

# CROMATOGRAFÍA Y TÉCNICAS AFINES

**SECYTA**

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE  
CROMATOGRAFÍA  
Y TÉCNICAS AFINES

**37**

BOLETÍN DE LA SECYTA

VOLUMEN 37 NÚM. 1 (2016)

[WWW.SECYTA.ORG](http://WWW.SECYTA.ORG)

# Soluciones Bruker para el análisis químico



**EVOQ GC/MSMS**  
Triple Cuadrupolo



**EVOQ LC/MSMS**  
Triple Cuadrupolo



**amaZon SL**  
LC/MS Trampa Iónica



**compact QqTOF**  
Sistemas LCMS-QTOF



**Impact II UHR-QqTOF**  
MS Ultra Alta Resolución

## Sistemas innovadores en Cromatografía y Espectrometría de Masas para Análisis Químico

- Soluciones fiables, estables y fáciles de implementar para cualquier reto analítico.
- Integración de tecnologías innovadoras y software diseñados para una máxima productividad y prestaciones en cualquier aplicación analítica.
- Soluciones con GC-MSMS Triple Cuadrupolo, LC-MSMS Triple Cuadrupolo, LCMS-QTOF, LC-IT, FTMS y MALDI-TOF/TOF
- Excelente soporte de expertos comprometidos con sus objetivos analíticos.

**Nuevo sistema Bruker timsTOF  
la tecnología más novedosa  
presentada en la ASM 2016**

**Contacte con nosotros para  
mas detalles en:**

**[info-bcad-spain@bruker.com](mailto:info-bcad-spain@bruker.com)**  
o **[www.bruker.com](http://www.bruker.com)**



**información técnica en:**

**[www.timsTOF.com](http://www.timsTOF.com)**

# CROMATOGRAFÍA Y TÉCNICAS AFINES

Madrid, Junio de 2016 Vol. 37, núm. 1

ISSN 1132-1369

Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines (<http://www.secyta.org>)

## ÍNDICE

2	<b>EDITORIAL</b>
	<b>ARTÍCULO</b>
3	Determinación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en aguas residuales y vertidos por SPE en línea y HPLC/DAD/FLD. <i>Sara Rey Salinero, Beatriz Villacampa Sanz.</i>
	<b>NOTICIAS DE LA SECyTA</b>
22	XVI Reunión Científica de la Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines (SECyTA 2016)
24	Nuevos socios
	<b>INFORMACIONES</b>
25	Congresos celebrados
28	Calendario de actividades
30	Nuevas Tesis Doctorales
	<b>INFORMACIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>
32	Artículos de interés
	<b>DE NUESTRAS EMPRESAS COLABORADORAS</b>
37	Notas técnicas
44	Novedades técnicas

-----

**Redacción:** María Luz Sanz ([mlsanz@iqog.csic.es](mailto:mlsanz@iqog.csic.es))  
Ana Cristina Soria Monzón ([acsoria@iqog.csic.es](mailto:acsoria@iqog.csic.es))  
Mario Fernández ([mario@iqog.csic.es](mailto:mario@iqog.csic.es))  
Instituto de Química Orgánica General (CSIC)  
Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid. Tel.91-562 29 00  
Fco. Javier Moreno ([javier.moreno@csic.es](mailto:javier.moreno@csic.es))  
Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CSIC-UAM)  
Nicolás Cabrera 8, 28049 Madrid. Tel. 91-0017900

**Publicidad:** Mario Fernández ([mario@iqog.csic.es](mailto:mario@iqog.csic.es))  
Instituto de Química Orgánica General (CSIC).  
Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid. Tel. 91 562 29 00

**Colaboradores:** L. Ramos

**Depósito legal:** M-1902-1975

**Diseño, preimpresión e impresión:** Helios, S.L. • Duque de Sevilla 16 • 28002 Madrid • Tel. 91 768 49 50

**Diseño de portada:** Pau de Riba

Los autores son responsables del contenido de sus artículos.

## NUEVOS RETOS Y DESAFÍOS

Queridos socios de la SECyTA,

Como ya sabéis, el pasado Octubre tuvo lugar la Asamblea General de nuestra Sociedad durante la XV Reunión Científica de la SECyTA (XLIV Reunión del Grupo de Cromatografía y Técnicas Afines) celebrada en Castellón de forma conjunta con la Sociedad Española de Espectrometría de Masas (SEEM). En dicha Asamblea tuvo lugar la renovación de la mitad de los cargos de la Junta de Gobierno que se realiza cada dos años. Dentro de este proceso tuve el honor de ser elegido como Presidente, además del Dr. Juan Vicente Sancho y el Dr. Joan Grimalt que fueron elegidos para los cargos de Secretario y Vicepresidente, respectivamente. Además, entraron a formar parte de la Junta como vocales los Dres. Belén Gómara, M<sup>a</sup> José González, Elena Ibáñez, Begoña Jiménez, Marta Lores, Francisco Javier Moreno, y los Sres. José Monge y Josep M<sup>a</sup> Sangenís. En primer lugar, querría dar las gracias a todos los socios por la confianza depositada en mí y en los nuevos miembros elegidos y, en segundo lugar, querría agradecer a la Dra. M<sup>a</sup> José González su trabajo y compromiso con la SECyTA durante los años en que ha ejercido como Presidenta. Creo que es de justicia destacar y valorar su esfuerzo y voluntad para mantener la calidad de nuestras reuniones, mejorar la gestión interna y económica de la Sociedad, impulsar la participación de los jóvenes investigadores y renovar las relaciones con otras Sociedades, tanto a nivel nacional como internacional. También quiero expresar mi agradecimiento al resto de los miembros de la Junta saliente, la Dra. María Luz Sanz y el Sr. Joan Solé, y muy especialmente a la Dra. Belén Gómara por su dedicación y su excelente gestión como secretaria de la SECyTA.

Me gustaría que, en la nueva etapa que iniciamos, la SECyTA siga siendo un foro abierto para el intercambio de ideas y experiencias dentro del campo de las técnicas de separación, y que sirva como catalizador de actividades e iniciativas encaminadas a promover el uso de estas técnicas, tanto en el campo de la Química como en otras disciplinas de la Ciencia. Para poder alcanzar estos retos es necesario la colaboración de todos, sin excepción. Tenemos que pensar que el futuro de nuestra Sociedad depende de todos nosotros y que debemos trabajar juntos para mantener y mejorar los aspectos científicos y de organización que permitan afianzar a la SECyTA como una de las principales asociaciones científicas a nivel nacional e internacional. Desde la Junta, nuestra intención es continuar con la labor realizada hasta el momento, intentando canalizar vuestras propuestas, promover actividades a nivel local o nacional, mejorar la calidad científica de nuestras reuniones e incrementar su participación, potenciar la política de becas para aumentar la asistencia de nuestros jóvenes investigadores, así como dinamizar el papel del Boletín “Cromatografía y Técnicas Afines” y de nuestra web para dar una mayor visibilidad a nuestras actividades. En este sentido creemos que nuestra web debe servir fundamentalmente como vehículo de comunicación de los miembros de la SECyTA y de los profesionales e investigadores que son usuarios de las técnicas cromatográficas en general. Tenemos algunas ideas al respecto que presentaremos en la próxima Asamblea para que la web se convierta en un elemento ágil y útil para transmitir la información a nuestros asociados. De momento, se ha incluido en la web un apartado dedicado a las Tesis Doctorales leídas en los últimos años con un pequeño resumen para dar a conocer la investigación realizada por nuestros nuevos doctores en el campo de las técnicas de separación. Desde aquí os animo a que enviéis vuestras sugerencias para mejorar la web e incluir temas que puedan ser de interés o discusión para la mayoría de los socios de forma que sirva de herramienta y consulta para nuestro trabajo diario.

Por último, quisiera en este editorial animaros a participar en nuestra próxima reunión, la XVI Reunión Científica de la SECyTA (XLV Reunión desde el inicio del GCTA), que se celebrará en Sevilla del 2 al 4 de noviembre de 2016. Por nuestra parte, la actual Junta trabajará junto con los organizadores de la Reunión para preparar un programa científico atractivo y de calidad, a la altura de vuestras expectativas. Por tanto, os animo a participar en nuestra próxima reunión y estoy convencido de que entre todos conseguiremos que sea un éxito tanto de participación como desde un punto de vista científico.

**Francisco Javier Santos Vicente**  
*Presidente de la SECyTA*

# ARTÍCULOS

## Determinación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en aguas residuales y vertidos por SPE en línea y HPLC/DAD/FLD

Sara Rey Salinero, Beatriz Villacampa Sanz  
Área de Análisis Instrumental. Canal de Isabel II Gestión  
Sta. Engracia, 125, 28003 Madrid  
e-mail: bvillacampa@canalgestion.es, teléfono: 915451348

### RESUMEN

Se describe el desarrollo y puesta a punto de un método para determinar 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos en aguas residuales y vertidos por HPLC acoplada a detectores de diodo array y de fluorescencia con extracción previa de los compuestos mediante cartuchos en un sistema en línea totalmente automatizado. Se ha desarrollado y optimizado la elución de los compuestos mediante una técnica de focalización de los mismos haciendo uso de dos bombas y un dispositivo de capilares en forma de "T" instalada a continuación del cartucho. Se indican pautas a seguir para disminuir el efecto de la alta carga matricial de las muestras a analizar. Se introduce el uso de patrones internos deuterados que hacen que el método sea altamente robusto. Los resultados obtenidos cumplen con los criterios de aceptación impuestos por el Decreto Autonómico de la Comunidad de Madrid 57/2005 sobre Vertidos Líquidos Industriales al Sistema Integral de Saneamiento.

### 1. INTRODUCCIÓN

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) forman una familia de compuestos orgánicos caracterizados por poseer dos o más grupos bencénicos condensados, pudiendo tener acoplados otros ciclos no aromáticos en su estructura (Fox y Whitesell, 2000).

A temperatura ambiente los PAHs se encuentran normalmente en estado sólido. Su solubilidad en agua es muy baja, disminuyendo al aumentar el peso molecular y el tamaño de la molécula (Kabzinski y col., 2002). Son solubles en disolventes orgánicos y, por tanto, tienen carácter lipofílico (WHO, 1998; Marín Galvín, 2003).

Debido a su lipofilia y a su carácter inerte hace que sean compuestos potencialmente bioacumulables y persistentes, lo que les hace, por tanto, potencialmente mutagénicos y cancerígenos. Su permanencia en el ambiente puede durar años, afectando seriamente al medio acuático y terrestre, de ahí la importancia de su determinación (ATSDR, 1995; USEPA, 2002).

Estos compuestos se forman principalmente por combustión incompleta de la materia orgánica y en diversos procesos industriales (Moja y col., 2013). Su presencia en el agua puede ser originada por fuentes naturales (incendios, erupciones volcánicas, entre otros), pero la mayor contribución a su presencia en el medio acuático es de origen antropogénico (Forsgren, 2015; Karyab y col., 2013; Nuhu y col., 2012). Las principales aportaciones a este medio son los vertidos contaminantes (aguas de refinerías, vertidos de petróleo, etc.), las deposiciones atmosféricas y los aislamientos anticorrosión de conducciones de agua, encontrándose disueltos en el agua o bien adsorbidos en partículas orgánicas e inorgánicas (Jiries y col., 2000).

Este estudio tiene por objeto establecer un protocolo para el análisis de muestras de EDAR (Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales) y de vertidos de los 16 PAHs descritos en el Decreto 57/2005 de la legislación española sobre vertidos líquidos industriales al sistema integral de saneamiento (Tabla 1).

El método que se describe en este artículo consta de una extracción totalmente automatizada, mediante cartuchos de extracción en fase sólida (SPE) en línea, acoplada a un HPLC equipado con detectores de Fluorescencia (FLD) y Diodo Array (DAD) en serie.

Tabla 1. PAHs descritos en el Decreto 57/2005.

Compuesto	Nº CAS	PM (g mol <sup>-1</sup> )	log Kow*	Solubilidad en agua (mg L <sup>-1</sup> )
Naftaleno	91-20-3	128,2	3,37	30
Acenaftileno	208-96-8	152,2	4,07	3,93
Acenafteno	83-32-9	154,2	3,92	3,47
Fluoreno	86-73-7	166,2	4,18	1,98
Fenantreno	85-01-8	178,2	4,45	1,29
Antraceno	120-12-7	178,2	4,45	0,07
Fluoranteno	206-44-0	202,3	4,90	0,26
Pireno	129-00-0	202,3	4,88	0,14
Benzo[a]antraceno	56-55-3	228,3	5,61	0,0038
Criseno	218-01-9	228,3	5,56	0,002
Benzo[b]fluoranteno	205-99-2	252,3	6,04	0,0012
Benzo[k]fluoranteno	207-08-9	252,3	6,06	0,00055
Benzo[a]pireno	50-32-8	252,3	6,06	0,0038
Dibenzo[a,h]antraceno	53-70-3	278,4	6,84	0,0005
Benzo[g,h,i]perileno	191-24-2	276,3	6,50	0,00026
Indeno[1,2,3-cd]pireno	193-39-5	276,3	6,58	0,062

