a size close to that of the system to insert. This type of material is now relatively common and two families monopolize the interest, namely mesoporous silica and carbon nanostructures.

In accordance with the IUPAC classification¹, materials with a diameter in the range of 2 to 50 nm are considered to be mesoporous solids. Among them, inorganic periodic mesoporous silica materials have attracted considerable attention to design nanometric architectures by applying bottom-up strategies since their discovery in 1992. These materials are chemically, mechanically and thermally stable and exhibit a high surface, as well as small pore sizes and regular pore arrangements. Many of these highly ordered powder materials have been produced in basic or acidic media and vermicular-like phases have been prepared under neutral conditions, still having uniform pore size.

In this work we have carried out the synthesis of a mesoporous material called MSU, its characterization and the study of adsorption towards pesticides in aqueous media. The MSU material was used as a solid sorbent for the preconcentration of pesticides in environmental water (ground and surface waters) and they were determined by liquid chromatography coupled to triple quadrupole-mass spectrometry (LC-QqQ-MS/MS). The main factors affecting the retention of target pesticides into the sorbent (amount of sorbent, sample pH, salt content and organic modifier) were optimized. Organic solvents of different polarity (acetonitrile, methanol, n-hexane and ethyl acetate) were studied in order to achieve the full desorption of the retained analytes into the sorbent.

Next, to determine the applicability of the optimized method to the analysis of the target compounds in real water samples, the method was validated in terms of the limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), linearity, matrix effect (ME), accuracy (recovery) and precision (expressed as RSD). To overcome the ME found in real samples, the pesticides were quantified by the standard addition method and the recoveries found for all of them were ranged from 70 to 120 % with RSD lower than 20%. Finally, eight water samples were analyzed by the developed method and a pesticide (penconazole) was found in one of the surface samples (river water).

It can be noted that this new sorbent provided excellent pre-concentration performance, showing recoveries comparable to or better than the ones obtained using conventional SPE, especially for the most polar pesticides that are difficult to preconcentrate². In addition, it is interesting to take into account the lower cost of the synthesized sorbents compared with commercial cartridges.

¹ Manual of Symbols and Terminology, Appendix 2, Colloid and Surface Chemistry, *Pure Appl. Chem.* **1972**, *31*, 578

² M.D. Gil García, S. Dahane, F.M. Arrabal-Campos, M.M. Socías Vicianá, M.A. García, I. Fernández, M. Martínez Galera, *Microchem. J.* **2017**, *134*, 181–190

DEGRADATION STUDY OF QUIZALOFOP-P AND ITS COMMERCIAL PRODUCTS IN SOILS APPLYING ANALYTICAL STRATEGIES BASED ON ULTRA-HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY COUPLED TO HIGH-RESOLUTION MASS SPECTROMETRY

R. López-Ruiz, R. Romero-González, J. L. Martínez-Vidal, A. Garrido-Frenich

*Research Group “Analytical Chemistry of Contaminants”, Department of Chemistry and Physics, Research Centre for Agricultural and Food Biotechnology (BITAL), University of Almeria, Agrifood Campus of International Excellence, ceiA3, E-04120 Almeria, Spain.
rlr468@ual.es*

In this study an analytical strategy that combines a target approach for the quantitative analysis of the degradation of quizalofop-p and related compounds with a comprehensive post-target screening for the identification of unknown metabolites has been proposed. For that purpose, ultra high performance liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry (UHPLC-Orbitrap-MS) has been used.

Quizalofop-p and related compounds like quizalofop-p-ethyl, propaquizafop, quizalofop-p-terfuryl and metabolites or degradation products as CHHQ (dihydroxychloroquinoxalin), CHQ (6-chloroquinoxalin-2-ol), PPA ((R)-2-(4-hydroxyphenoxy)propionic acid) and 2,3-dihydroxyquinoxaline were monitored.¹ A fast and simple extraction procedure based on QuEChERS methodology was used. Acidified water (0.1 M chlorhydric acid) was added to the samples and acidified acetonitrile (1% acetic acid, v/v) was used as extraction solvent. Magnesium sulfate and sodium chloride were used as salts and dispersive solid phase extraction was needed as clean-up step, utilizing C18 as sorbent.

For mass spectrometry analysis, the full scan accurate mass data were acquired with a resolving power of 100,000 FWHM, in both ESI+ and ESI- modes, and with and without HCD-fragmentation.

Commercial products (Panarex®, Master-D® and Dixon®) were used to evaluate the degradation of the target compounds in soil.

Post-target screening approach was also utilized, applying a customized theoretical database for the identification of unknown metabolites of quizalofop. For identification purposes, accurate exact mass with mass error lower than 5 ppm, and diagnostic ions including isotopes and/or fragments were used. The analytical strategy was applied to 60 samples of two types of soils (sandy loam and clay), and commercial plant protection products of quizalofop (Dixon®, Master-D®, Panarex®) were applied to these samples at two doses. Samples were collected and analyzed at 1,7,15,30,50 and 80 days after application of the commercial products. It was observed that the concentration of main active substance, quizalofop-p-ethyl (Master-D®), quizalofop-p-terfuryl (Pantera®) or propaquizafop (Dixon®), decreased during the degradation studies whereas the concentration of quizalofop-p increased. Some degradation products as PPA, CHHQ and CHQ were detected but at concentrations below the limit of quantification.

¹ EFSA (European Food and Safety Authority), *Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance quizalofop-P (considered variants quizalofop-P-ethyl and quizalofop-P-tefuryl)*, *EFSA Sci. Rep.* **2008**, 205, 1–216.

ALLYLATIONS AND PROPARGYLATIONS OF ALDEHYDES PROMOTED BY DICHLOROCYCLOPENTADIENYL TITANIUM(III)

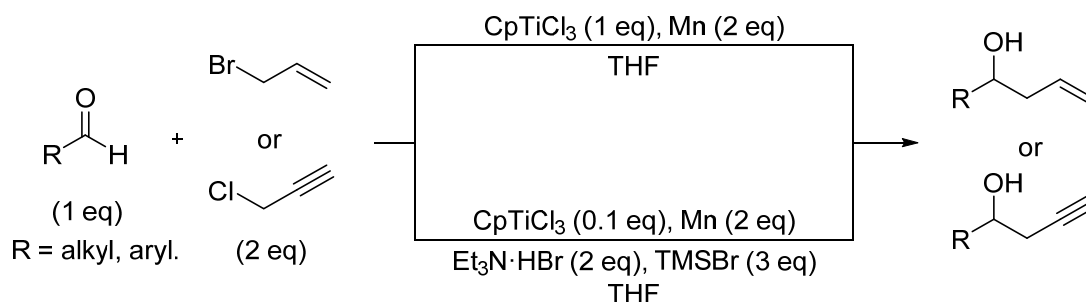
J. L. López-Martínez, I. Torres-García, M. Álvarez-Corral, M. Muñoz-Dorado, I. Rodríguez-García

*Department of Chemistry and Physics, ceiA3, University of Almería
E04120 Almería (Spain); pepaloma91@hotmail.com*

The development of methods for the formation of new C-C bonds remains an area of interest within organic chemistry. However, the desired levels of selectivity, efficiency and sustainability have not been reached yet. The Nugent reagent (Cp_2TiCl) has the ability to promote and/or catalyze several efficient transformations, under mild reaction conditions, in the presence of a wide range of functional groups, in an environmentally friendly manner and using simple experimental procedures.¹ For this reason, it has found wide application in the synthesis of complex multifunctional molecules, mainly natural products and related compounds useful in pharmacology.² We report here our studies on the reactivity of the monoelectronic transfer agent (SET) CpTiCl_2 , directed towards the formation of C-C bonds through processes of allylation or propargylation of aliphatic and aromatic aldehydes.



In this way, we have developed two methods to carry out this type of reactions, one using stoichiometric amounts of this new monoelectronic transfer agent (CpTiCl_2) and another one employing catalytic amounts. Allylation and propargylation reactions of aldehydes with allyl bromide or propargyl chloride, respectively, have provided efficiently the corresponding homoallyl and homopropargyl alcohols (Scheme 1).



Scheme 1. General reaction scheme for allylations and propargylations of aldehydes.

Acknowledgements. We thank "Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3" and "Ministerio de Economía y Competitividad" (Project CTQ2015-70724-R) for financial support.

¹ M. Castro-Rodríguez, I. Rodríguez-García, R.N. Rodríguez-Maecker, L. Pozo-Morales, J.E. Oltra, A. Rosales, *Org. Process Res. Dev.* **2017**, *21*, 911–923.

² N.M. Padiál, E. Roldan-Molina, A. Rosales, M. Álvarez-Corral, I. Rodríguez-García, M. Muñoz-Dorado, J.E. Oltra, in "Stereoselective Synthesis of Natural Products Promoted by Titanocene (III)" *Studies in Natural Products Chemistry*, Atta-ur-Rahman (Ed.), Vol. 55. Elsevier, Amsterdam, **2017**.

DEVELOPMENT OF A MULTIRESIDUE METHOD FOR THE ANALYSIS OF ANTIBIOTICS IN WASTEWATER EFFLUENTS BY LC-QqLIT-MS/MS

**A. Lorenzo, M. C. Campos-Mañas, P. Plaza-Bolaños, J. A. Sánchez-Pérez,
A. Agüera**

*Solar Energy Research Centre (CIESOL), Joint Centre University of Almería-CIEMAT,
University of Almería,
E04120 Almería (Spain); alf052@ual.es*

Several studies have proven that antibiotics are continuously being released into surface water by wastewater treatment plants (WWTPs). This have become a problem of global concern since their presence in water leads to the generation of antibiotic resistant bacteria and consequently endangers their effectiveness^{1,2}. Therefore, the development of fast and sensitive analytical methods to monitor the persistence of such antibiotics in environmental commodities is necessary^{3,4}.

In this work, a multiresidue analytical method for the determination and quantification of antibiotics from different classes (including macrolides, quinolones, fluoroquinolones and sulfonamides) in urban wastewater influent (IWW) and effluent (EWW) samples was applied. Samples were concentrated using off-line solid-phase extraction (SPE) prior to their analysis using liquid chromatography coupled to hybrid triple quadrupole-linear ion trap mass spectrometry (LC-QqLIT-MS/MS).

Quantification of the antibiotics was carried out by matrix-matched calibration. The obtained recoveries ranged from 62 to 99% and from 59 to 98 for the majority of the analysed compounds at 100 and 500 ng L⁻¹, respectively, with relative standard deviation (RSD) values that were typically lower than 23% ($n=3$). The developed analytical method was successfully applied to the identification and quantification of antibiotics in 5 IWW and EWW samples from an urban WWTP in Almería (Southeastern Spain). Samples were taken monthly so the results corresponded to a 5-months monitoring. Several antibiotics were found in EWW samples at concentrations in the range from 6 ng L⁻¹ (azithromycin) to 251 ng L⁻¹ (levofloxacin). Considering the frequency of detection, azithromycin, sulfamethoxazole, sulfapyridine and levofloxacin were detected in all samples (IWW and EWW).

The application of the method to the analysis of real IWW and EWW samples demonstrates that the effectiveness of the treatments used in the monitored WWTP is insufficient to remove antibiotics and avoid their release into the environment.

Acknowledgements. The authors gratefully acknowledge the financial support by the Ministry of Economy and Competitiveness of Spain (Ref. CTQ2016-78255-R) and the European Regional Development Fund (ERDF). M.C. Campos-Mañas is grateful for her pre-doctoral grant from University of Almería. P. Plaza-Bolaños acknowledges for personal funding through the Hipatia Program (University of Almería).

¹I. T. Carvalho, L. Santos, *Environment International*, **2016**, 94, 736-757.

²J. Bengtsson-Palme, D. G. J. Larsson, *Environment International*, **2016**, 86, 140-149.

³J. Rossmann, S. Schubert, R. Gurke, R. Oertel, W. Kirch, *Journal of Chromatography B*, **2014**, 969, 162-170.

⁴I. Tlili, G. Caria, B. Ouddane, I. Ghorbel-Abid, *Science of The Total Environment*, **2016**, 563-564, 424-433

VALIDATION OF PESTICIDES IN HORTICULTURAL LEAVES

**M. V. Manzano-Blanes¹, A. Belmonte Vega¹, M. Mezcua-Peral¹,
A. R. Fernández-Alba²**

¹*Labcolor-Coexphal. Departamento de residuos de plaguicidas, C/ Esteban de Murillo, 3 0476 La Mojonera, Almería (España); mvictoria@coexphal.es*

²*Departamento de Química y Física, Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Almería, 04120 Almería (España);*

Monitoring of pesticides residues in horticultural leaves allows controlling the correct use of pesticides in accordance to good agricultural practices for conventional, integrated or ecological production. There exists a wide variety of pesticides traditionally applied on agricultura. Nevertheless, the EU legislation has banned the use of a large number of them which, even if applied in an approved manner, could harm the human health or the environment. In the case of Integrated Pest Management (IPM) and ecological agricultura the use of pesticides is much more restricted. Non-authorized compounds may go unnoticed in fruits, among other things, due to low initial concentrations and/or their decline by dilution effect by fruit growth or compound degradation into products of potencial toxicological concern. Specific monitoring programs for control of non-authorized pesticides can be applied on vegetables leaves. That is a consequence of the lower “natural” dilution of this part of the plant than in fruits and the leaves higher absorption capabilities that can facilitate the detection. However, analysis of pesticides multi-residue in leaves is usually difficult due to matrix interferences.

Literature survey reveals lack of a suitable cost effective multiresidue method for trace-level quantification of pesticide residues in leaves matrix by LC-MS/MS.

Nowadays, there is a growing demand for high-throughput multiresidue methods (MRMs), which should be easy to perform, rapid and of low cost, require a minimum volumes of solvents, provide a high selectivity without complicated clean-up solutions, and allow analysing broad range of analytes

The main objective of this work was the development and validation of a simple and rapid method for the determination of pesticides residues in horticultural leaves. The method was based on the application of QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective and Safe) extraction followed by dispersive solid phase extraction (d-SPE) for clean up. The analysis were performed by ultra high liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS). QuEChERS method is a very wellknown procedure that has been successfully applied to the extraction of pesticides from fruits and vegetables. However, its application to leaves samples requires thorough clean up steps to overcome the undesirable matrix effects and thus improve the efficiency of analyses. With this aim, several dispersive solid phase extraction clean-up sorbents were tested. A combination of anhydrous magnesium sulfate, graphitized carbon black (GCB) and primary-secondary amine (PSA) was the most effective material in terms of matrix effect reduction.

The method was fully validated in terms of linearity, accuracy and precision following the directive UNE-EN ISO/IEC 17025:2005¹.

Acknowledgements. The authors of this work thank the Department of Pesticide Residues of LABCOLOR (Coexphal) and the Department of Chemistry and Physics of the University of Almeria.

¹ UNE-EN ISO/IEC 17025:2005 General requirements for the competence of test and calibration laboratories.

EVALUATION OF THE PRESENCE OF TROPANE ALKALOIDS IN CEREALS AND LEGUME MATRICES USING LIQUID CHROMATOGRAPHY COUPLED TO HIGH RESOLUTION MASS SPECTROMETRY

J. Marín-Sáez, R. Romero-González, A. Garrido-Frenich

Research Group “Analytical Chemistry of Contaminants”, Department of Chemistry and Physics, Research Centre for Agricultural and Food Biotechnology (BITAL), University of Almeria, Agrifood Campus of International Excellence, ceiA3, E-04120 Almeria, Spain; jms485@inlumine.ual.es

Buckwheat and other matrices as soy, linseed and millet are being more consumed because their antidiabetic, hypotension, hypocholesterolemic and hypoglycemic effects¹. However these matrixes can be contaminated with others plants as Solanaceae family plants that have anticholinergic effects². There are more than 200 toxic compounds belonging to tropane alkaloids family, although the most studied are atropine and scopolamine. That is why, EFSA [2] and the European Commission³ recommend the study of a larger range of tropane alkaloids in food matrixes like cereal and legume.