\* Coeficiente de reparto octanol-agua

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. Instrumental

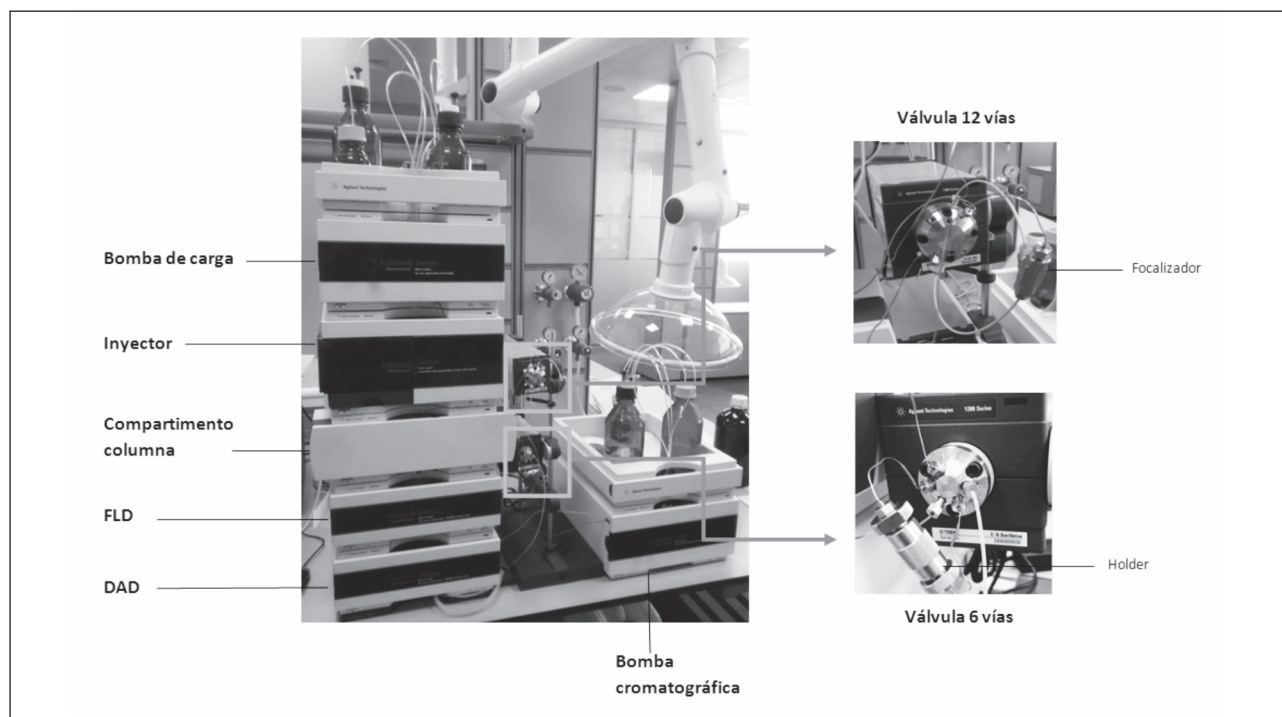
Se utilizó un sistema cromatográfico de líquidos Agilent serie 1260, compuesto por inyector automático (1200 Series standard autosampler SL), dos bombas cuaternarias (1260 Quaternary Pump y 1260 Quaternary Pump VL), compartimento con termostato para columnas (Thermostatted Column Compartment SL Plus), detector de UV-DAD (1290 Infinity Diode Array Detector), detector de fluorescencia (1260 Fluorescence Detector), válvula de 6 vías con “holder” para alojar los cartuchos de SPE (1100/1200 Series 2PS/6PT Valve) y válvula de 12 vías con “focalizador” (1100/1200 Series 6PS Selection Valve) (Figura 1). El sistema de control, la adquisición y procesado de los datos se llevó a cabo con el software Agilent OpenLAB Chemstation.

Para la extracción en línea se emplearon cartuchos de SPE Bond Elut Plexa Prospekt basados en un compuesto polimérico neutro apolar con base divinilbencénica. Se demostró que estos cartuchos podrían usarse para múltiples extracciones, tal y como se indicará en la sección de Resultados y Discusión. La columna que se empleó fue una Zorbax Eclipse PAH, de 4,6 x 100 mm y tamaño de partícula de 3,5 μm, diseñada para obtener una adecuada separación y selectividad de hidrocarburos aromáticos policíclicos. Su fase estacionaria es un polímero de C18 sobre un soporte Zorbax Rx-Sil de alta pureza (>99.995% SiO<sub>2</sub>) que reduce o elimina la adsorción de compuestos básicos y altamente polares. Tanto los cartuchos SPE como la columna fueron adquiridos a Agilent Technologies (Las Rozas de Madrid, España).

### 2.2. Patrones y reactivos

Para realizar la curva de calibrado y preparar los controles de calidad, se trabajó con mezclas de patrones certificados de los 16 PAHs de 100 mg L<sup>-1</sup> suministrados por Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany). Estas mezclas se encuentran disueltas en acetonitrilo (AcN). Por dilución en acetonitrilo se preparó una disolución de 100 μg L<sup>-1</sup>.

Figura 1. Componentes del HPLC.



Se utilizaron los siguientes patrones deuterados para su uso como patrones internos (IS): fluoranteno-d10 de 100 mg L<sup>-1</sup> en acetonitrilo; benzo[*a*]antraceno-d12 de 10 mg L<sup>-1</sup> disuelto en acetona; benzo[*b*]fluoranteno-d12 de 99 % de pureza; dibenzo[*a,h*]antraceno-d14 de 10 mg L<sup>-1</sup>, benzo[*k*]fluoranteno-d12 de 10 mg L<sup>-1</sup> e indeno [1,2,3-*c,d*]pireno-d12 de 10 mg L<sup>-1</sup> disueltos en ciclohexano, todos de Dr. Ehrenstorfer. A partir de éstos se preparó una mezcla en isopropanol con una concentración de 100 µg L<sup>-1</sup> de cada uno de los patrones internos.

También se prepararon en isopropanol unas soluciones de calibrado mezclando cantidades apropiadas de las mezclas de PAHs de 100 µg L<sup>-1</sup> y de la mezcla de patrones internos. Las curvas de calibrado se prepararon diariamente por dilución de las soluciones de enriquecimiento en agua obteniendo un intervalo de concentraciones de 1 a 6 µg L<sup>-1</sup>.

Para el control de calidad del método se prepararon previamente en isopropanol unas soluciones de control enriquecidas de 2 a 6 mg L<sup>-1</sup>.

Los disolventes empleados como fases móviles (agua, acetonitrilo e isopropanol) fueron de calidad HPLC. La elección de los disolventes y su calidad son parámetros importantes para que la extracción de los PAHs sea eficiente y se eviten interferencias propias del disolvente (Moja y col., 2013).

### 2.3. Preparación de la muestra

Todas las muestras fueron aciduladas con ácido clorhídrico 37% a pH ≤ 2. Se almacenaron a 4°C en frascos ámbar hasta un máximo de 7 días (USEPA Method 550.1, 1990).

En un vial de centrífuga se añadieron 750 µL de isopropanol, 250 µL de la mezcla de patrones internos de 100 µg L<sup>-1</sup>, 1000 µL de muestra y 8 mL de agua desionizada. Posteriormente, se centrifugó durante 15 minutos a 3.000 rpm traspasando el sobrenadante al vial de análisis. De esta manera, todas las muestras contenían un 10 % de isopropanol y quedaban diluidas 1:10.

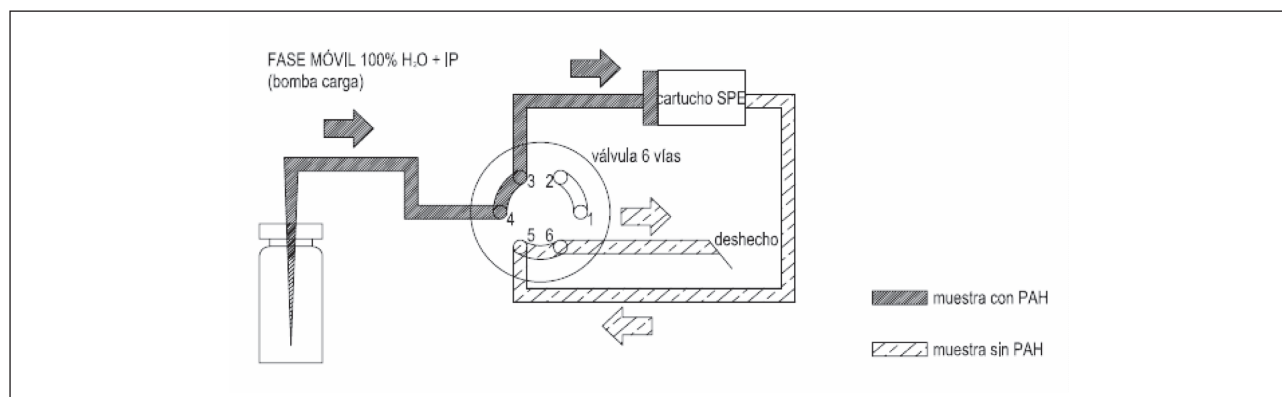
## 2.4. Control de calidad

Se realizó diariamente un control de calidad de los resultados mediante la evaluación de controles de calidad (QC's) y blancos. Los blancos se preparan de la misma manera que las muestras, sustituyendo los 1.000  $\mu\text{L}$  de muestra por 1.000  $\mu\text{L}$  de agua desionizada. Para los QC's se añaden 10  $\mu\text{L}$  de la solución de control enriquecida sobre 740  $\mu\text{L}$  de isopropanol, 250  $\mu\text{L}$  de la mezcla de patrones internos de 100  $\mu\text{g L}^{-1}$ , 1.000  $\mu\text{L}$  de matriz (agua desionizada o residual) y 8 ml de agua desionizada. Al igual que las muestras, tanto los blancos como los QC's fueron centrifugados durante 15 minutos a 3.000 rpm trasapando el sobrenadante al vial de análisis.

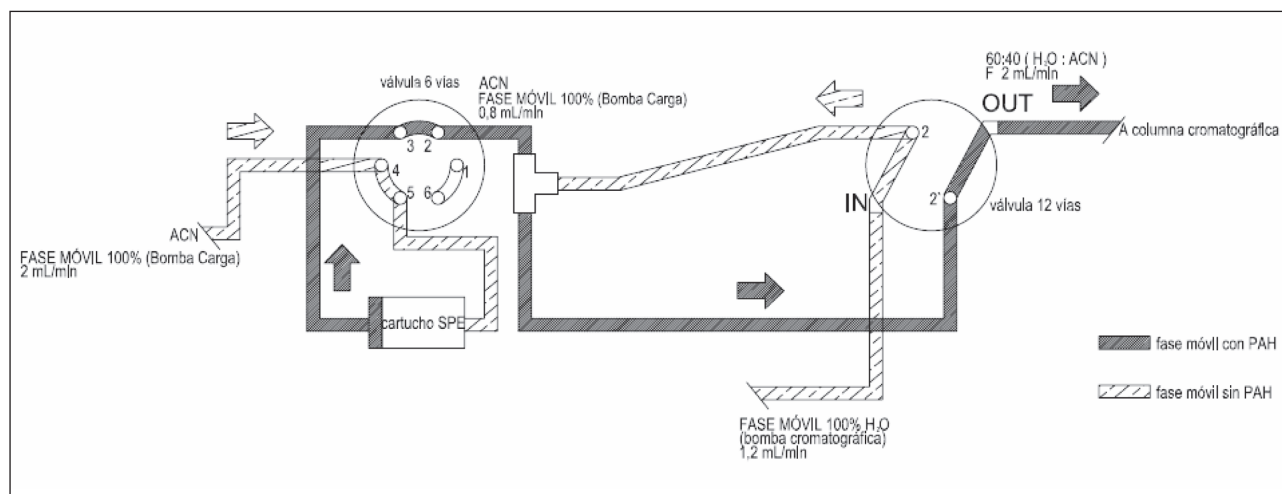
## 2.5. Método de SPE en línea y HPLC/ DAD/FLD

La muestra, una vez inyectada, era dirigida hacia el cartucho de extracción donde por adsorción selectiva quedaban retenidos los PAHs presentes en la muestra (**Figura 2**). Posteriormente, los compuestos eran eluidos con 100 % de acetonitrilo para focalizarlos antes de su entrada a la columna, y así mejorar tanto la simetría del pico cromatográfico como su resolución. Inmediatamente después, con la ayuda de las dos bombas, se obtenía el porcentaje de mezcla de disolventes deseado (flujo 2  $\text{mL min}^{-1}$  y 60:40 agua:AcN) para comenzar la separación cromatográfica (**Figura 3**). Tras alcanzar esta proporción, la bomba de carga se paraba, y era la bomba cromatográfica la encargada de realizar el gradiente hasta el 100% de AcN (**Tabla 2**). Mientras se realizaba el análisis cromatográfico, la bomba de carga volvía a funcionar para limpiar el sistema y restablecer las condiciones iniciales.

**Figura 2.** Transferencia de la muestra al cartucho de SPE.



**Figura 3.** Elución de los PAHs del cartucho de SPE.





Los compuestos fueron detectados, preferiblemente, por fluorescencia ya que esta técnica presenta más sensibilidad y selectividad que el DAD (Nollet y De Gelder, 2013). No obstante, fue necesario el uso del DAD para detectar el acenaftileno, dado que este compuesto no emite fluorescencia.

**Tabla 2.** Gradientes de las fases móviles con composición y tiempo. Condiciones de la bomba de carga (A) y de la bomba cromatográfica (B).