The aim of this study is the development, validation and application of a method that allow the quantification of a larger range of tropane alkaloids in buckwheat, linseed, millet and soy. The tropane alkaloids studied were anisodamine, scopolamine, atropine, littorine, aposcopolamine, homatropine, apoatropine, cuscohygrine, pseudotropine, physoperuvine, tropine, scopoline, tropinone and tropane. For that, a simple solid-liquid extraction was employed, using a methanol:water 0.5% acetic acid (2:1, v/v) mixture as extraction solvent. Then a preconcentration and clean-up stage was used by a strong cation exchange solid phase extraction. The compounds retained in the cartridges were eluted utilizing methanol containing 3% of ammonium hydroxide solution (25%). The extract was evaporated and reconstituted in methanol:water 50:50 (v/v). The analysis was performed by high pressure liquid chromatography coupled to mass spectrometer Orbitrap analyzer (HPLC-MS-Orbitrap). The chromatographic method used two coupled columns to get a suitable chromatographic separation (Zorbax Eclipse Plus C18 and Zorbax Eclipse Plus Hilic).

The method was validated obtaining recoveries in the range of 60-109% (except for some compounds in soy), precision values (expressed as relative standard deviation) lower than 20% and quantification limits lower than 3 µg kg⁻¹. Finally, the method was applied to real samples, obtaining positives samples for buckwheat (below the quantification limits), and millet, detected scopolamine at 23 µg kg⁻¹. Furthermore, samples contaminated with *Datura Stramonium* and *Brugmansia Arborea* were analyzed obtaining concentrations up to 1800 µg kg⁻¹ for atropine in samples contaminated with *Stramonium* seeds.

Acknowledgements. The authors acknowledge Ministry of Economy and Competitiveness (MINECO) and European Regional Development Fund (ERDF) (project ref. CTQ2015-69899-R) the financial support.

¹ K. Christa, M. Soral-Šmietana, *Czech J. Food Sci.* **2008**, *26*, 153-162.

² EFSA, *The EFSA Journal* **2013**, *11*, 3386-3499.

³ The European Commission, *Off. J. Eur. Union*, **2015**, *11*, 97-98.

NEW SALEN TYPE LIGANDS: PREPARATION OF METAL CHELATES

R. Martínez, M. Álvarez-Corral, M. Muñoz-Dorado, I. Rodríguez-García

*Department of Chemistry and Physics, ceiA3, University of Almería. E04120 Almería (Spain)
raquelmartinezmartinez095@gmail.com*

Micronutrient deficiencies in soils are a serious problem in agriculture. One example is chlorosis in plants due to the lack of metal cations. For this reason, there is a growing interest in the preparation of organic ligands able to form stable chelates with metal cations. Their use as fertilizers increases the solubility of the metallic cations.¹

Within this field, three new aromatic ligands (**1-3**) derived from tetrahydrosalen have been prepared in this work. Their efficacy to form complexes with different cations has also been studied.

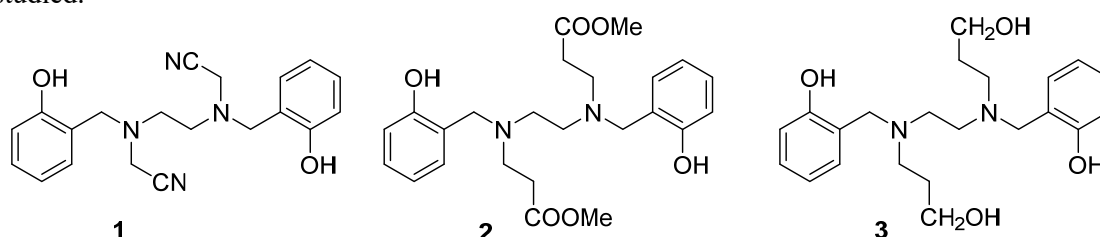


Figure 1. Ligands synthesized in this work.

Two different procedures have been used to confirm the formation of complexes. For Mg^{2+} , Ca^{2+} and Co^{2+} ions, nuclear magnetic resonance measurements have been performed and the chemical shift alteration of the complexes regarding the ligands has been measured.

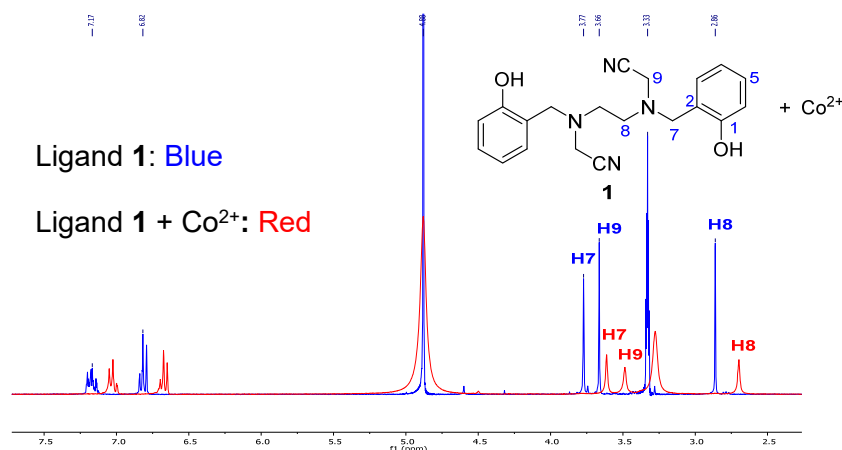


Figure 2. Example of pile ¹H RMN spectra of ligand and complex with Co^{2+}

In the case of the Fe^{3+} ion, one of the complexes formed could be crystallized and a X-ray diffraction analysis has been performed.

Acknowledgements. We thank "Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3" and "Ministerio de Economía y Competitividad" (Project CTQ2015-70724-R) for financial support.

¹ S. López-Rayó, J. Lucena, *J. Agric Food Chem.* **2011**, 59, 13110-13116.

DIFFERENTIATION OF ORGANIC AND CONVENTIONAL TOMATOES BY IRMS ANALYSIS AND NON-TARGETED METABOLOMIC PROFILING USING HRAMS

M. Murcia-Morales, F. J. Díaz-Galiano, M. J. Martínez-Bueno and A. R. Fernández-Alba

*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Experimental Sciences,
Universidad de Almería,
04120 Almería (Spain); maria.murcia@hotmail.com*

In the last decade, the consumption trend of organic food has increased dramatically worldwide. However, the lack of reliable markers to discriminate between organic and conventional products makes this market susceptible to food fraud in products labelled as "organic". Metabolomic fingerprinting approach has been demonstrated as the best option for a full characterization of metabolome occurring in plants, since their pattern may reflect the impact of both endogenous and exogenous factors. In the present study, advanced technologies based on liquid chromatography-high resolution accurate mass spectrometry (LC-HRAMS) has been used for marker search in organic and conventional tomatoes grown in greenhouse under controlled agronomic conditions. The screening of unknown compounds comprised retrospective analysis and data processing using databases. In addition, stable nitrogen isotope analysis ($\delta^{15}\text{N}$) were also assessed as a possible indicator to support discrimination between both production systems using crop/fertilizer correlations. Finally, combined chemometric analysis of HRAMS and $\delta^{15}\text{N}$ data were used to get robust classification models in accordance with the agricultural practices. Principal component analysis (PCA) showed a sample clustering according to farming systems and significant differences in the sample profile was observed for six bioactive components (*L*-tyrosyl-*L*-isoleucyl-*L*-threonyl-*L*-threonine, trilobatin, phloridzin, tomatine, phloretin and echinenone) in organic and conventional tomato samples (Figure 1).