A)				
Tiempo (min)	Agua+IP (%)	AcN (%)	Agua (%)	Flujo (mL min <sup>-1</sup> )
0	100	0	0	0
0,01	100	0	0	2
1,5	100	0	0	2
1,51	0	0	100	3
2,5	0	0	100	3
2,51	0	100	0	0,8
5	0	100	0	0,8
5,05	0	100	0	0
18	0	100	0	0
18,01	0	100	0	5
21	0	100	0	5
21,01	100	0	0	5
24	100	0	0	5
24,01	100	0	0	0

B)			
Tiempo (min)	Agua (%)	AcN (%)	Flujo (mL min <sup>-1</sup> )
0	100	0	1,2
5	100	0	1,2
5,2	60	40	2
21	10	90	2
25	10	90	2
26	0	100	2
28	0	100	2

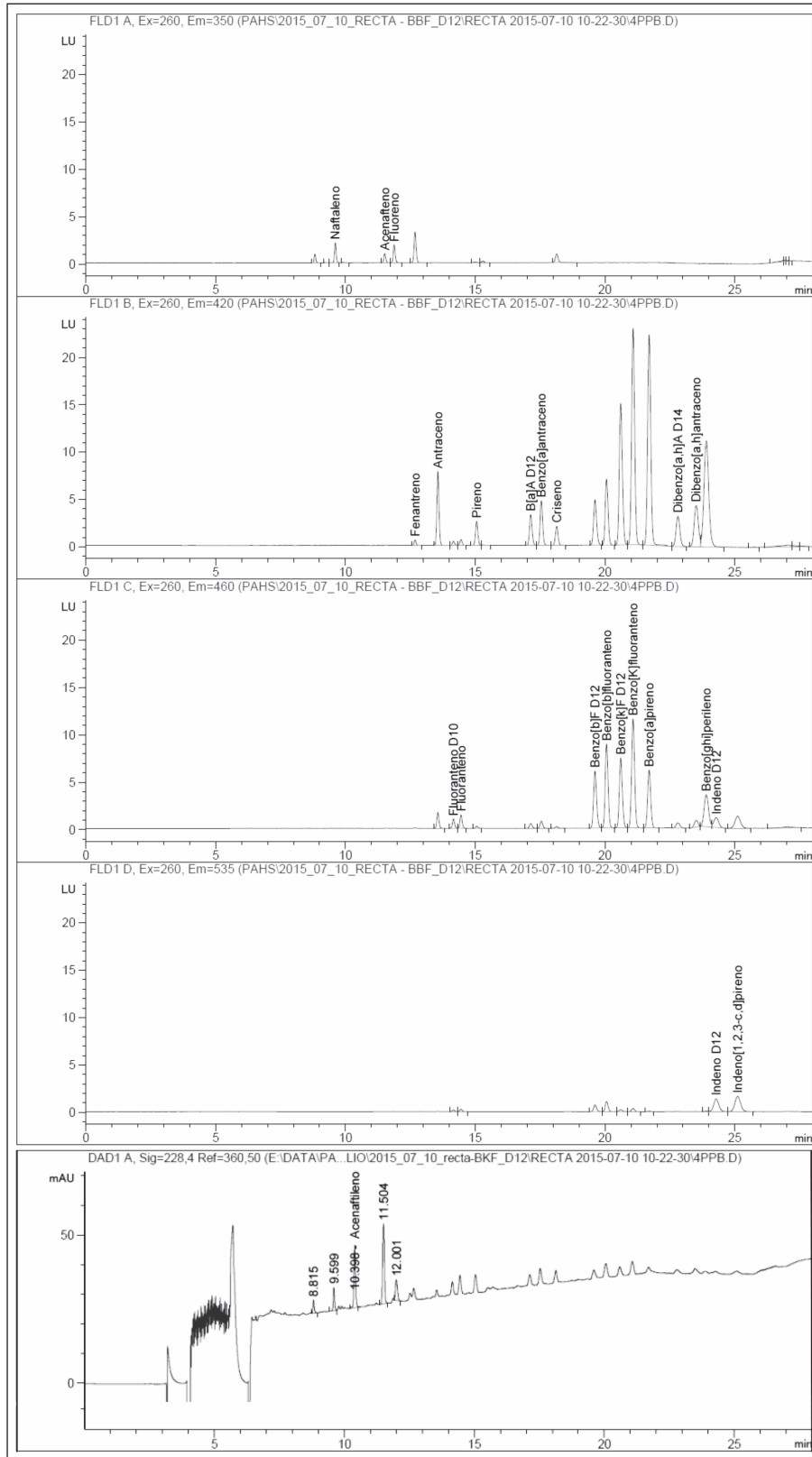
El programa de longitudes de onda, así como los patrones internos empleados, se describe en la **Tabla 3**.

**Tabla 3.** Parámetros de adquisición: longitudes de onda y patrón interno (IS) para cada PAH objeto de estudio.

Nº	Compuesto	Fluorescencia			DAD	IS Ref.
		Excitación	Emisión	Canal	Longitud onda	
1	Naftaleno	260	350	FLD1 A	-	IS 1
2	Acenaftileno	-	-	-	228	IS 1
3	Acenafteno	260	350	FLD1 A	-	IS 1
4	Fluoreno		350	FLD1 A	-	IS 1
5	Fenantreno		420	FLD1 B	-	IS 1
6	Antraceno		420	FLD1 B	-	IS 1
7	Fluoranteno		460	FLD1 C	-	IS 1
8	Pireno		420	FLD1 B	-	IS 1
9	Benzo[a]antraceno		420	FLD1 B	-	IS 2
10	Criseno		420	FLD1 B	-	IS 2
11	Benzo[b]fluoranteno		460	FLD1 C	-	IS 3
12	Benzo[k]fluoranteno		460	FLD1 C	-	IS 3
13	Benzo[a]pireno		460	FLD1 C	-	IS 3
14	Dibenzo[a,h]antraceno		420	FLD1 B	-	IS 4
15	Benzo[g,h,i]perileno		460	FLD1 C	-	IS 5/C
16	Indeno[1,2,3-cd]pireno		535	FLD1 D	-	IS 5/D
IS 1	Fluoranteno-d10		460	FLD1 C	-	-
IS 2	Benzo[a]antraceno-d12		420	FLD1 B	-	-
IS 3	Benzo[b]fluoranteno-d12 / B[k]fluoranteno-d12		460	FLD1 C	-	-
IS 4	Dibenzo[a,h]antraceno-d14		420	FLD1 B	-	-
IS 5	Indeno [1,2,3-cd]pireno-d12		460/535	FLD1 C/D	-	-

Con este método se obtenían cromatogramas con picos con una buena resolución, según se puede apreciar en la **Figura 4**.

**Figura 4.** Inyección de 500  $\mu\text{L}$  a una concentración de 4  $\mu\text{g L}^{-1}$  en muestra de agua desionizada usando la columna Zorbax Eclipse PAH.



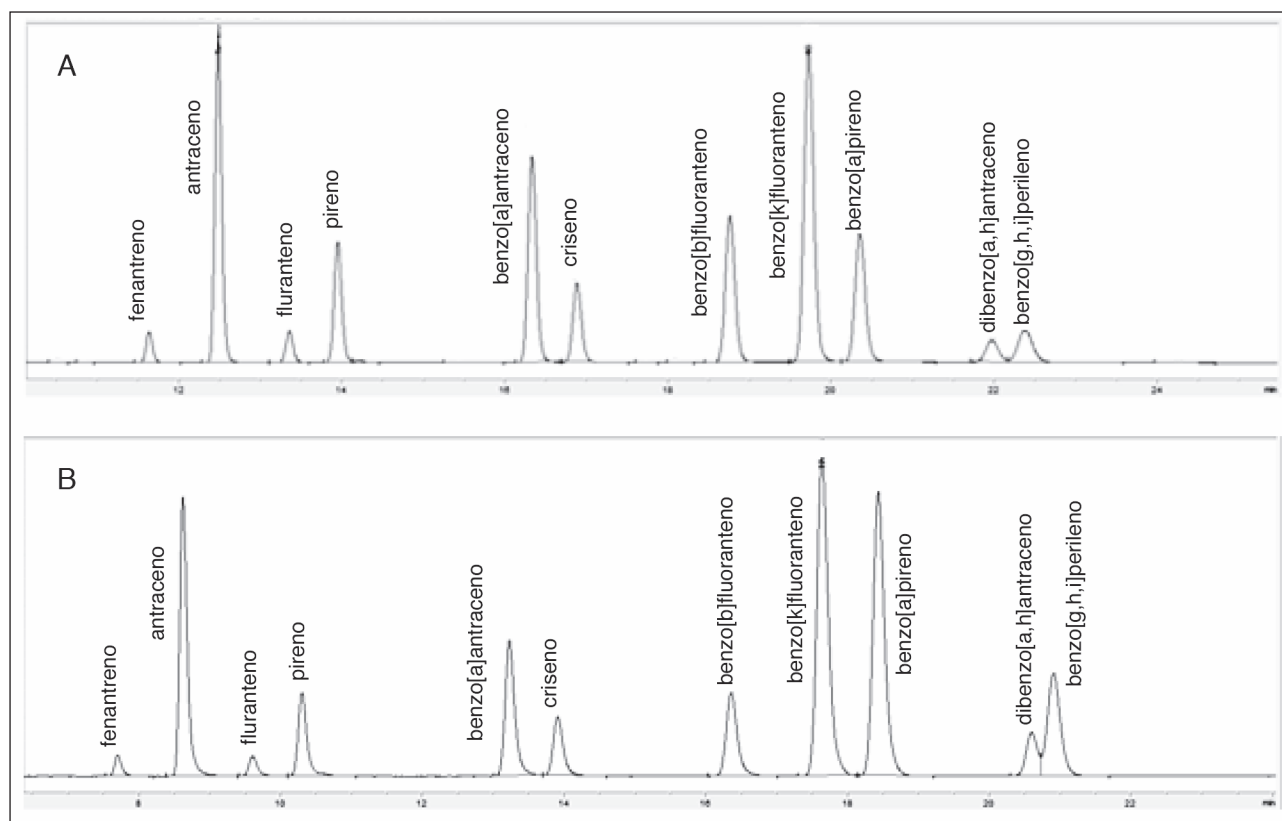
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 3.1. Optimización del método

Con la puesta en marcha del equipo se detectaron algunos inconvenientes que se solventaron con el desarrollo e implementación de la técnica de focalización. Si los PAHs eran eluidos del cartucho de preconcentración con las condiciones iniciales de fase móvil (60:40 Agua:AcN), utilizando para ello únicamente la bomba cromatográfica, se producía un ensanchamiento de los picos y pérdida de simetría (picos con cola) pues la elución era lenta por el elevado contenido acuoso de la mezcla de elución. Tras observar este efecto, se modificó la configuración del equipo inicial, introduciendo una segunda bomba (bomba de carga) y un dispositivo de capilares en forma de “T” acoplado entre la salida del cartucho de SPE y la entrada a la columna cromatográfica. La bomba de carga se emplea para transportar la muestra al cartucho y seguidamente eluir los compuestos retenidos con 100% de acetonitrilo a un flujo de  $0,8 \text{ mL min}^{-1}$  quedando los PAHs focalizados en el dispositivo en forma de “T”. Al mismo tiempo en el que los compuestos son eluidos, entra en funcionamiento la bomba cromatográfica enviando  $1,2 \text{ mL min}^{-1}$  de fase acuosa (**Figura 3**). De esta manera se obtiene el porcentaje de mezcla deseado a partir del dispositivo en forma de “T” (flujo  $2 \text{ mL min}^{-1}$  y 60:40 Agua:AcN). Una vez alcanzadas estas condiciones y sin interferir en el cromatograma, se para la bomba de carga y se continua realizando el gradiente con la bomba cromatográfica.

De esta manera se evitaba que la separación se iniciara en el propio cartucho de extracción, antes de la transferencia de los analitos a la columna cromatográfica, y se lograba que los picos quedaran focalizados y resueltos (**Figura 5**).

**Figura 5.** Cromatograma con focalización (A) y cromatograma sin focalización (B).



Otro parámetro importante que se optimizó fue el volumen de inyección. Fue importante su elección pues un excesivo volumen producía sobrepresiones en el sistema, posible colmatación de los cartuchos de extracción y deterioro prematuro de la columna al introducir más carga matricial. En cualquier caso, la cantidad inyectada debería asegurar una buena señal de todos los compuestos sin que ésta estuviera saturada. Para dibenzo[*a,h*]antraceno, benzo[*g,h,i*]perileno e indeno[1,2,3-*c,d*]pireno, cuyas señales eran pobres con el volumen elegido, fue necesario modificar la ganancia del detector.

Se demostró que los cartuchos eran reutilizables mediante la realización de 300 extracciones con un único cartucho. En la **Figura 6** se compararon las señales FLD B obtenidas para patrones de la misma concentración, desde la primera extracción hasta la extracción 300. Se observó una buena repetibilidad, con coeficientes de variación inferiores a un 15 % (**Tabla 4**). A la vista de los resultados obtenidos, se optó por usar el mismo cartucho para un máximo de 100 extracciones.

**Tabla 4.** Repetibilidad para un único cartucho de SPE. Evaluación de las áreas obtenidas en 3 extracciones de agua desionizada dopada con  $4 \mu\text{g L}^{-1}$  de PAHs: extracción “1” (28/01/15), extracción “100” (02/02/15) y extracción “300” (18/02/15).

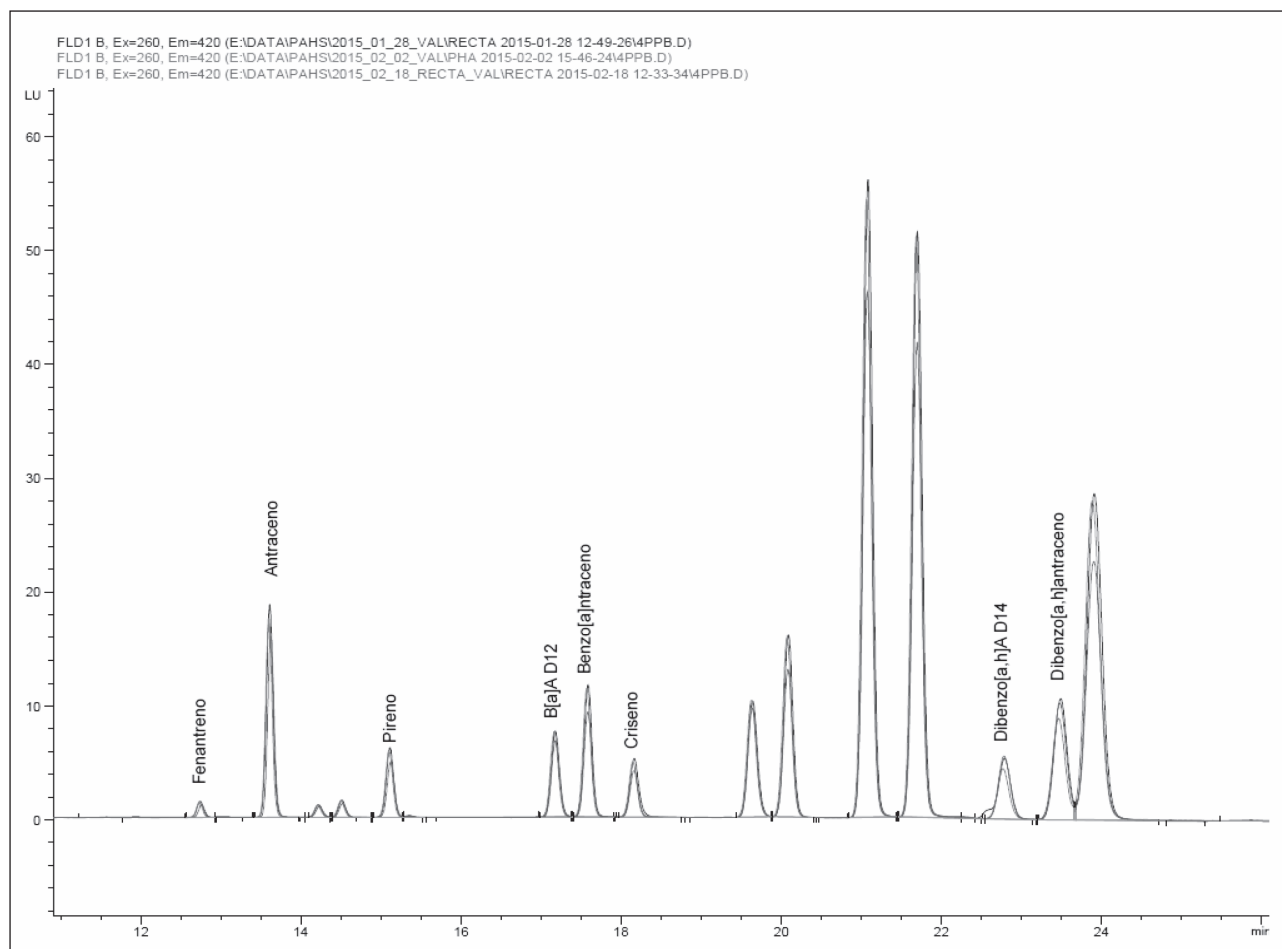
Compuesto	“1”	“100”	“300”	Media	Desviación	CV (%)
Naftaleno	29	25	25	27	2	9
Acenaftileno	94	88	96	93	4	5
Acenafteno	15	14	12	14	1	10
Fluoreno	30	27	24	27	3	11
Fenantreno	8	7	6	7	1	11
Antraceno	110	101	96	103	7	7
Fluoranteno	20	18	17	18	1	8
Pireno	40	38	34	37	3	9
Benzo[a]antraceno	82	78	74	78	4	5
Criseno	40	35	32	36	4	11
Benzo[b]fluoranteno	155	149	144	149	5	4
Benzo[k]fluoranteno	217	207	194	206	12	6
Benzo[a]pireno	112	108	101	107	5	5
Dibenzo[a,h]antraceno	124	101	118	114	12	10
Benzo[g,h,i]perileno	107	107	91	102	9	9
Indeno[1,2,3-cd]pireno	59	56	55	57	2	4

Por otro lado, se escogió la columna Zorbax Eclipse PAH ya que resultó ser la óptima para este análisis (*Henderson y col., 2008*), no presentando problemas de sobrepresión. Esta columna produjo una buena separación de todos los compuestos incluso permitiendo la resolución a línea base del PAH nativo del marcado isotópicamente.

El principal problema encontrado fue la carga matricial de nuestras muestras. La inyección directa de la muestra en el sistema de SPE sin un tratamiento previo, podría generar múltiples problemas en el análisis, tales como sobrepresiones, interferencias, obstrucciones en el equipo y reducción de la vida útil de la columna. Para minimizar estos efectos, las muestras se diluyeron 1:10 y se centrifugaron antes de su tratamiento analítico. El carácter heterogéneo de estas muestras hizo que en ocasiones hubiera que emplear un factor de dilución de hasta 1:50 (APHA y col., 2012).

Para optimizar la detección se obtuvieron empíricamente los espectros de fluorescencia a diferentes longitudes de onda de excitación y de emisión, y con ellos se seleccionaron las más específicas y las de mayor sensibilidad. El equipo empleado permite trabajar con cuatro condiciones de emisión de fluorescencia de manera simultánea no siendo necesario establecer segmentos de tiempo. Igualmente se optimizó el DAD para el acenaftileno. Se seleccionó la longitud de onda más específica ( $\lambda = 228 \text{ nm}$ ).

**Figura 6.** Repetibilidad en la señal FLD1 B para un único cartucho de SPE. Superposición de la extracción “1” (28/01/15, trazo azul), extracción “100” (02/02/15, trazo rojo) y extracción “300” (18/02/15, trazo verde) de agua desionizada dopada con  $4 \mu\text{g L}^{-1}$  de PAHs.



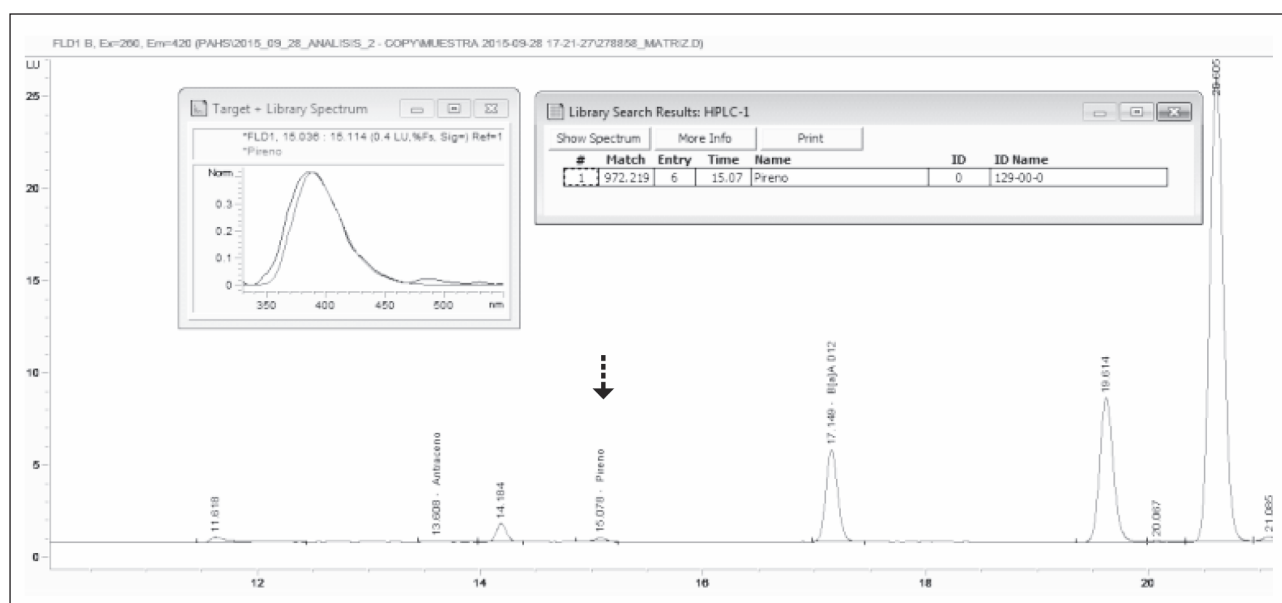
El uso de patrones internos fue esencial para compensar el diferente comportamiento tanto en la extracción como en el análisis cromatográfico de los PAHs. En este estudio se utilizaron como patrones internos PAHs marcados isotópicamente para asegurar que las muestras no los contenían. Con la columna empleada, los tiempos de retención de los compuestos marcados son inferiores a sus respectivos nativos (las interacciones de los deuterios son ligeramente más débiles que la de los H), pudiéndose llegar a resolver a línea base, pero manteniendo un comportamiento físico-químico análogo.

Se seleccionaron cinco patrones internos distribuidos a lo largo de todo el cromatograma. Para corregir cada compuesto se eligió el patrón interno con tiempo de retención más próximo y que, a su vez, tuviera un comportamiento similar (**Tabla 3**).

En algunas muestras puntuales con alto contenido orgánico y, a pesar de las medidas adoptadas para disminuir el efecto matriz, se observó la presencia de compuestos interferentes. Esto supuso un problema sobre todo para el uso de benzo [b]fluoranteno-d12 como patrón interno ya que en algunas muestras coelúa con otros compuestos de la matriz. Por ello se introdujo b[k]fluoranteno-d12 como alternativa para cuantificar los compuestos asociados al benzo[b]fluoranteno-d12.

El software del equipo permitió completar la identificación de los compuestos mediante la creación de una biblioteca en la que se incluyeron los espectros de referencia de los compuestos de interés, para poder llevar a cabo una comparación espectral (Figura 7).

**Figura 7.** Identificación y confirmación de la presencia de pireno en una muestra de agua residual. Identificación del compuesto por su tiempo de retención (15,078 min) y confirmación de su presencia por comparación con su espectro de referencia, evaluado por el RMatch.



Otra dificultad en la optimización fue la baja solubilidad de los PAHs en agua, sobre todo de los más pesados, así como su adsorción al vidrio (ISO 17993:2002). Con la adición de un 10% de isopropanol a las muestras se aumentó la solubilidad sin verse afectada la capacidad de retención con la SPE además de conseguir una sensibilidad adecuada (Tabla 5).

**Tabla 5.** Comparativa de señales obtenidas en dos muestras preparadas con dos porcentajes de isopropanol (IP) diferentes (< 1% y 10%).

Compuesto	Muestra 1		Muestra 2	
	0,6 % IP	10 % IP	0,6 % IP	10 % IP
Naftaleno	38	52	32	40
Acenaftileno	26	67	80	111
Acenafteno	4	14	17	25
Fluoreno	16	39	42	60
Fenantreno	6	12	12	16
Antraceno	78	167	152	226
Fluoranteno	18	32	28	37
Pireno	38	66	57	76
Benzo[ <i>a</i> ]antraceno	83	140	107	162
Criseno	30	51	34	61
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranteno	87	129	92	149
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranteno	51	86	48	147
Benzo[ <i>a</i> ]pireno	32	63	32	81
Dibenzo[ <i>a,h</i> ]antraceno	21	31	19	37
Benzo[ <i>g,h,i</i> ]perileno	20	39	19	49
Indeno[1,2,3- <i>cd</i> ]pireno	35	70	34	92
Fluoranteno D10	8	14	12	17
Benzo[ <i>a</i> ]antraceno D12	37	53	45	66
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranteno D 12	34	51	36	66
Dibenzo[ <i>a,h</i> ]antraceno D14	8	12	8	16
Indeno [1,2,3- <i>cd</i> ]pireno D12	12	25	12	38
B[ <i>k</i> ]fluoranteno D12	21	32	19	57

### 3.2. Evaluación analítica del método

Se evaluó el método utilizando un rango de trabajo de 20 a 60  $\mu\text{g L}^{-1}$  por cada PAH, intervalo cercano al valor exigido por el Decreto Autonómico de la Comunidad de Madrid 57/2005 (100  $\mu\text{g L}^{-1}$  por PAH individual).

Se hizo un estudio de la linealidad del método de SPE-HPLC en el intervalo 1 - 6  $\mu\text{g L}^{-1}$  evaluando los resultados obtenidos de múltiples curvas de calibrado analizadas durante un período de tiempo. En todas ellas se obtuvo un coeficiente de correlación (R) superior a 0,99 y desviaciones estándar de los factores de respuesta (FR) menores de un 20 % (Tabla 6).



**Tabla 6.** Coeficientes de correlación (R) y factores de respuesta obtenidos para cada compuesto en su análisis mediante SPE en línea HPLC/DAD/FLD. Los compuestos benzo[*b*]fluoranteno, benzo[*k*]fluoranteno y benzo[*a*]pireno son medidos con patrón interno benzo[*b*]fluoranteno-d12 (BbF-d12) o B[*k*]fluoranteno-d12 (BkF-d12) según las interferencias de la matriz analizada.

Compuesto	R	FR %
Naftaleno	0,9933	1,3
Acenaftileno	0,9924	0,8
Acenafteno	0,9952	0,8
Fluoreno	0,9938	1,3
Fenantreno	0,9978	0,6
Antraceno	0,9977	0,7
Fluoranteno	0,9988	0,9
Pireno	0,9983	1,0
Benzo[ <i>a</i> ]antraceno	0,9989	1,0
Criseno	0,9974	1,7
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranteno (BbF-d12)	0,9992	0,9
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranteno (BkF-d12)	0,9923	1,9
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranteno (BbF-d12)	0,9938	2,2
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranteno (BkF-d12)	0,9994	0,5
Benzo[ <i>a</i> ]pireno (BbF-d12)	0,9972	1,3
Benzo[ <i>a</i> ]pireno (BkF-d12)	0,9948	1,0
Dibenzo[ <i>a,h</i> ]antraceno	0,9983	1,0
Benzo[ <i>g,h,i</i> ]perileno	0,9914	1,1
Indeno[1,2,3- <i>cd</i> ]pireno	0,9987	0,9

Siguiendo el procedimiento descrito, se analizaron muestras de agua residual – vertidos, entradas y salidas de EDAR-dopadas a tres niveles diferentes de concentración y en diferentes días, dentro del intervalo de trabajo (20 – 60  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Con los datos obtenidos se hizo un estudio estadístico de la exactitud y precisión máximas del método, así como la recuperación mínima y máxima para cada tipo de matriz (**Tablas 7-9**).

**Tabla 7.** Exactitud, precisión y recuperación del método SPE–HPLC-DAD/FLD en influente EDAR.

Compuesto	Exactitud (%)	Precisión (%)	Recuperación	
			Mínima	Máxima
Naftaleno	12,5	9,5	88	102
Acenaftileno	7,5	15,7	96	101
Acenafteno	12,1	4,1	88	94
Fluoreno	14,0	9,5	86	94
Fenantreno	13,4	6,7	87	94
Antraceno	6,8	4,0	93	104
Fluoranteno	14,2	10,7	86	93
Pireno	9,6	3,7	97	110
Benzo[ <i>a</i> ]antraceno	11,4	0,9	101	111
Criseno	15,7	1,1	104	116
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranteno (BbF-d12)	14,1	7,0	86	92
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranteno (BkF-d12)	16,9	0,4	107	117
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranteno (BbF-d12)	13,0	0,3	102	113
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranteno (BkF-d12)	10,9	0,5	99	111
Benzo[ <i>a</i> ]pireno (BbF-d12)	6,4	5,8	99	106
Benzo[ <i>a</i> ]pireno (BkF-d12)	10,2	6,7	102	110
Dibenzo[ <i>a,h</i> ]antraceno	7,9	1,4	95	108
Benzo[ <i>g,h,i</i> ]perileno	11,3	7,2	94	111
Indeno[1,2,3- <i>cd</i> ]pireno	14,1	10,7	86	93

**Tabla 8.** Exactitud, precisión y recuperación del método SPE–HPLC-DAD/FLD en efluente EDAR.

Compuesto	Exactitud (%)	Precisión (%)	Recuperación	
			Mínima	Máxima
Naftaleno	9,5	16,7	90	102
Acenaftileno	10,3	16,4	94	107
Acenafteno	10,7	9,4	89	102
Fluoreno	13,0	11,7	87	98
Fenantreno	8,7	8,0	91	98
Antraceno	12,9	7,7	87	96
Fluoranteno	5,8	2,3	94	100
Pireno	11,9	8,2	88	97
Benzo[ <i>a</i> ]antraceno	3,1	0,9	97	103
Criseno	7,3	7,8	93	101
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranteno (BbF-d12)	3,7	2,5	96	104
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranteno (BkF-d12)	17,7	12,0	100	118
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranteno (BbF-d12)	12,4	9,5	88	105
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranteno (BkF-d12)	11,8	1,3	101	112
Benzo[ <i>a</i> ]pireno (BbF-d12)	10,8	8,5	89	100
Benzo[ <i>a</i> ]pireno (BkF-d12)	17,5	12,6	99	117
Dibenzo[ <i>a,h</i> ]antraceno	10,5	1,6	101	111
Benzo[ <i>g,h,i</i> ]perileno	5,3	9,8	95	105
Indeno[1,2,3- <i>cd</i> ]pireno	4,7	2,0	95	102