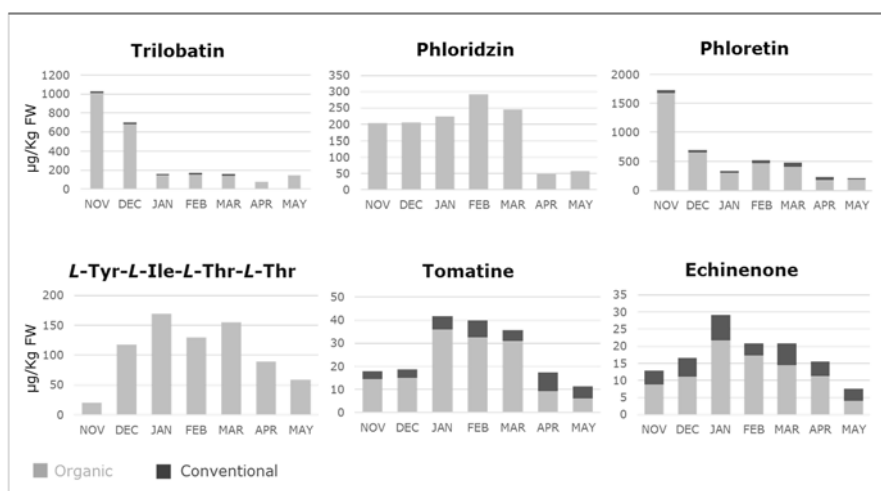


Figure 1. Seasonal trend corresponding to a complete farming campaign for all bioactive compounds identified as markers in organic tomato crops by HRAMS.

Acknowledgements. Thanks to the Marie Skłodowska-Curie Actions for the individual fellowships and "BIOSABOR S.A.T" for assistance with tomato sample production and harvest.

NEW MOLECULAR MAGNETS BASED ON COPPER(II) AND TEMPO

Y. Navarro^a, M. J. Iglesias^a, F. Lloret^{*b}, G. P. Guedes^c and F. López Ortiz^{*a}

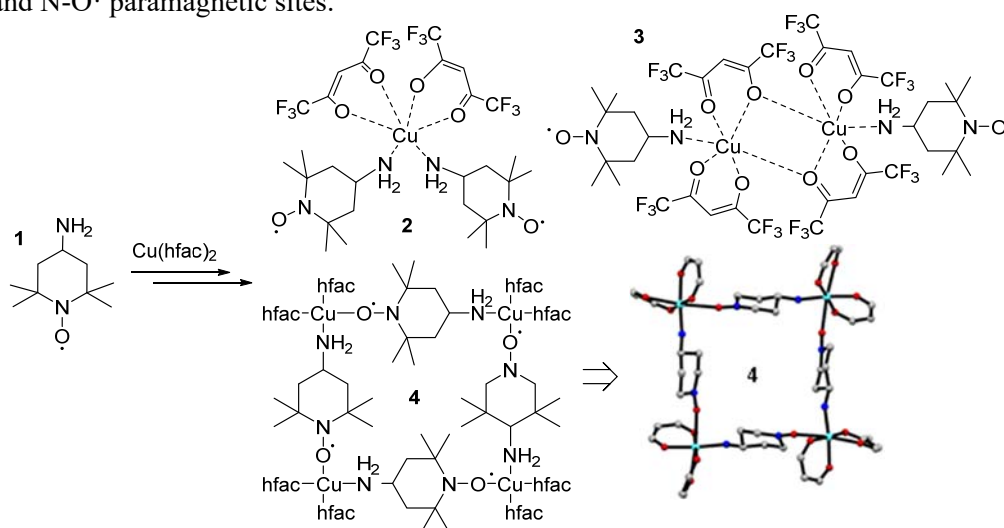
^aÁrea de Química Orgánica, Universidad de Almería, Ctra. Sacramento s/n, 04120, Almería, Spain; email: yng453@ual.es

^bInstitut de Ciència Molecular, Universitat de València, Catedràtic José Beltrán n° 2, 46980 Paterna, Valencia, Spain

^cInstituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 23870-000 Seropédica, RJ, Brazil;

The assembly of TEMPO radicals with pre-formed paramagnetic building blocks as hfac (hexafluoroacetylacetonate) is one of the most successful strategies to build complex systems with relevant magnetic properties. 4-amino-TEMPO is an important member of this family of compounds due to the presence of two coordination centers in the molecule, the NH₂ and N-O· moieties. Three examples of complexes of this compound with [M(hfac)₂], M = Ni^{II}, Cu^{II}, Mn^{II}) have been reported to the date, showing its ability to form interesting structures through metal coordination to both the amino and the nitroxyl groups¹ or only to the NH₂.²

In this work, we report the synthesis, crystal structure and magnetic behaviour of three novel coordination compounds, obtained selectively and in high yields by reaction of 4-amino-TEMPO with Cu(hfac)₂. Single crystal X-ray diffraction data of every complex are available and show 3 singular structures with different coordination modes in the copper ion. In complex **2**, metal is coordinated to two 4-amino-TEMPO and two hfac ligands. Complex **3** is made up two copper atoms, both coordinated to the amino group of a TEMPO and two diketonates in a μ-coordination mode, and **4** is a square shape tetranuclear complex where each copper atom is coordinated to both nitroxide and amine groups of different TEMPO molecules. For all these complexes, magnetic studies were carried out and show ferromagnetic interactions between Cu(II) and N-O· paramagnetic sites.



Acknowledgements. We thank the MICINN and FEDER program for financial support (project: CTQ2014-5715P). YNG thanks MECO for a FPU predoctoral fellowship.

¹ H. Kinoshita, H. Akutsu, J.-I. Yamada and S. Nakatsuji, *Mendeleev Commun.*, **2006**, *16*, 305–306.

² F. Cervantes-Lee and L. C. Porter, *Acta Crystallogr.*, **1991**, *C47*, 2312.

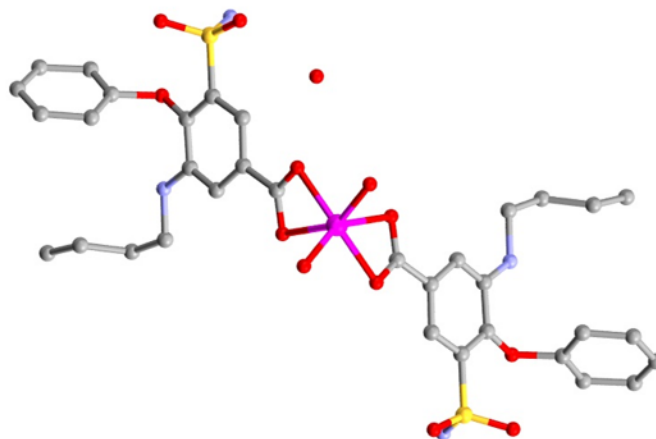
NUEVOS COMPUESTOS DE COORDINACIÓN MULTIFUNCIONALES ANTI-DIABÉTICOS BASADOS EN COBALTO

**A. Navas-Calahorro,¹ I. Oyarzabal,² B. Fernández,¹ J.M. Seco,² J. L. Quiles,³
C. Sánchez-González,³ J. Llopis,³ D. Choquesillo-Lazarte⁴ y A. Rodríguez-Diéguez**

¹ Departamento de Química Inorgánica, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, 18071 Granada, Spain. ² Departamento de Química Aplicada, Facultad de Química, Universidad del País Vasco, San Sebastián, Spain. ³ Departamento de Fisiología, Facultad de Farmacia, Campus Universitario de Cartuja, 18071, Granada, Spain. ⁴ Laboratorio de Estudios Cristalográficos, IACT-CSIC, 18100 Armilla (Granada); arturosantafe@correo.ugr.es

En los últimos años ha aumentado vertiginosamente el interés en el diseño y síntesis de compuestos de coordinación mononucleares debido a la posibilidad de obtener una gran variedad de materiales modulando sus propiedades estructurales y obteniendo, de tal forma, compuestos con interesantes aplicaciones en diversos campos de la ciencia, tales como magnetismo, luminiscencia y aplicación terapéutica.¹ En el campo de la diabetes los iones más usados han sido vanadio, zinc y cobalto, siendo éste último un ión óptimo para el diseño, a su vez, de imanes moleculares debido a la gran anisotropía que presenta este centro metálico.

Por este motivo decidimos sintetizar compuestos de coordinación basados en cobalto empleando, para ello, ligandos orgánicos que fuesen agentes terapéuticos anti-inflamatorios y que tuviesen relación con la diabetes. En esta comunicación presentamos dos nuevos materiales que se han sintetizado empleando los fármacos bumetanida e indometacina.



Agradecimientos: Junta de Andalucía, Proyecto de Excelencia P12-FQM-1484.