**Tabla 9.** Exactitud, precisión y recuperación del método SPE–HPLC-DAD/FLD en vertido EDAR.

Compuesto	Exactitud (%)	Precisión (%)	Recuperación	
			Mínima	Máxima
Naftaleno	11,8	14,7	88	100
Acenaftileno	7,5	8,9	92	106
Acenafteno	7,1	13,1	94	107
Fluoreno	16,0	3,5	102	116
Fenantreno	7,1	5,9	93	101
Antraceno	10,8	10,3	89	99
Fluoranteno	4,8	0,5	95	101
Pireno	10,4	5,1	90	97
Benzo[ <i>a</i> ]antraceno	5,3	1,4	95	101
Criseno	13,7	15,9	106	114
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranteno (BbF-d12)	4,1	2,5	96	101
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranteno (BkF-d12)	7,2	2,1	97	107
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranteno (BbF-d12)	13,9	13,7	86	101
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranteno (BkF-d12)	8,6	3,2	98	109
Benzo[ <i>a</i> ]pireno (BbF-d12)	10,0	8,7	90	98
Benzo[ <i>a</i> ]pireno (BkF-d12)	12,6	6,2	99	113
Dibenzo[ <i>a,h</i> ]antraceno	6,0	4,8	94	99
Benzo[ <i>g,h,i</i> ]perileno	11,8	4,1	88	94
Indeno[1,2,3- <i>cd</i> ]pireno	7,0	1,8	93	99

Todos los valores de precisión y exactitud obtenidos fueron menores del 20 % y las recuperaciones se situaron entre el 80% y el 120%.

Los límites de detección se determinaron analizando veinte veces un patrón acuoso de muy baja concentración. Se tomó como límite de detección el triple de la desviación estándar de los resultados obtenidos (**Tabla 10**).

**Tabla 10.** Límites de detección del método de SPE–HPLC-DAD/FLD.

Compuesto	Límite Detección (ng L <sup>-1</sup> )
Naftaleno	2,0
Acenaftileno	0,8
Acenafteno	0,7
Fluoreno	0,4
Fenantreno	2,0
Antraceno	0,5
Fluoranteno	0,2
Pireno	1,0
Benzo[ <i>a</i> ]antraceno	0,5
Criseno	0,6
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranteno (BbF-d12)	0,1
Benzo[ <i>b</i> ]fluoranteno (BkF-d12)	0,3
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranteno (BbF-d12)	0,3
Benzo[ <i>k</i> ]fluoranteno (BkF-d12)	0,4
Benzo[ <i>a</i> ]pireno (BbF-d12)	0,3
Benzo[ <i>a</i> ]pireno (BkF-d12)	0,7
Dibenzo[ <i>a,h</i> ]antraceno	0,2
Benzo[ <i>g,h,i</i> ]perileno	0,7
Indeno[1,2,3- <i>cd</i> ]pireno	0,4

Este estudio demuestra que los PAHs pueden ser medidos mediante esta técnica automatizada de preconcentración tanto en aguas residuales y vertidos para poder dar cumplimiento al Decreto Autonómico de la Comunidad de Madrid 57/2005 que establece como criterios de aceptación una limitación de 20% para la precisión, una limitación de 20% para la exactitud y un 10% del valor límite establecido (100  $\mu\text{gL}^{-1}$  por compuesto individual) para el límite de detección.

La validez del método desarrollado para la determinación propuesta se determinó mediante participación en diferentes ensayos interlaboratorios (**Tabla 11**). Para cuantificar los datos, los resultados de estos estudios fueron evaluados estadísticamente mediante el z-score según la siguiente fórmula:

$$z = \frac{(x-X)}{\text{SDPA}}$$

x = Valor obtenido.

X = Valor de referencia.

SDPA = Desviación estándar para la evaluación.

Siendo satisfactorio con  $z < 2$ , cuestionable con un  $z$  entre 2 y 3 y no satisfactorio con  $z > 3$ .

Tabla 11. z-Score obtenido en distintos ejercicios de ensayos interlaboratorios.

Compuesto	z-Score			
	Ejercicio 1	Ejercicio 2	Ejercicio 3	Ejercicio 4
Naftaleno	-2,23	-0,42	-0,56	0,39
Acenaftileno	-1,58	1,53	0,29	-1,47
Acenafteno	-0,71	1,48	0,49	0,01
Fluoreno	0,15	1,95	0,21	-1,02
Fenantreno	-1,11	1,61	1,05	1,03
Antraceno	-0,89	1,08	0,5	-0,48
Fluoranteno	-1,19	0,52	1,13	1,06
Pireno	0,29	0,55	1,07	0,50
Benzo[a]antraceno	-1,04	0,78	-0,15	1,97
Criseno	-0,52	1,03	0,89	0,39
Benzo[b]fluoranteno	-1,03	1,00	1,13	0,80
Benzo[k]fluoranteno	-0,51	0,98	0,72	0,63
Benzo[a]pireno	-1,14	1,03	0,87	-0,50
Dibenzo[a,h]antraceno	-0,74	0,42	1,03	0,46
Benzo[g,h,i]perileno	-1,70	0,95	0,37	-0,50
Indeno[1,2,3-cd]pireno	-1,61	1,08	0,11	0,07

Todos los resultados fueron satisfactorios excepto en el ejercicio 1, en el que el naftaleno dio un resultado cuestionable por contaminación en la recta de calibrado usada.

#### 4. CONCLUSIONES

La metodología descrita en este artículo presenta una serie de ventajas con respecto a la extracción *off-line*. La automatización del método minimiza los errores de manipulación, el tiempo empleado en la preparación de la muestra y el consumo de disolventes y de cartuchos, reduciendo así los costes de la técnica. A su vez, al generarse menos residuos, también supone una reducción de su coste medioambiental (huella ecológica). Con este estudio se ha demostrado que la extracción mediante SPE en línea es una técnica eficaz para el análisis de PAHs en muestras acuosas de distinta naturaleza. Además, cada cartucho puede ser empleado para múltiples extracciones, mientras que en la técnica *off-line* se usa un cartucho por extracción. El dispositivo desarrollado para la rápida elución de los PAHs del cartucho con 100% de acetonitrilo, permite mejorar notablemente la simetría y perfecta resolución de los analitos de interés.

El uso de estándares internos deuterados que cubren los distintos subgrupos permite controlar las variaciones en las recuperaciones de las distintas muestras de una manera robusta. Gracias a esto se puede trabajar con verificaciones diarias sin necesidad de calibrar día a día, lo que también supone un ahorro económico y de tiempo.

La técnica presenta una excelente linealidad, con coeficientes de correlación superiores a 0,99 y desviaciones estándar de los factores de respuesta menores de un 5%. Se obtuvieron recuperaciones entre un 85% y un 120%, valores de exactitud y

precisión menores del 20% y límites de detección inferiores a  $2 \mu\text{g L}^{-1}$  para todos los compuestos. Por tanto, se concluye que este método cumple con los requisitos exigidos por la legislación para la determinación analítica de PAHs.

## AGRADECIMIENTOS

Al Canal de Isabel II Gestión por facilitar los medios para llevar a cabo el desarrollo del método.  
A Agilent Technologies por su asesoramiento tanto instrumental como operacional.

## BIBLIOGRAFÍA

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). “Toxicological profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)” (1995). Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
- APHA-AWWA-WPCF, Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater, 22 edition (2012).
- DECRETO 57/2005, de 30 de junio, por el que se revisan los Anexos de la Ley 10/1993, de 26 de octubre, sobre Vertidos Líquidos Industriales al Sistema Integral de Saneamiento.
- Forsgren, A.J. Wastewater Treatment: Occurrence and Fate of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). CRC Press (2015).
- Fox, M.A., Whitesell, J.K., Química Orgánica 2º Ed., Pearson Educación (2000).
- Henderson, J. W., Biazzo W., Long W. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Separations Using ZORBAX Eclipse PAH Columns – Analyses from Six to 24 PAHs Agilent Technologies, Inc.(2008). Disponible en <https://www.agilent.com/cs/library/applications/5989-7968EN.pdf>.
- ISO 17993:2002 Water quality -- Determination of 15 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in water by HPLC with fluorescence detection after liquid-liquid extraction (con revisión en 2013).
- Jiries, A., Hussain, H., Lintelmann, J. “Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in wastewater, sediments, sludge and plants in Karak Province, Jordan”. Water, air, and soil pollution (2000), 121 (1-4), 217-228.
- Kabzinski, A.K.M., Cyran, J., Juszczak, R. “Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water (including drinking water) of Lodz”. Polish Journal of Environmental Studies. Vol. 11, No. 6 (2002), 695-706.
- Karyab, H., Yunesian, M., Nasser, S., Mahvi, A. H., Ahmadkhaniha, R., Rastkari, N., Nabizadeh, R. “Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in drinking water of Tehran, Iran”. Journal of Environmental Health Sciences & Engineering (2013). 11:25.
- Marín Galvín, R. “Fisicoquímica y microbiología de los medios acuáticos. Tratamiento y control de calidad de aguas”. Editorial Díaz de Santos (2003).
- Moja, S.J., Mtunzi, F. “Application of solid phase extraction (SPE) method in determining polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in river water samples” Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology (2013), Vol. 5(11), 278-283.
- Moja, S.J., Mtunzi, F., Madlanga, X. “Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in river water samples from the Vaal Triangle area in South Africa” Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering (2013), 48:8, 847-854.
- Nollet, L.M.L., De Gelder, L. S. P. Handbook of Water Analysis, Third Edition. CRC Press (2013).
- Nuhu, A.A., Basheer, C., Shaikh, A.A., Al-Arfaj, A.R. “Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water Using Nanoporous Material Prepared from Waste Avian Egg Shell”. Journal of Nanomaterials (2012).
- USEPA Method 550.1(1990). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in drinking water by liquid-solid extraction and HPLC with coupled ultraviolet and fluorescence detection United States Environmental Protection Agency.
- USEPA. “Polycyclic Organic Matter” (2002). United States Environmental Protection Agency.
- World Health Organisation (WHO). “Environmental Health Criteria: EHC Monograph” (1998). N°202.

# NOTICIAS DE LA SECyTA

## XVI REUNIÓN CIENTÍFICA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CROMATOGRAFÍA Y TÉCNICAS AFINES (SECyTA2016)

El Comité Organizador de la **XVI Reunión Científica de la Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines (SECyTA2016)** tiene el placer de invitarte a participar en esta edición que, organizada por el Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología (IRNAS-CSIC), se celebrará entre los días 2 y 4 de noviembre de 2016 en la ciudad de Sevilla.

### Sede

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Informática (ETSII)  
Universidad de Sevilla (US)  
Campus Reina Mercedes  
Avda. Reina Mercedes, 41080 Sevilla

### Programa científico

Este año nuestra Reunión está estructurada en tres días con conferencias plenarias, invitadas y comunicaciones orales (incluyendo sesiones para jóvenes investigadores), así como sesiones de pósteres y exposición comercial. Como en ediciones anteriores, el programa científico tratará de los últimos desarrollos en técnicas de separación cromatográfica y afines, así como sus múltiples acoplamientos y aplicaciones. Las sesiones estarán dedicadas a temas como la comparación de métodos de espectrometría de masas de alta resolución, últimos avances en métodos de análisis de relaciones isotópicas estables en compuestos específicos, métodos de detección de micotoxinas en alimentos, técnicas de separación para los fluidos utilizados en fracking y avances en los métodos automáticos de análisis de contaminantes atmosféricos, entre otros.

### Comité organizador

José A. González Pérez (Chairman), IRNAS-CSIC  
José María de la Rosa Arranz (Vice-Chairman), IRNAS-CSIC  
Francisco Javier González Vila, IRNAS-CSIC  
Francisco Javier Santos Vicente, Universitat de Barcelona  
José Julio Ortega Calvo, IRNAS-CSIC  
José Manuel Florencio Nogueira, Universidade de Lisboa

Juan Vicente Sancho Llopis, Universitat Jaume I  
Jordi Díaz Ferrero, Universitat Ramon Llull, IQS  
Gonzalo Almendros Martín, MNCN-CSIC  
Miguel Ángel Bello, Univ. Sevilla, Fac Química  
Rut Fernández Torres, Univ. Sevilla, Fac Química  
Antonio M. Gil Serrano, Univ. Sevilla, CITIUS  
Bernardo Hermosín, IRNAS-CSIC  
Heike E. Knicker, IRNAS-CSIC  
Rafael López Núñez, IRNAS-CSIC  
Fernando Madrid, IRNAS-CSIC  
Jaime Villaverde Capellán, IRNAS-CSIC  
Ana Zelia Miller, IRNAS-CSIC

### Comité científico

Francisco Javier González Vila, (Chairman), IRNAS-CSIC  
Ana R. Díaz Marrero, IUBO-Universidad de La Laguna  
Ana María García Campaña, Universidad de Granada  
Belén Gómara Moreno, IQOG-CSIC  
José Luís Gómez Ariza, Universidad de Huelva  
María José González Carlos, IQOG-CSIC  
José A. González Pérez, IRNAS-CSIC  
Joan Grimalt Obrador, IDAEA-CSIC  
Elena Ibáñez Ezequiel, CIAL-CSIC  
Begoña Jiménez Luque, IQOG-CSIC  
Marta Lores Aguín, Universidad de Santiago de Compostela  
Francisco Javier Moreno Andújar, CIAL-CSIC  
Yolanda Picó García, Universidad de Valencia  
María Victoria Ruiz Méndez, IG-CSIC

### Conferenciantes invitados confirmados

Prof. Dr. María José González Carlos (IQOG-CSIC), Madrid, España  
“Advances in environmental chemistry linked to separation techniques development: my personal experience”  
  
Prof. Dr. Earl Michael Thurman (University of Colorado), Boulder, U.S.A.  
“Analytical methods for the study of hydraulic fracturing fluids and waters”



Prof. Dr. Jorge E. Spangenberg (University of Lausanne), Suiza

“Effects of water stress on vine leaf surface waxes and wine VOCs”

Prof. Dr. Sarah De Saeger (Ghent University), Bélgica  
 “UHPLC-MS-based metabolomics strategies to investigate known and novel fungal secondary metabolites”

### Premios

XII Edición de los Premios José Antonio García Domínguez patrocinados por BRUKER. Los premios tienen por objeto reconocer el mérito científico de las comunicaciones sobre Cromatografía y sus Técnicas Afines, tanto orales como pósteres, presentadas por jóvenes investigadores en la XVI Reunión Científica de la Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines (SECyTA), que se celebrará en Sevilla del 2 al 4 de noviembre de 2016.