¹ M.E. López-Viseras, B. Fernández, S. Hilfiker, C. Sánchez González, J. Llopis González, A.J. Calahorro, E. Colacio and A. Rodríguez-Diéguez, *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2014**, 131, 64.

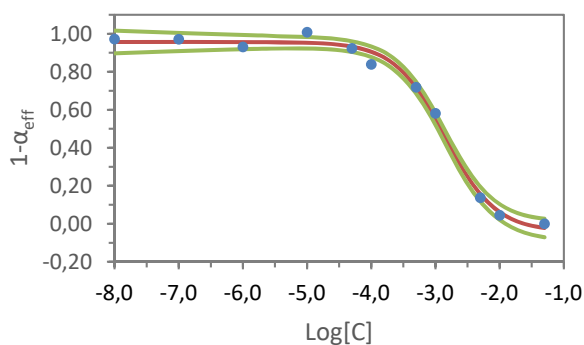
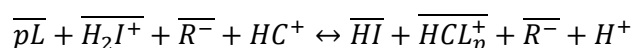
DISPOSABLE SENSOR FOR CREATININE BASED ON NEW IONOPHORE

I. Ortiz-Gómez^a, P. Siles-Fernández^a, A. Salinas-Castillo^a, M. Erenas-Rodríguez^a, T. Guinovart^b, P. Blondeau^b, F. Rius^b, F. J. Andrade^b and L. F. Capitán-Vallvey^a

^aDepartment of Analytical Chemistry, Faculty of Sciences, University of Granada, 18071 Granada (Spain); ^bDepartment of Analytical Chemistry, University Rovira i Virgili, 43007 Tarragona (Spain); lcapitan@ugr.es

Creatinine is a waste byproduct generated by muscle metabolism. A high creatinine concentration is harmful to the cells so a mechanism of excretion to avoid harmful levels is essential to sustain life. Creatinine is transported by blood-stream mostly to the kidneys, where it is filtered out and excreted via urine, so urinary levels are important to evaluate the creatinine clearance¹.

In this work, we have developed an disposable optical sensor for creatinine based on a new ionophore of calix[4]pyrrole type developed by some of us which shows an excellent selectivity for creatinine². The proposed sensor is based on a host-guest recognition of protonated creatinine HC⁺ by the ionophore L, present in a plasticized PVC membrane, which is coupled by electroneutrality condition to the cation exchange of a proton by a lipophilic pH indicator HI acting as a transducer of the recognition event.



The composition of membrane considering the concentration of lipophilic salt, ionophore, lipophilic pH indicator, and plasticizer were optimized as well as the reaction conditions: pH, working buffer and reaction time. Under optimal operating conditions, the calibration function for creatinine extends from $2.6 \times 10^{-5} M$ to $5 \times 10^{-2} M$. The sensor is selective enough towards the common species in urine (urea, creatine, Ca²⁺, K⁺, Na⁺ and NH₄⁺).

Acknowledgements. This study was supported by projects from the Spanish MINECO (CTQ2013-44545-R), Junta de Andalucía (P10-FQM-5974), and the “Fortalecimiento de Grupos” and “Reincorporación de Doctores” Programs.

¹ T. Guinovart, D. Hernández Alonso, L. Adriaenssens, P. Blondeau, F. X. Rius, P. Ballester and F. J. Andrade, *Biosens. Bioelectron.* **2017**, 87, 587-592.

² T. Guinovart, D. Hernández Alonso, L. Adriaenssens, P. Blondeau, M. Martínez Belmonte, F. X. Rius, F. J. Andrade and P. Ballester, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 2435-2440.

ESTUDIOS CRISTALOGRAFICOS DE PLEGAMIENTOS ANÓMALOS DE PROTEÍNAS: EL DOMINIO c-SRC-SH3 COMO MODELO

M. Plaza-Garrido, M^a C. Salinas-García and A. Cámara-Artigas

*Departamento de Química y Física, Facultad de Ciencias Experimentales, CEIA3,
CIAMBITAL, Universidad de Almería, E04120 Almería (España)
marina.plaza.garrido@gmail.com*

Debido al aumento de la esperanza de vida experimentado en el último siglo han surgido como enfermedades emergentes y con un importante número de afectados las llamadas enfermedades neurodegenerativas. Entre ellas podemos encontrar entre otras la enfermedad de Alzheimer o la de Parkinson, enfermedades que constituyen ya un problema de salud importante. Estas enfermedades pertenecen al grupo de aquellas que son causadas por la presencia de depósitos de amiloides que están originados por plegamientos anómalos en determinadas proteínas. Todavía no se han dilucidado cuales son las causas que hacen que, en un momento dado, se produzcan cambios en el plegamiento de una proteína. Para ello es imprescindible obtener información estructural de alta resolución que faciliten el estudio de las interacciones responsables de los plegamientos anómalos, así como aquellos factores que favorecen el proceso y la estabilización de estos agregados. El entrecruzamiento de dominios (3D-DS) está relacionado y es una forma de plegamiento anómalo de las proteínas, pero a diferencia de las fibras amiloides, las proteínas que lo sufren pueden cristalizarse. De esta forma su estructura se puede resolver mediante difracción de rayos X. Nuestro grupo se ha propuesto el estudio de los primeros pasos del plegamiento anómalo de proteínas mediante de un pequeño dominio modular que cumple todas las características para ser una proteína modelo para este propósito: el dominio c-Src-SH3 tirosina quinasa.¹ Recientemente, nuestro grupo ha determinado que este dominio sufre ambos tipos de plegamiento anómalos: dímero entrecruzado y fibras amiloides. Además, nuestros resultados han demostrado que en este dominio ambos procesos dependen del pH y de los residuos presentes en el sitio de nucleación. Nos proponemos examinar si los factores que determinan el plegamiento anómalo de las proteínas residen en determinados lazos bisagra o si están relacionados con los residuos presentes en el sitio de nucleación. Para ello hemos diseñado varias proteínas quimeras basadas en este dominio SH3, donde los lazos RT- y n-Src han sido reemplazados por los presentes en el dominio Fyn y c-Abl-SH3. Los resultados preliminares del dominio Src-Abl SH3, cuyos lazos fueron reemplazados por los presentes en el dominio c-Abl SH3 dieron como resultado un dímero con dos lazos bisagra abiertos.² Previamente hemos demostrado que aquellos factores que parecen afectar a la formación de fibras amiloides también afectan a la formación del dímero entrecruzado. Además, también hemos demostrado una dependencia con el pH en la formación de los oligómeros del dominio c-Src SH3, que puede atribuirse a la protonación de residuos específicos en el sitio de nucleación.

Agradecimientos. Esta investigación la ha realizado el grupo de investigación PAI BIO328 Estructura de Proteínas que cuenta además con financiación del proyecto MINECO y FEDER (EU) [BIO2016-78020-R]. La toma de datos ha sido financiada por una beca BAG de ALBA (Barcelona, España) [BAG-ID 2015071316 y 2016091824].

¹ Camara-Artigas, A., 2016. Crystallographic studies on protein misfolding: Domain swapping and amyloid formation in the SH3 domain. Archives of Biochemistry and Biophysics 602, 116-126.

² Camara-Artigas, A., Martinez-Rodriguez, S., Ortiz-Salmeron, E., Martin-Garcia, J.M., 2014. 3D domain swapping in a chimeric c-Src SH3 domain takes place through two hinge loops. Journal of Structural Biology 186, 195-203.