Estos Premios quieren honrar la memoria del Dr. José Antonio García Domínguez, investigador del Instituto de Química-Física Rocasolano (CSIC), pionero de la cromatografía de gases en España y uno de los fundadores del Grupo de Cromatografía y Técnicas Afines (GCTA, actualmente SECyTA).

El Premio en esta edición estará compuesto por los siguientes galardones:

- Premio a la mejor comunicación oral (800 euros)
- Premio a la segunda mejor comunicación oral (600 euros)
- Premio al mejor cartel (400 euros)
- Premio al segundo mejor cartel (300 euros)

Las bases de los premios se pueden encontrar en:  
[http://secyta2016.com/?page\\_id=168](http://secyta2016.com/?page_id=168)

### Becas

La SECyTA apoya de manera decisiva la participación de jóvenes investigadores mediante la concesión de becas y bolsas de viaje. Los jóvenes investigadores que quieran solicitar beca deben hacerlo según los formularios y requisitos establecidos por la Sociedad y disponibles en: [http://secyta2016.com/?page\\_id=126](http://secyta2016.com/?page_id=126). Aquellos jóvenes investigadores que soliciten beca deberán realizar el pago de la inscripción como cualquier otro participante. La solicitud junto con la docu-

mentación requerida debe enviarse a la secretaría de la SECyTA: [secretaria.secyta@gmail.com](mailto:secretaria.secyta@gmail.com)

Para más información, contactar con la secretaría de la SECyTA.

### Fechas clave:

#### 1 de abril de 2016

Apertura envío de comunicaciones e inscripción on-line

#### 11 de julio de 2016:

Fecha límite envío de comunicaciones

#### 31 de julio de 2016:

Comunicación aceptación presentación (oral/póster)

#### 9 de Septiembre de 2016:

Fecha límite inscripción con cuota reducida

Fecha límite solicitud becas para estudiantes

#### 15 de septiembre de 2016:

Envío de comunicaciones de última hora que pueden ser incluidas sólo como póster en el Programa Final

#### 2 de noviembre de 2016:

SECyTA2016

## NUEVOS SOCIOS DE LA SECyTA

1799

Campos Mañas, Marina Celia  
Universidad de Almería  
C/ Sacramento s/n  
04120 La Cañada (Almería)

1801

Maceira Torrents, Alba  
Departament de Química Analítica i Química Orgànica  
Universitat Rovira i Virgili (URV)  
Marcel·lí Domingo, s/n  
43007 Tarragona

1802

Vera Carrasco, Luciano Alexis  
ODOURNET SL  
Can Domenec s/n del Parc de Recerca UAB-Edificio  
Eureka, N° P2M2  
08193 Bellaterra (Barcelona)

1803

Ferreira Lazarte, Álvaro  
Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimen-  
tación (CIAL-UAM)  
C/ Nicolás Cabrera, 9  
28049 Madrid

1804

Bodas Morales, Bernabé  
C/ Alejandro Casona, 3  
28035 Madrid

1806

García Reyes, Juan Francisco  
Departamento de Química Física y Analítica, Univer-  
sidad de Jaén  
Campus Las Lagunillas, s/n Edificio B3, Despacho  
114  
23071 Jaén

1807

Fernández Torres, Rut  
Departamento de Química Analítica, Facultad de  
Química, Universidad de Sevilla  
C/ Profesor García González, s/n  
41012 Sevilla

1808

Álvarez Segura, Tamara  
Pizarro, 54-4°-pta 12  
46930 Quart de Poblet (Valencia)

1809

Rey Salinero, Sara  
Rio Garona, 5  
28934 Móstoles, (Madrid)



# INFORMACIONES

## CONGRESOS CELEBRADOS

### THE XVI LATIN AMERICAN CONGRESS ON CHROMATOGRAPHY

The XVI Latin American Congress on Chromatography (COLACRO) was held in Lisbon (Portugal) between 5<sup>th</sup>-9<sup>th</sup> January 2016. COLACRO is among the five greatest worldwide symposiums on chromatography and related techniques. The series, started in 1986 in Rio de Janeiro (Brazil) by professor Fernando Lanças, has been held biennial in south-America countries and has become an important event in separation science. This year, COLACRO symposium celebrated the pearl anniversary (30 years) and it was organized, for the first time out of south-America continent, by the Chromatography group of the Portuguese Chemical Society (SPQ) and it has taken place at the campus of the Faculty of Sciences of the University of Lisbon. Therefore, to highlight this partnership, the key theme was 'Building Bridges of Cooperation in Separation Science'.

During 5 days, 6 plenary and 28 key notes lectures by international renowned invited speakers of 11 countries and 48 oral communications, split into parallel sessions, were presented. Regarding poster communications, about 200 posters were presented in 2 sessions.

The scientific program began on Tuesday 5<sup>th</sup> with two interesting courses about hyphenated and multidimensional gas and liquid chromatographic techniques, coordinated by Dr. Elena Stashenko and Dr. Fernando Lanças, respectively. In both, new approaches and applications of GC×GC and LC×LC were presented by experts in chromatography. Regarding the GC course, Dr. Cláudia Zini introduced the basic concepts about GC×GC, and Dr. Mondello explained advanced applications of this technique. In the afternoon, Drs. Anderson and Stashenko presented applications of ionic liquids (ILs) in GC-MS and tandem mass spectrometry detection, respectively. In the LC course, Dr. Lanças began with a presentation about LC-MS and LC-MS/MS, followed by two presentations about LC×LC by Dr. Queiroz and Dr. Schoenmakers. Finally, a nice welcome cocktail took place in the evening to welcome all the assistants.

On Wednesday, the day began with the open ceremony and with the award ceremony. During all the day, several plenary, parallel and poster sessions took place. Dr. Fernando Lanças, chairman of the congress, gave an extended plenary lecture about the thirty years of COLACRO history. Afterwards, Dr. Francisco Cereceda made an interesting presentation about the transport of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their deposition on snow samples from Chilean Andes and Northern Antarctic Peninsula. The next key note lecture was done by Dr. Valerie Pichon, who described biological and biomimetic tools for the selective extraction of compounds at the trace level in complex samples. After that, the first poster session took place during the coffee break. This time, about a hundred posters were presented and exhibited until Thursday. In the second part of the morning programme, Dr. Marcela Segundo gave an overview of bead injection as automatic sample technique. Three parallel sessions (each consisting of two communications), followed by a seminar given by Waters, concluded the morning session.

Dr. Boguslaw Buszewski opened the afternoon lectures giving an overview about the separation of biocolloids by electromigration techniques, highlighting that there is still a long way to go in this respect. After that, Dr. Salvatore Fanali presented his dissertation about chiral separations focused on the use of nano-liquid chromatography. These lectures gave way to three parallel sessions of two oral communications followed by one of the posters session A during the coffee break. The last key note of the day was done by Dr. M. Miró who provided an overview of the new approaches related to flow analysis for on-line sorptive microextraction. Afterwards, several Portuguese and Chilean speakers presented their research in parallel oral communications. To end up the day, participants tasted typical wine and cheese in the Lisbon City Museum meanwhile the Tuna, a group of young University students, performed some Portuguese songs.

Thursday morning, Dr. Elena Stashenko was in charge of opening first lectures session dealing with the isolation and chromatographic analysis of bioactive compounds of exotic plants from Colombia, where Dr. Stashenko conducts her research. Then, Dr.

Eugenia Gallardo explained the challenges in the analysis of samples from a forensic toxicology perspective. Later, Dr. Carmen García Jares offered an overview of the analytical control of cosmetics highlighting the contribution of her research group in this area. After the coffee break and a posters session A, Dr. Eduardo Figueiredo spoke about obtaining and characterization of carbon nanotubes and molecular imprinted polymers for their application in the extraction of organic compounds directly from biological fluids. Before lunch, a triple session of oral communications and a seminar about analysis of dioxins by GC-QqQ MS given by Bruker were held.

Thursday afternoon was devoted to the VII Workshop on Recent Advances on Sample preparation (VII WARPA), a satellite event that in the last editions of the congress was included in COLACRO. WARPA consisted of six key note lectures that dealt with the state of the art of sample preparation techniques. In that sense, Dr. M.A. Queiroz gave an overview of the new trends in sample preparation for analysis of drugs in biological samples. Dr. J. Nogueira described some of the achievements made in his lab concerning new approaches based on microextraction techniques. Afterwards, Dr. E. Psillakis focused on the physical phenomena that take place during sorptive microextraction which are usually obviated by separation scientists. The next key note was done by Dr. E. Carasek who described some innovative microextraction procedures. Dr. R. Lucena spoke about novel extractant phases mainly using carbon nanotubes. Finally, the last key note of the day was done by Dr. A. Malik that gave an extended lecture on Sol-Gel materials for the analysis of biologically important molecules. To conclude the day, conference dinner was celebrated in Casa do Alentejo, a typical Portuguese restaurant, situated in Lisbon Old Town.

Friday started with a plenary lecture by Dr. L. Mondello in which several approaches based on comprehensive LC and GC were described for the analysis of food samples. After that, Dr. J. Anderson gave a key note lecture on the use of ILs as capillary columns for multidimensional gas chromatography and as extractant phases for microextraction. In the next key note, Dr. C. Zini explained the work done in her lab regarding the GC×GC-MS analysis of sulfur compounds in petroleum derivatives using ILs columns. Poster session B, where almost 100 posters were presented, started at coffee break time. The last

key note lecture of the morning was done by Dr. M. Silva and dealt with several applications of GC×GC developed by the speaker's group. Three parallel sessions of two communications each concluded the morning session.

Friday afternoon began with a plenary lecture by Dr. P. Shoenmakers where the capabilities and applications of two-dimensional LC were explained. Next, Dr. F. Augusto gave a key note lecture reporting a wide range of advances and applications of GC×GC. Following the three parallel sessions, Dr. S. Rocha gave a key note lecture on several important aspects to be considered in the metabolomics analysis of microorganisms using GC×GC-ToF MS. To conclude the day at the congress, other three parallel sessions were held. After this intense conference day, the participants were invited to a nice "Lisbon by night" city tour.

The last day, Saturday morning, started with a plenary lecture given by Dr. A. Cifuentes from the National Research Council of Spain, about food ingredients, cancer and foodomics. In this line, the session was continued with two key notes, the first by Dr. J. Ferrero on the analysis of dechlorane plus and related compounds in food samples, and the second by Dr. R. Aires-Barros on aqueous two-phase systems for extraction of biological products. After that, the last poster session B took place during the coffee break. Then, Dr. E. Ibañez described the foodomics work developed in her lab on the discovery of new functional food ingredients with antiproliferative activity. A three parallel oral communication session gave way to the closing ceremony where awards to the best presentations were delivered and future conferences on chromatography were presented.

**María Celeiro** (*Universidad de Compostela*)  
**María Eugenia Guerra** (*Universidad de Compostela*)  
**Alexis Marsol** (*Universitat de Lleida*)

**14TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM  
ON HYPHENATED TECHNIQUES IN  
CHROMATOGRAPHY AND  
SEPARATION TECHNOLOGY (HTC-14).**

This edition of HTC took place at the historic city of Ghent and was accommodated in “Het Pand”, an old Dominican monastery located in the heart of the city on the banks of the river Leie, near the medieval port, from January 27 until 29, 2016. Ghent offered the opportunity to combine a varied scientific programme with a rich social programme and tranquil sightseeing.

HTC is the premier platform for state-of-the-art developments in hyphenated separation techniques with a rich history of successful editions since its first instalment in 1990. Presentations by internationally renowned experts both from industry and academia combined with specific Ph.D. sessions are the ideal ingredients for a fruitful journey through the invigorating landscape of separation technology. As in previous editions, HTC-14 covered all fundamental aspects about instrumental developments and applications of hyphenated chromatographic techniques. These included hyphenation between chromatography and (new) detection systems, multi-column (multi-dimensional) chromatography, and the coupling between sample preparation and separation techniques. Many aspects of chromatography were addressed, including automation and robotization, miniaturization and microfabricated analytical devices, high-pressure and high-temperature LC.

Besides the core scientific programme, the symposium hosted an attractive technical exhibition where companies active in the field presented their last developments in instrumentation, software and applications related to the hyphenation of separation, detection and sample preparation techniques topped with technical seminars.

The first day of the symposium started with the opening ceremony and the warm welcome of the HTC-14 chairman, Prof. Frederic Lynen (Ghent University, Belgium). After that, two plenary lectures: the first one given by Prof. Gert Desment (Vrije Universiteit Brussel, Belgium) entitled “*Building the ideal chromatography system: why, what and how*”, and the second one presented by Dr. Koen Sandra (Research Institute for Chromatography, Kortrijk,

Belgium) about “*The power of LC-MS and LCxLC in the characterization of recombinant proteins, monoclonal antibodies and antibody-drug conjugates*”.

Then, three parallel sessions were running full time over the day. A total of nine sessions with different topics: petrochemical and industrial analysis, high-performance separations, hyphenated approaches, ionization techniques and mass spectrometry, new method development strategies & chemometrics, emerging applications, emerging technologies for industry, on-line analyzers and GC, and new detection possibilities. In these sessions full of interesting lectures, it was possible to learn from recognised professors and members of the scientific committee to young emerging scientist. Moreover, ten poster flash presentations were carried out at the end of two of the speaker’s sessions. A number of posters had been previously selected for these flash presentations in order to give young researchers the opportunity to present their own research results and train their presentation skills.

To encourage scientific exchange and friendship building, the poster session was combined with a Belgian Beer tasting event at the end of the day.

The second day began with a plenary lecture: “SFC: No regrets” offered by Prof. Dr. Keith Bartle (University of Leeds, UK) that was, in addition, the Knox Award Lecture. Then, the conference “*Selective ionisation with high resolution mass spectrometry? The future for hyphenation in the petrochemical industry?*” given by Mr. Tom Lynch (BP Global lubricants technology, Reading, UK) was the second contribution for this second day.

To continue, a total of twelve sessions divided in four groups of three parallel sessions were running full time during the whole day. Also, other ten poster flash presentations given by young researchers took place at the end of two of the sessions. The topics of these sessions were as follows: LC-MS profiling and method development, the power of hyphenation, column technology, analysis of biopharmaceuticals, fundamentals in separation science, GC and GCxGC, biological sample preparation, food analysis, bioanalysis, new possibilities in separation science and detection, pushing detection limits in 2D-LC, and GC and SFC.

The day ended with an interesting event called “The battle of the Gurus”. Three internationally renowned figures in chromatography reflected on past developments and future challenges in analytical chemistry and entered in a debate on the position of hyphenation in a changing analytical landscape. It was absolutely memorable to see Prof. Peter Schoenmakers (University of Amsterdam, The Netherlands), Prof. Alexander Makarov (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany) and Dr. Pat Sandra (Research Institute for Chromatography, Kortrijk, Belgium) having this interesting discussion and defending three key aspects in analytical chemistry: efficiency, sensitivity and selectivity.

At night, it was celebrated the HTC-14 conference dinner.

The third and last day of the symposium started with plenary lecture offered by Dr. Hernan Cortes (H. J. Cortes Consulting LLC/ Dow Chemical Ret., Midland, United States) entitled “*An academic mentality in an industrial environment*”, recognized with the LCGC Lifetime Achievement Award.

After that, six sessions divided in three parallel sessions were running full time until lunch time. The topics of these last speaker’s sessions were as follows: environmental/toxicology analysis, advances in column technology, novel separation systems, advan-

ces in SFC, multi-dimensional LC and GC-MS separations, and fundamentals.

Two brilliant plenary conferences were the best ending to the HTC-14. First of them about “*Advances in LC and SFC analysis*” given by Prof. Jean-Luc Veuthey (University of Geneva, Switzerland), and the second one entitled “*Orbitrap mass spectrometry and chromatography: the road to a perfect marriage*” offered by Prof. Alexander Makarov (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany).

Finally, the HTC-Award was given to Prof. Paola Dugo (University of Messina, Italy) for her innovative contribution, and also three Poster Awards were given by the scientific committee. The symposium ended with the closure ceremony and a farewell drink.

To sum up, a total of 6 plenary lectures, 31 young emerging scientist contributions, 24 oral communications, 27 keynote lectures, 20 poster flash presentations, 113 poster presentations, 1 memorable battle of the gurus, vendor seminars, industry pitches, and the large number of participants from many different countries made possible this unforgettable HTC-14.

**María Mateos Vivas**

*Department of Analytical Chemistry, Nutrition and Food Science. )University of Salamanca)*

## CALENDARIO DE ACTIVIDADES

**1. HPLC 2016: 44<sup>th</sup> International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques**

19-24 Junio 2016. San Francisco, CA (EE.UU.)

**Chair:** Robert T. Kennedy  
University of Michigan (USA)  
**Contact:** Ms Janet Cunningham  
Barr Enterprises  
[www.hplc2016.org/index.html](http://www.hplc2016.org/index.html)  
[janet@barrconferences.com](mailto:janet@barrconferences.com)

**2. Metabolomics 2016: 12<sup>th</sup> Official Annual Meeting of the International Metabolomics Society**

27-30 Junio 2016. Dublín (Irlanda).

[http://metabolomics2016.org/Metabolomics\\_2016/Metabolomics\\_2016.html](http://metabolomics2016.org/Metabolomics_2016/Metabolomics_2016.html)

**3. 6<sup>th</sup> International Network of Environmental Forensics conference**

27-30 Junio 2016. Örebro (Suecia)

**Comité organizador:** I. Ericson, L. Sartz, M. Backström, H. Feidler  
<http://www.inef2016.com/>

- 4. I3S 2015: 5<sup>th</sup> International Symposium on Sensor Science**  
17-22 Julio 2016. Durham, NH (EE.UU.)
- Chair:** Prof. W. Rudolph Seitz  
University of Hampshire  
<http://sciforum.net/conference/I3S2016/>
- 5. PREP 2016: 29<sup>th</sup> International Symposium on Preparative and Process Chromatography**  
17 - 20 Julio 2016. Filadelfia, PA (EE.UU.)
- Chair:** Giorgio Carta  
University of Virginia  
Ms. Janet Cunningham (PREP Symposium/  
Exhibit Manager)  
[www.LinkedIn.com/in/BarrEnterprises](http://www.LinkedIn.com/in/BarrEnterprises)  
[janet@barrconferences.com](mailto:janet@barrconferences.com)  
<http://www.prepsymposium.org/>
- 6. 12<sup>th</sup> LC/MS/MS Workshop on Environmental Applications and Food Safety**  
5-6 Julio 2016. Barcelona
- Comité científico:** Damià Barceló, Mira Petrovic, Mehran Alaei y Diana Aga.  
**Secretaría:** [mpeqam@cid.csic.es](mailto:mpeqam@cid.csic.es)  
[www.idaea.csic.es/barcelona/home.htm](http://www.idaea.csic.es/barcelona/home.htm)
- 7. ISC 2016: 31<sup>st</sup> International Symposium on Chromatography**  
28 Agosto-1 Septiembre 2016. Cork, Irlanda
- Chairpersons:** Apryll Stalcup y Jeremy D. Glennon.  
**Secretaría:** [ISC2016@mci-group.com](mailto:ISC2016@mci-group.com)  
<http://www.isc2016.ie/>
- 8. Dioxin 2016: 36<sup>th</sup> International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants**  
28 Agosto- 2 Septiembre 2016. Florencia, Italia.
- Symposium chairs:** Prof. Paolo Mocarelli,  
Prof. Paolo Brambilla.  
**Secretaría:** [info@dioxin2016firenze.org](mailto:info@dioxin2016firenze.org)  
<http://dioxin2016firenze.org/>
- 9. ITP 2016: 23<sup>rd</sup> International Symposium on Electro- and Liquid Phase-Separation Techniques**  
18-23 Septiembre 2016. Minneapolis, MN (EE.UU.)
- Chairpersons:** Prof. Blanca Lapizco-Encinas,  
Prof. Ziad El Rassi.  
**Contacto:** [scix@scixconference.org](mailto:scix@scixconference.org)  
<http://www.itp2016.org/>
- 10. 20<sup>th</sup> ICFIA: 20<sup>th</sup> International Conference on Flow Injection Analysis and Related Techniques**  
2-7 Octubre 2016. Palma de Mallorca
- Co-chairs:** Profs. Víctor Cerdà y Gary D. Christian.  
**Contacto:** [info@icfia2016.org](mailto:info@icfia2016.org)  
<http://www.icfia2016.org/>
- 11. Pesticides 2016: 9<sup>th</sup> European Conference on Pesticides and Related Organic Micropollutants in the Environment and the 15<sup>th</sup> Symposium on Chemistry and Fate of Modern Pesticides**  
4-7 Octubre 2016. Santiago de Compostela, A Coruña
- Co-chairs:** Thierry Dagnac y María Llompart.  
**Contacto:** [registration@pesticides2016.es](mailto:registration@pesticides2016.es)  
<http://pesticides2016.es/>
- 12. SECyTA 2016: XVI Reunión Científica de la Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines**  
2-4 Noviembre 2016. Sevilla
- Co-chairs:** José Á. González Pérez; José M<sup>a</sup> de la Rosa Arranz y Francisco J. González Vila  
**Secretaría técnica:** [secyta2016@viajeseci.es](mailto:secyta2016@viajeseci.es)  
<http://secyta2016.com/>
- 13. 7<sup>th</sup> SETAC World Congress/SETAC North America 37<sup>th</sup> Annual Meeting**  
6-10 Noviembre 2016. Orlando, FL (EE.UU.)
- Contacto:** [setac@setac.org](mailto:setac@setac.org)  
<http://orlando.setac.org/>



# NUEVAS TESIS DOCTORALES



## “Desarrollo de métodos de determinación e identificación de antibióticos y sus metabolitos en alimentos de origen animal por LC-MS y LC-MS/MS”

Autora: **Alexandra Junza Martínez**

Directores: Dra. D. Barrón y Dr. J. Barbosa

Facultad de Química de la Universidad de Barcelona

9 de septiembre de 2015

### Resumen:

La presencia de residuos de antibióticos en alimentos de origen animal supone un riesgo para la salud de los consumidores ya que pueden provocar problemas de alergias y toxicidad en individuos sensibles y generar resistencia bacteriana. Con el fin de proteger la salud del consumidor, la UE estableció en la Regulación 37/2010 unos límites máximos de residuos (MRL), es decir, concentraciones máximas de fármaco que pueden estar presentes en los alimentos de origen animal. Esta problemática se aborda desde dos puntos bien diferenciados. Por un lado, se han desarrollado y validado cuatro métodos multiresiduo para la determinación de quinolonas y  $\beta$ -lactamas (penicilinas y cefalosporinas) en leche de vaca siguiendo la normativa europea 657/2002 y la guía de la FDA. Los métodos optimizados se basan en distintos tratamientos de muestra (extracción en fase sólida (SPE), microextracción líquido líquido dispersiva (DLLME) y extracción asistida por ultrasonidos seguida de una extracción en fase sólida dispersiva (USE-d-SPE)) y en el uso de la cromatografía de líquidos acoplada a la espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS).

Por otro lado, se ha estudiado la metabolización de diferentes antibióticos de las familias de las quinolonas y de  $\beta$ -lactamas y la influencia de los tratamientos térmicos que se aplican a la leche para eliminar los microorganismos patógenos en la estructura de los antibióticos dando lugar a los productos de transformación (TPs). Para conseguir este objetivo se han analizado diferentes muestras de leche fortificadas con antibióticos y, también, se han estudiado muestras de leche procedentes de animales medicados con enrofloxacin y bencilpenicilina. Las muestras han sido recogidas durante tres días de tratamiento farmacológico y durante los cuatro días posteriores a la finalización de éste. Las muestras se analizaron mediante LC-TU, utilizando distintos analizadores (tiempo de vuelo (TOF) y LTQ Orbitrap). Se han determinado y caracterizado más de 60 TPs y metabolitos, siendo más de la mitad descritos por primera vez.



## “Evaluación de nuevas herramientas analíticas para mejorar la capacidad de detección en el control del dopaje.”

Autor: **Montse Raro Macián**

Directores: Drs. E. Pitarch, O.J. Pozo y J.V. Sancho.

Instituto Universitario de Plaguicidas y Aguas de la Universitat Jaume I Castellón.

6 de abril de 2016

### Resumen:

En la competición deportiva es frecuente encontrar procedimientos ilegales como la ingesta de sustancias por parte de los atletas para mejorar su rendimiento, dando lugar a lo que se conoce como *Dopaje*. En la lucha contra estas prácticas, los laboratorios deben desarrollar metodologías para detectar sustancias prohibidas a las concentraciones requeridas. En la presente Tesis Doctoral se han evaluado nuevas herramientas analíticas para mejorar dicha detección. La primera parte consistió en la determinación de esteroides anabolizantes androgénicos (AAS) mediante Cromatografía de Gases - Espectrometría de Masas en tándem con analizador Cuadrupolo-Tiempo de vuelo (GC-QTOF MS/MS) y la nueva fuente de ionización a presión atmosférica (APCI). Se llevó a cabo un estudio de ionización comparando los resultados con los obtenidos mediante interfase de ionización electrónica (EI). Los resultados evidencian los beneficios de la nueva interfase que favorece una baja fragmentación. Posteriormente, se llevó a cabo un estudio de fragmentación para establecer relaciones entre los iones presentes en los espectros MS/MS y la estructura de los esteroides. El hecho de que el pico base



obtenido fuera  $[M+H]^+$  o  $M^+$ , permitió la selección de iones específicos como precursores en métodos dirigidos. Con esto, se desarrolló y validó cualitativamente un método para la detección de AAS en orina. La segunda parte consistió en la aplicación de técnicas metabolómicas para la búsqueda de marcadores del abuso de sustancias dopantes, mediante Cromatografía de Líquidos (LC) acoplada a analizadores de masas de alta resolución (HRMS). El primer estudio se centró en la hormona del crecimiento (rhGH). Las muestras se inyectaron tanto en una columna de fase inversa (RP) como en una de interacción hidrofílica (HILIC), encontrándose un marcador destacable para cada caso. Por otra parte, dentro de un estudio sobre testosterona, las muestras se analizaron tanto en un equipo de UHPLC-QTOF MS, como en uno de UHPLC-QOrbitrap MS, obteniéndose el mismo marcador mediante ambas plataformas.



#### “Nuevos métodos de extracción y fraccionamiento de carbohidratos bioactivos”

Autor: **Laura Ruiz Aceituno**

Dras: M. L. Sanz y L.s Ramos

Instituto de Química Orgánica General (CSIC)

27 de noviembre de 2015

#### Resumen:

La obtención de carbohidratos bioactivos (como inositoles y prebióticos, con actividades metabólicas o capaces de inducir cambios en la microbiota intestinal) presenta un gran interés para su posible uso como ingredientes alimentarios. Por ello, la búsqueda de nuevas vías para su obtención, que sean eficaces y ventajosas frente a las hasta ahora disponibles, cobra cada vez mayor importancia.

El primer objetivo de esta Tesis fue la evaluación del empleo de nuevos disolventes (líquidos iónicos, ILs) para el fraccionamiento selectivo de carbohidratos en función de su estructura química. Primero, se desarrolló un método de derivatización que permitió el análisis de carbohidratos de bajo peso molecular (LMWC) disueltos en ILs por cromatografía de gases (GC). También se estudió la solubilidad de distintos monosacáridos, polialcoholes, disacáridos y trisacáridos en ILs, relacionándose dichos valores con su estructura química. Los ILs resultaron ser disolventes prometedores para el fraccionamiento selectivo de aldosas y cetosas bioactivas, como lactosa y lactulosa, así como de distintos polialcoholes y otros LMWC.