NEW ANTHRAQUINONE-BASED IRON CATALYST FOR THE HYDROSILYLATION OF CARBONYL COMPOUNDS

A. Raya-Barón,¹ C. P. Galdeano-Ruano,¹ R. López-Ruiz,¹ I. Kuzu,² R. Romero,¹ P. Oña-Burgos,^{1,3} I. Fernández¹

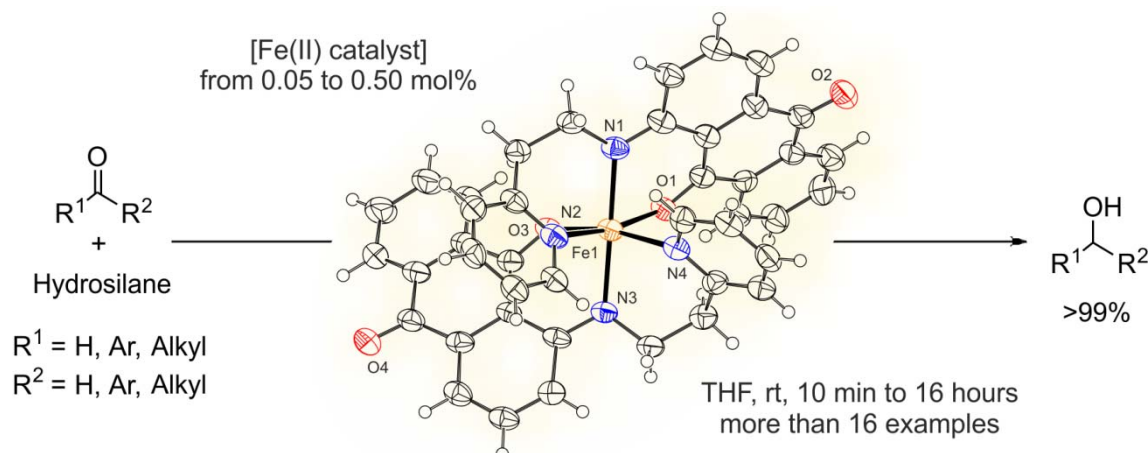
¹ Dpto. Química y Física, Centro Investigación en Biotecnología Agroalimentaria (BITAL), Universidad de Almería, Ctra. Sacramento s/n, E-04120, Almería, Spain.

e-mail: arb082@inlumine.ual.es

² Fachbereich Chemie, Universität Marburg, Hans-Meerwein-Straße 4, 35032 Marburg, Germany

³ Instituto de Tecnología Química, Universitat Politècnica de València-Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Avenida de los Naranjos s/n, 46022 Valencia, España

In this work, we present a new iron(II)-based homogenous catalyst for the reduction of ketones and aldehydes to alcohols via hydrosilylation. Our anthraquinone-based iron complex achieves the complete conversion of different carbonyl substrates in short times with catalyst loadings ranging from 0.05 to 0.50 mol%. The reactions are conducted at room temperature with stoichiometric amounts of hydrosilane and with no additives, and TOF values of up to 19.8 min⁻¹. The new complex has been structurally characterized by X-ray crystallography, NMR, IR, and MS. Its redox properties have been evaluated by cyclic voltammetry. Importantly, the current system significantly improves the performance of our previous catalyst due to a more flexible chelate.¹



Scheme 1. Fe-catalyzed hydrosilylation of carbonyls which includes the X-ray structure of our new anthraquinone-based complex.

Acknowledgements. Financial support was given by Junta de Andalucía (Spain) under the project number P12-FQM-2668. A. Raya-Barón thanks Universidad de Almería for his PPI 2014 fellowship.

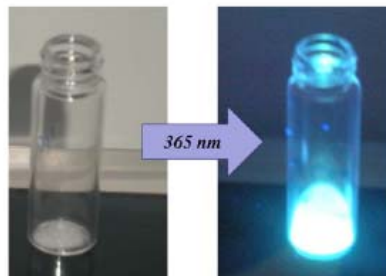
¹ A. Raya-Barón, M.A. Ortuño, P. Oña-Burgos, A. Rodríguez-Diéguez, R. Langer, C.J. Cramer, I. Kuzu, I. Fernández. *Organometallics* **2016**, 35, 4083-4089.

MATERIALES MOLECULARES BASADOS EN ZINC Y VANADIO CON ACTIVIDAD ANTIDIABÉTICA

B. Fernández,¹ C. Sánchez-González,² J. Llopis² y A. Rodríguez-Diéguez¹

¹ Departamento de Química Inorgánica, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, 18071 Granada, Spain. ² Departamento de Fisiología, Facultad de Farmacia, Campus Universitario de Cartuja, 18071, Granada, Spain; antonio5@ugr.es

La química de coordinación nos proporciona sencillez frente a otras rutas sintéticas para la formación de nuevos materiales con interesantes aplicaciones. En este sentido, la gran mayoría de compuestos de coordinación se sintetizan siguiendo un proceso de “autoensamblaje” de sus componentes en concentraciones adecuadas de la sal metálica y un ligando orgánico dando lugar a un complejo de coordinación. Dentro de estos materiales, el uso de determinados ligandos orgánicos proporcionará a los materiales multi-dimensionales sintetizados distintas propiedades físicas en campos tan interesantes como el magnetismo, la luminiscencia o aplicaciones biológicas.¹ Una de nuestras líneas de investigación se centra en la síntesis de materiales con capacidad anti-diabética que posean, además, propiedades luminiscentes. En esta comunicación presentamos distintos tipos de compuestos de coordinación multifuncionales basados en iones de zinc y vanadio. Se han realizado pruebas *in vitro* (HEK293) e *in vivo* de estos sistemas en ratas diabéticas de tipo Wistar, así como corroborado las propiedades luminiscentes que exhiben mediante técnicas computacionales.



Agradecimientos: Junta de Andalucía, Proyecto de Excelencia P12-FQM-1484.

¹ B. Fernández, I. Oyarzabal, E. Fischer-Fodor, S. Macavei, I. Sánchez, J.M. Seco, S. Gómez-Ruiz and A. Rodríguez-Diéguez, *CrystEngComm*, **2016**, 18, 8718.

ANALYSIS OF TROPANE ALKALOIDS IN TEA AND HERBAL TEA SAMPLES BY LC-HRMS (ORBITRAP)

A. Romera-Torres, R. Romero-González, J. L. Martínez Vidal, A. Garrido French

*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Experimental Sciences,
Universidad de Almería,
E04120 Almería (Spain); art291@ual.es*

Tropane alkaloids (TAs) are a group of more than 200 secondary metabolites, which naturally occur in numerous plant families, mainly in Solanaceae. They are present in all parts of the plant, although the higher concentrations are found in seeds and roots, and have a high toxicity for humans and animals.¹ TA rich plant material can be accidental or mistakenly present in different bulk commercial grains, herbal teas, herbal preparations, berries and edible flowers, among others.² Due to the risks to human and animal health, the European Food Safety Authority (EFSA) has established an Acute Reference Dose (ARfD) at 0.016 $\mu\text{g kg}^{-1}$ body weight (b.w.), expressed as the sum of atropine and scopolamine. Bearing in mind that more than 200 TAs are known, this ARfD does not express a real acute dose of these compounds. Therefore, the development of analytical methods for the simultaneous and sensitive analysis of TAs are needed in order to provide a valuable tool for the evaluation of the presence of these substances in tea and herbal tea samples.

In this study, a method for the simultaneous determination of 13 TAs in tea samples has been developed using liquid chromatography coupled to an Exactive-Orbitrap analyzer. Methanol/water/formic acid (75:25:0.4, v/v/v) was used as solvent extraction, followed by a solid phase extraction (SPE) step for the clean-up and preconcentration of target compounds. In relation to the chromatographic separation, two coupled columns (Zorbax Eclipse Plus HILIC followed by a Zorbax Eclipse Plus C18) were used. A water solution of 0.1 % formic acid and acetonitrile were used as mobile phase with a total running time of 18 min.

The validated method provided recoveries from 75 to 128 % with intra and interday precision lower than or equal to 26 % (except for apoatropine) and limits of quantification ranged from 5 to 20 $\mu\text{g/kg}$ for all compounds.

Finally, the method was applied to the analysis of eleven teas and herbal teas samples, obtaining concentration from 5 (apoatropine) to 4340 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (sum of physoperuvine, pseudotropine and tropine) in six positive samples. In addition, two tea samples were contaminated with *Datura stramonium* seeds and all TAs were detected, except aposcopolamine, cuscohygrine, homatropine and tropane, at concentrations from 5 (apoatropine) to 1725 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (sum of physoperuvine, pseudotropine and tropine).

Acknowledgements. The authors gratefully acknowledge the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (MINECO) and FEDER (project ref. CTQ2015-69899-R).

¹ P.P.J. Mulder, M. de Nijs, M. Castellari, M. Hortos, S. MacDonald, C. Crews, J. Hajslova, M. Stranska, *EFSA Supporting Publications* **2016**, 13 (12).

² P. Adamse, H.P. van Egmond, M.Y. Noordam, P.P.J. Mulder, M.de Nijs, *Qual. Assur. Saf. Crops Foods*. **2014**, 6 (1), 15–24.

UNA REVISIÓN DE LA UNIÓN DE LOS COLORANTES EOSINA Y AZUL DE BROMOFENOL A LA LISOZIMA

M. Salinas-García, M. Plaza-Garrido, J. Gallardo-Reche y A. Cámara-Artigas

*Departamento de Química y Física, Facultad de Ciencias Experimentales, CEIA3, CIAMBITAL, Universidad de Almería, E04120 Almería (España)
msg200@inlumine.ual.es*

Algunos colorantes ácidos se unen a la lisozima a través de su interacción electrostática con los numerosos residuos cargados positivamente de su superficie. Sin embargo, en algunos casos su unión es específica como demuestra la estequiometría 1:1 obtenida en la caracterización del proceso de unión mediante diversas técnicas. El sitio de unión señalado ha sido tradicionalmente un bolsillo hidrofóbico cerca de los residuos W62 y W108, ya que de forma general produce la amortiguación de la fluorescencia intrínseca de la proteína y esta solo es viable si existe una corta distancia entre estos residuos y el sitio de unión del colorante. Hasta la fecha, no existe ninguna estructura cristalina de la lisozima con estos colorantes ácidos en el Protein Data Bank, por lo que la información estructural que existe de estos complejos es a través de estudios de modelado molecular. Nuestro grupo se ha propuesto el objetivo de determinar la estructura de estos complejos para caracterizar molecularmente su unión. El estudio se inició con el colorante xanténico eosina Y. Aunque estudios de modelado molecular proponen como sitio de unión de este colorante un bolsillo delimitado por los aminoácidos W28, W108, W111, Y20, Y23 y M105, este sitio es inviable ya que el volumen de este bolsillo hidrofóbico es menor que el tamaño de la molécula de eosina Y¹. La estructura cristalográfica del complejo lisozima- eosina Y a 0.99 Å muestra la unión de esta molécula en un sitio distinto al propuesto previamente mediante modelado molecular, mostrando uno de los anillos fenólicos interaccionando con residuos del sitio catalítico. Igualmente se ha resuelto la estructura del complejo lisozima-azul de bromofenol a 1.04 Å. En este caso la unión de este colorante se produce en el entorno de los extremos amino y carboxilo terminal de la proteína, próximo al inicio de la primera hélice y el colorante se encuentra formando un dímero.

Agradecimientos. Esta investigación la ha realizado el grupo de investigación PAI BIO328 Estructura de Proteínas que cuenta además con financiación del proyecto MINECO y FEDER (EU) [BIO2016-78020-R]. La toma de datos ha sido financiada por una beca BAG de ALBA (Barcelona, España) [BAG-ID 2015071316 y 2016091824].

¹ Xanthipe J. Jordanides, Matthew J. Lang, Xueyu Song, Graham R. Fleming, "Solvation Dynamics in Protein Environments Studied by Photon Echo Spectroscopy". *J. Phys. Chem. B*. **1999**, *103*, 7995-8005.

A NEW Ti(III) MEDIATED STRAIGHTFORWARD STRATEGY FOR THE SYNTHESIS OF 2,5-DIHYDROFURANS

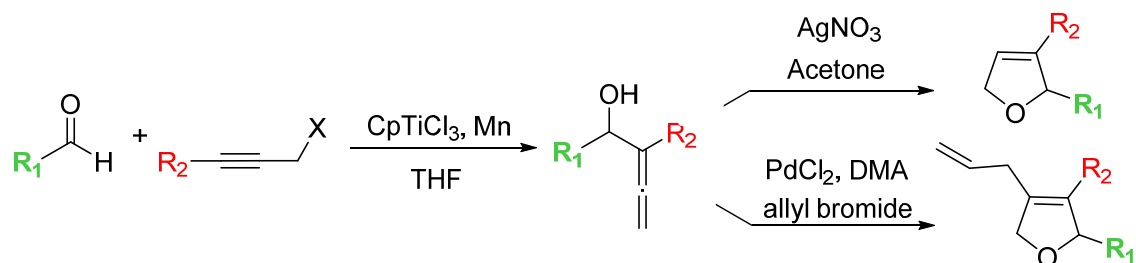
I. Torres-García, J. L. López-Martínez, M. Álvarez-Corral, M. Muñoz-Dorado, I. Rodríguez-García

*Department of Chemistry and Physics, ceiA3, University of Almería, E-04120, Almería, Spain.
irene.tg.94@gmail.com*

Compounds containing the group $-C=C=C-$ are known as allenes¹. For a long time their chemistry and synthetic routes remained poorly explored because only tedious methods of preparation were available and also due to the wrong notion that the system with two consecutive double bonds would be relatively unstable. However, in the past decades allenes have become increasingly popular as new and selective transition metal-catalyzed reactions have emerged, which allow their transformation into a large number of structures through a limited number of synthetic steps.

One of the newest synthetic methods is the coupling between aldehydes and substituted propargyl halides in the presence of Ti(III) species through a Barbier-Type process.² The reaction proceeds through the formation of a propargyl-titanium complex which reacts with the carbonyl compound to form a α -hydroxyallene in a high yield. The reaction forms in a single step a new C-C bond, a secondary alcohol and an allene system, a combination of functional groups that allow a wide range of transformations which can lead to a great diversity of structures.

In the present work we have focused our attention on the application of this chemistry to the synthesis of 2,5-dihydrofurans, prompted by the great diversity of natural products which include this structural motif. In this way, we have explored two different synthetic approaches. In the first one the new dihydrofuran ring is prepared by Ag(I) catalyzed intramolecular addition of the hydroxyl group to the allene. The second approach increases the structural complexity through a Pd(II) catalyzed cyclization followed by a C-C coupling with an allyl halide.



Scheme 1. Allenylation of aldehydes promoted by CpTiCl₂ and synthesis of furans

Acknowledgements. We thank “Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3” and “Ministerio de Economía y Competitividad” (Project CTQ2015-70724-R) for financial support.

¹ “Modern Allene Chemistry”, N. Krause and S. K. Hashmi (Eds.) Vol. 1, Wiley-VCH, Weinheim, 2004.

² J. Muñoz-Bascón, C. Hernández-Cervantes, N. M. Padial, M. Álvarez-Corral, A. Rosales, I. Rodríguez-García, J. E. Oltra, *Chem., Eur. J.* **2014**, *20*, 801-810.

EVALUACIÓN PRELIMINAR DE SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE SOLUCIONES NUTRICIONALES BASADOS EN HIDROGELES

M. M. Urbano-Juan, M. M. Socías-Viciano, M. D. Ureña-Amate

Departamento de Química y Física, Campus de Excelencia Internacional en Agroalimentación, ceiA3, Universidad de Almería, 04120 (España); marurbano88@gmail.com

La aplicación excesiva de fertilizantes nitrogenados en agricultura ha llevado consigo efectos no deseables que destruyen el medioambiente, y, por tanto, el patrimonio natural¹. En este sentido, es interesante el estudio de formulados nitrogenados basados en hidrogeles que además contengan micronutrientes de interés comercial, y permitan su liberación controlada para corregir deficiencias en las plantas, siendo a la vez respetuosos con el medioambiente y permitiendo prácticas agrícolas sostenibles².

En el presente trabajo, se han sintetizado diferentes tipos de xerogeles utilizando como monómero menor, acrilamida (AM) y como agentes entrecruzantes, N,N'-metileno-bis(acrilamida) y dimetacrilato de etilenglicol. Estos xerogeles fueron introducidos en una disolución concentrada de nitrato férrico y sacados a diferentes tiempos. A continuación, éstos fueron introducidos en medio acuoso para analizar su comportamiento en la liberación de nitrato férrico, teniendo en cuenta la influencia de: i) tiempo de exposición en la disolución de nitrato férrico, ii) tipo y proporción de entrecruzante y iii) proporción de monómero menor.

En la Figura 1 se muestran los diferentes formulados obtenidos según el tiempo de exposición en la disolución de nitrato férrico, comprobándose cómo aquéllos cuyo tiempo de contacto fue de 48h presentaron el mayor tamaño. Señalar que los sistemas que contenían un mayor porcentaje de AM (F3-48 y F6-48) mostraron tamaños ligeramente superiores al resto.

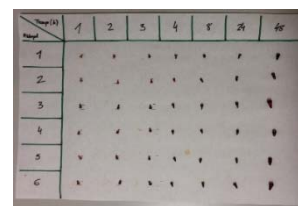


Figura 1

En los estudios de liberación se observaron varios fenómenos: i) ruptura de la red polimérica en aquéllos obtenidos a tiempos de contacto inferiores a 4h, ii) las muestras F3-8, F3-24, F6-8 y F6-24 liberaron la mayor cantidad de Fe^{3+} transcurridas 48h y iii) en el resto de los formulados, incluidos los obtenidos a las 48h de contacto con la disolución de nitrato férrico, apenas se observó liberación. Estos hechos se justifican si consideramos que, durante el proceso de síntesis de los formulados, el hierro difunde a través de la red polimérica coordinándose con sus centros activos y dando lugar a un recubrimiento cuyo grosor depende del tiempo de exposición. Así, tiempos de exposición inferiores a 4h dan lugar a un recubrimiento que, por un lado, permite la entrada de una gran cantidad agua, con el consiguiente aumento de volumen y por otro, origina una gran tensión mecánica sobre dicho recubrimiento provocando su ruptura. La mayor liberación de Fe^{3+} que presentan los formulados F3-8, F3-24, F6-8 y F6-24 podría justificarse en base al grosor del recubrimiento de estas muestras que soporta de manera efectiva la tensión mecánica provocada por la difusión de las moléculas de agua, y la presencia de una mayor cantidad de AM que impide la unión de estos iones a los centros activos de la red, favoreciendo así su liberación.

Agradecimientos. Agradecemos a Biorizon-Biotech S.L. su colaboración en la presente investigación, así como al Campus de Excelencia Internacional en Patrimonio, Patrimoniun-10, por la ayuda concedida.

¹ A. Meijide, J.A. Díez, L. Sánchez-Martín, S. López-Fernández, A. Vallejo, *Agric. Ecosyst. Environ.* **2007**, *121*(4) p.383.

² M.D. Ureña-Amate, N. Debbagh-Boutarouch, M.M. Socías-Viciano, E. González-Pradas. *Appl. Clay Sci.* **2011** *52*, p.368.

ESTABLECIMIENTO DE UN MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE PROPOXYCARBAZONE Y SU METABOLITO EN ALIMENTOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS-ESPECTROMETRÍA DE MASAS EN TÁNDEM

M. Vargas-Pérez, J. Marín-Sáez, F. J. Egea González, A. Garrido Frenich

*Departamento de Química y Física, Centro de Investigación en Biotecnología Agroalimentaria (BITAL), Universidad de Almería, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3, E-04120, Almería, España
grassmarta@gmail.com*

Hoy en día es de gran importancia evaluar no sólo los compuestos principales sino también la presencia de metabolitos potenciales, pues de lo contrario no se estarían estudiando de forma completa los efectos del uso de los productos químicos. El análisis de residuos de plaguicidas en matrices de alimentos es un desafío, especialmente debido a la baja concentración de analitos y las grandes cantidades de sustancias que interfieren y que pueden coextraerse.

El objetivo de este estudio ha sido la optimización y validación de un método analítico adecuado para la determinación simultánea de propoxycarbazone y su metabolito 2-hidroxy-propoxycarbazone en lechuga, remolacha, harina de soja y miel. Hasta el momento solamente se han publicado dos artículos para la determinación del compuesto padre, uno en aguas y otro en suelos. Sin embargo, no hay ninguna publicación en la que se determinen de forma simultánea ambos compuestos en alimentos, que según propuesta de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria el límite máximo de residuos (LMR) se define como la suma de propoxycarbazone, sus sales y 2-hidroxi-propoxycarbazone (EFSA, 2016)¹. Para la extracción de los compuestos se han realizado diversas modificaciones al método QuEChERS (AOAC, 2007)² en función de la matriz. Para la determinación se utilizó la cromatografía de líquidos de ultra alta resolución (UHPLC-MS/MS) acoplada a un analizador de espectrometría de masas de triple cuadrupolo (QQQ). Además, se optimizó la etapa de limpieza, evaluando el efecto de varios sorbentes, así como el efecto de la matriz en la cuantificación.

La metodología fue validada en cada una de las matrices a dos niveles de concentración, obteniendo valores adecuados de veracidad (73-110 %), precisión intra-día (4 – 19%) e interdía (5 – 20%). Los límites de detección y cuantificación fueron lo suficientemente bajos para determinar los compuestos objeto de estudio a valores inferiores a los LMRs en cada una de las matrices del estudio. El método validado fue aplicado al análisis de 20 muestras, 5 de cada una de las matrices en estudio, no detectándose residuos de propoxycarbazone ni de 2-hidroxy-propoxycarbazone en ninguna de las muestras analizadas.

¹ EFSA (2016). Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance propoxycarbazone (variant evaluated propoxycarbazone-sodium). *The EFSA Journal*, 14, 4612-4637.

² AOAC Official Method. (2007). *Pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulphate*.

8. Lista de los autores principales

<i>Póster</i>	<i>Autor</i>	<i>Pág.</i>	<i>Póster</i>	<i>Autor</i>	<i>Pág.</i>
1	M. Barceló-Villalobos	13	39	F.M. Arrabal-Campos	51
2	P. Campra	14	40	J.R. Belmonte-Sánchez	52
3	Y. Chourak	15	41	A. Calvo	53
4	I. de la Obra	16	42	M. C. Campos-Mañas	54
5	B. Esteban-García	17	43	G. Cutrone	55
6	A. Galafat	18	44	D. Fabrikov	56
7	A. Galafat	19	45	J. Gallardo-Reche	57
8	M. López-Rodríguez	20	46	A. García-García	58
9	T. Menegol	21	47	A. García-Valdivia	59
10	A. Molina-Miras	22	48	M. J. González-Fernández	60
11	A. Molina-Miras	23	49	A. Hernández-Zanoletty	61
12	E. Navarro-López	24	50	M. L. Jiménez-Medina	62
13	S. Orta	25	51	L. Kharbouche	63
14	F. Pérez-Martín	26	52	R. López-Ruiz	64
15	A. Ramírez-González	27	53	J. L. López-Martínez	65
16	J. V. Reinoso Moreno	28	54	A. Lorenzo	66
17	T. Rondet	29	55	M. V. Manzano-Blanes	67
18	K. Sanabria	30	56	J. Marín-Sáez	68
19	A. Siles	31	57	R. Martínez	69
20	P. Soriano-Molina	32	58	M.M. Murcia-Morales	70
21	M. J. Céspedes	33	59	Y. Navarro	71
22	M. J. Estrella-González	34	60	A. Navas-Calahorro	72
23	P. Martínez-Carricondo	35	61	I. Ortiz-Gómez	73
24	F. Navarro-Martínez	36	62	M. Plaza-Garrido	74
25	F. Navarro-Martínez	37	63	Á. Raya-Barón	75
26	M. Rodríguez	38	64	A. Rodríguez-Diéguez	76
27	B. Rodríguez-Lozano	39	65	A. Romera-Torres	77
28	R.F. Roperó	40	66	M. Salinas-García	78
29	A. Maldonado	41	67	I. Torres-García	79
30	F. Sola	42	68	M. M. Urbano-Juan	80
31	F. Sola	43	69	M. Vargas-Pérez	81
32	A. B. Castaño-Fernández	44			
33	J. F. Gálvez-Rodríguez	45			
34	J. F. Mañas-Mañas	46			
35	A. R. Masegosa	47			
36	A. C. Abreu	48			
37	L.M. Aguilera-Sáez	49			
38	K. Aït-Hammi	50			