El segundo objetivo consistió en el desarrollo de nuevos métodos de extracción y enriquecimiento de carbohidratos bioactivos a partir de matrices naturales. Para ello, se mejoró la determinación cuali- y cuantitativa por GC-MS de los LMWC presentes en distintas matrices alimentarias vegetales, determinándose compuestos no identificados hasta el momento. A continuación, se desarrollaron métodos de extracción mediante líquidos presurizados (PLE) y microondas (MAE) que presentaron rendimientos en inositoles superiores a los conseguidos por el procedimiento convencional de extracción sólido-líquido. Además, se consiguió por primera vez la extracción conjunta de inositoles e inulina de subproductos de la industria alimentaria. Finalmente, se evaluó el fraccionamiento de carbohidratos mediante un procedimiento biotecnológico basado en el uso de *Saccharomyces cerevisiae* que permitió la eliminación de azúcares presentes en los extractos y que podrían interferir con la bioactividad de los carbohidratos de interés.



## ARTÍCULOS DE INTERÉS

### MONITORIZACIÓN DE NUEVAS SUSTANCIAS PSICOACTIVAS MEDIANTE ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE ALTA RESOLUCIÓN

Las Nuevas Sustancias Psicoactivas (NPS) son un grupo de compuestos que han aparecido recientemente, tratando de producir los mismos efectos psicoactivos que las drogas de abuso tradicionales. El desconocimiento de sus efectos fisiológicos incrementa la preocupación ante el creciente consumo de este tipo de sustancias en los países desarrollados. Adicionalmente, el hecho de que no existan estudios acerca de su toxicidad implica que la mayoría de estas sustancias no están legisladas o monitorizadas por las agencias de Salud Pública. De acuerdo con el *European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction* de la Unión Europea (EMCDDA), únicamente unas 450 NPS están siendo monitorizadas a día de hoy, 101 de las cuales fueron reportadas por primera vez en 2014, mientras que centenares de estos compuestos no están siendo controlados.

Las NPS, conocidas tradicionalmente como drogas de diseño, son sintetizadas en laboratorios clandestinos de Asia (principalmente China e India), y luego importadas a Europa y América para su venta. Estas sustancias se pueden adquirir fácilmente en las conocidas como Smart-shops, o a través de diferentes páginas web de una forma relativamente sencilla en forma de las conocidas como *legal highs*, productos ya preparados para su consumo como pastillas o hierba para fumar, o como *research chemicals*, comprando directamente el compuesto en un elevado grado de pureza. El fácil acceso a este tipo de sustancias y el desconocimiento de sus efectos sobre la salud humana, incrementan la necesidad de disponer de metodologías para su monitorización.

La Espectrometría de Masas de Alta Resolución (HRMS) ha sido ampliamente descrita como una técnica que permite una adquisición del espectro completo, con alta resolución y elevada exactitud de masa. Esto ha llevado a que la HRMS sea especialmente útil para la detección de un amplio grupo de compuestos (*large-scope screening*), para la elucidación de compuestos desconocidos y la posibilidad de realizar análisis retrospectivo. No es de extrañar que la HRMS

haya sido utilizada en los últimos años para la monitorización de este tipo de sustancias.

La monitorización del consumo de NPS mediante HRMS se basa en dos pilares: el análisis de los productos de consumo y el análisis de muestras fisiológicas. En el primero, la HRMS se utiliza como técnica para la realización de un *large-scope screening*, a fin de poder identificar (o identificar tentativamente) cuáles son las NPS que se encuentran en las *legal highs* que se están vendiendo actualmente y que, por lo tanto, son las sustancias que se están consumiendo. El segundo de los pilares se basa en el análisis de muestras de origen humano, como sangre u orina, para poder detectar si un posible consumidor está tomando realmente este tipo de sustancias. No obstante, debido al metabolismo humano, es posible que la molécula intacta de NPS no sea excretada como la molécula original, sino como un metabolito. Por tanto, son estos metabolitos los que se deben utilizar como marcadores de consumo en las muestras fisiológicas. En este punto, la necesidad de realizar experiencias de metabolismo con NPS es altamente justificable. Debido a que las experiencias en humanos quedan reducidas a encontrar un consumidor y obtener una muestra fisiológica, las experiencias *in-vitro* utilizando microsomas hepáticos humanos son una buena aproximación a lo que sería el metabolismo humano. Estas experiencias permiten la elucidación de metabolitos que posteriormente puedan ser usados como marcadores de consumo.

A continuación, se reseñan tres trabajos recientes donde se ha utilizado HRMS para la monitorización del MDPV, comúnmente conocida como “droga caníbal”.

#### “An analytical approach to the forensic identification of different classes of new psychoactive substances (NPSs) in seized materials”

Sabina Strano Rossi, Sara Odoardi, Adolfo Gregori, Giuseppe Peluso, Luigi Ripani, Giorgio Ortar, Giovanni Serpelloni, Francesco Saverio Romolo. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 2014, 28, 1904-1916.

En este trabajo se realiza el análisis de 17 productos incautados, siendo principalmente cristales y polvos de diferente morfología y una muestra de hierba

para fumar, con el fin de detectar las posibles NPS presentes en su composición. El análisis se realizó principalmente mediante GC-EI-MS y LC-ESI-HRMS. Adicionalmente, se utilizó NMR en los casos que no se pudiera identificar la forma isomérica del compuesto. El trabajo se enfoca a destacar el elevado poder de identificación de la HRMS, llegando a poder identificar tentativamente diversas NPS sin la necesidad de disponer del patrón de referencia de la sustancia, el cual se puede adquirir a posteriori para una identificación inequívoca de la identidad del compuesto.

Debido al total desconocimiento de la composición de las muestras, se optó por realizar una extracción genérica y no selectiva, para maximizar el número de compuestos extraídos. En el caso de los cristales y polvos, se realizó una extracción con metanol, que tras una dilución del sobrenadante 1:100 (v:v) con agua, se inyectó al sistema LC-HRMS. Por otra parte, para la hierba se realizó una extracción asistida por ultrasonidos con cloroformo, evaporando el extracto y redisolviéndolo con metanol para su inyección en el LC-HRMS.

Se utilizó un analizador de tipo Orbitrap para el análisis por HRMS trabajando a una resolución de 100.000 FWHM. Gracias a la adquisición de los datos del espectro completo con elevada exactitud de masa, se pudo realizar el estudio de los fragmentos de los compuestos detectados, realizando una identificación tentativa sin la necesidad de disponer de patrones, los cuales se adquirieron posteriormente para la identificación inequívoca de las sustancias. Con esta metodología se pudieron identificar un total de 17 NPS: 9 catinonas (incluyendo el MDPV), 3 triptaminas, 3 benzofuranos, y 1 cannabinoide sintético en la muestra de hierba. En ciertos casos, el análisis se complementó con NMR. Uno de los casos en que la NMR pudo discernir entre dos isómeros fue la identificación de la catinona 3-MMC. Al realizar el análisis por GC-MS y analizando un patrón de 4-MMC (normalmente encontrado en muestras de *legal highs*), se observó que el espectro de fragmentación entre el patrón de 4-MMC y la muestra sospechosa eran iguales. No obstante, se observó una desviación en el tiempo de retención cromatográfico, indicando que el compuesto podría no ser el isómero 4. El análisis por NMR confirmó que se trataba de la 3-MMC.

El MDPV se encontró en una de las muestras de incautación, indicando que este compuesto se está

vendiendo en Europa. El análisis preliminar por GC-MS no permitió la observación del ion molecular, dificultando la identificación de la sustancia. No obstante, la adquisición de los fragmentos  $m/z$  121 y 149, fragmentos ya observados en otras catinonas, demuestran la presencia de un grupo metilendioxi unido a un anillo bencénico. El análisis por LC-HRMS permitió la adquisición de la molécula protonada del compuesto, así como sus fragmentos con elevada exactitud de masa. El estudio de los fragmentos, juntamente con la posterior adquisición del patrón, permitió la identificación del MDPV.

**“*In vitro* Phase I and Phase II metabolism of  $\alpha$ -pyrrolidinovalerophenone ( $\alpha$ -PVP), methylenedioxypyrovalerone (MDPV) and methedrone by human liver microsomes and human liver cytosol”**

Noelia Negreira, Claudio Erratico, Tina Kosjek, Alexander L. N. Van Nuijs, Ester Heath, Hugo Neels, Adrian Covaci.

*Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2015, 407, 5803-5816

Para conocer cómo se metabolizan algunas NPS reportadas en muestras de *legal highs* en anteriores trabajos, los autores de este artículo realizaron experiencias *in-vitro* utilizando Microsomas Hepáticos Humanos (HLM) como modelo del metabolismo humano. Entre las NPS estudiadas, se encontraba también el MDPV.

La selección de las NPS para estudiar sus metabolitos se realizó en base a estudios previos como el primer artículo descrito. Las tres sustancias seleccionadas son catinonas cuya presencia en muestras de *legal highs* se ha descrito recientemente. En el caso de la Metedrona, se trata de un nuevo derivado de la ya conocida Mefedrona. Por otra parte, tanto el MDPV como el  $\alpha$ -PVP (que es un derivado del MDPV) son compuestos más conocidos debido a las recientes noticias sobre los efectos que producen estos compuestos.

En los estudios *in-vitro*, las experiencias fueron diseñadas de forma que se pudieran obtener tanto los metabolitos de Fase I (principalmente productos de oxidación, reducción y pérdida de una parte de la molécula) y Fase II (conjugación del compuesto, por ejemplo, la formación de glucurónidos). Los metabolitos de Fase I se obtuvieron mediante incubación de las sustancias

con HLM, mientras que los metabolitos de Fase II se obtuvieron mediante una primera incubación de los compuestos con HLM, seguido de una segunda incubación con Citosol Hepático Humano (HLCYT) y diferentes enzimas de tipo transferasa para favorecer la obtención de conjugados. Adicionalmente, se prepararon muestras control de HLM y HLM con HLCYT para disponer de extractos obtenidos en las mismas condiciones que las experiencias de metabolismo, pero sin la presencia de NPS y/o sus metabolitos

Los extractos obtenidos, una vez realizadas las experiencias, se inyectaron en un sistema LC-QTOF MS, con el fin de disponer de información de los compuestos con una elevada exactitud de masa. La detección de los metabolitos se realizó con ayuda de software específico que permite comparar los compuestos detectados en la muestra control y en la muestra metabolizada. Los compuestos que difieren en las dos muestras se tratan como potenciales metabolitos de la NPS estudiada. Una vez identificados los compuestos específicos, la elucidación de su estructura se basó en el análisis de los fragmentos adquiridos con masa exacta.

Esta metodología permitió la detección e identificación de 6 metabolitos de Fase I y 1 metabolito de Fase II para el  $\alpha$ -PVP, 5 metabolitos de Fase I para la Metedrona y 10 metabolitos de Fase I y 4 de Fase II para el MDPV. Los metabolitos de Fase I que se encontraron para el MDPV fueron principalmente productos de oxidación y apertura del anillo metilendioxi. En el caso de los metabolitos de Fase II, se encontraron tres glucurónidos y un sulfato, como era esperable debido a las enzimas añadidas a la experiencia con Citosol. Adicionalmente, se propusieron las posibles rutas metabólicas de MDPV (y las otras dos NPS) que pudieran dar lugar a los metabolitos identificados.

Los metabolitos del MDPV identificados en las experiencias *in-vitro* de este estudio son potenciales candidatos para ser marcadores del consumo de esta sustancia en muestras fisiológicas de consumidores, como orina y sangre. No obstante, se debe disponer de muestras fisiológicas de un consumidor de MDPV para poder realizar la elucidación de los metabolitos encontrados y poder determinar si el modelo *in-vitro* puede ser un buen modelo para simular el metabolismo humano.

**“Analytical strategy to investigate 3,4-methylenedioxypropylvalerone (MDPV) metabolites in consumers’ urine by high-resolution mass spectrometry”**

*María Ibáñez, Óscar J. Pozo, Juan V. Sancho, Teresa Orengo, Gonzalo Haro, Félix Hernández.*

*Analytical and Bioanalytical Chemistry 2016, 408, 151-164*

En este último trabajo, los autores presentan el estudio de los metabolitos del MDPV encontrados en orina de un consumidor mediante HRMS. A diferencia del estudio *in-vitro*, al disponer de orina de un consumidor de MDPV, el estudio de los metabolitos permite obtener marcadores para el consumo de esta sustancia sin preocuparse de la especificidad de los metabolitos identificados, ya que se está trabajando con muestras metabolizadas por un ser humano. No obstante, la dificultad de acceder a muestras fisiológicas de consumidores de NPS impide que se realicen este tipo de estudios de forma periódica.

Las muestras estudiadas fueron orina de un varón de 35 años bajo tratamiento psiquiátrico, el cual reconocía el consumo de MDPV como sustitución de la cocaína. Para la determinación de los metabolitos de Fase I, las muestras se sometieron a hidrólisis utilizando  $\beta$ -glucuronidasa, con el fin de liberar los metabolitos conjugados como glucurónidos. Para la elucidación de los metabolitos de Fase II, la muestra de orina se analizó directamente después de una dilución con agua 1:1. Adicionalmente, se analizó la muestra de legal high que estaba consumiendo el paciente, la cual contenía en su composición MDPV.

El análisis se llevó a cabo mediante LC-QTOF MS, utilizando un modo de adquisición que permite obtener información de la molécula protonada y sus fragmentos con elevada exactitud de masa en un único análisis, mediante el uso secuencial de rampas de energía de colisión. A diferencia del segundo artículo descrito, en este estudio no se disponía de una muestra control, por lo que la detección de los metabolitos se debía realizar de forma diferente. En este caso, dicha detección se realizó a partir de posibles metabolitos que pudieran generarse, y su posterior búsqueda en la matriz de datos generada por QTOF MS. Ya que se conocen las principales transformaciones metabólicas que ocurren en un organismo (oxidación, reducción, alquilación, ruptura, conjugación, entre otras) se predijo la composición elemental de diferentes metaboli-

tos, tanto de Fase I como II, en base a la composición elemental del MDPV.

Una vez detectados los posibles metabolitos y conocida su composición elemental, se realizó la evaluación de los fragmentos de los mismos, calculando la composición elemental de los iones fragmento. Al conocer la composición elemental de un potencial metabolito y de sus fragmentos y la composición elemental de los fragmentos del MDPV, se pudo determinar en qué punto de la molécula había ocurrido la transformación. De esta forma, se identificaron un total de 10 metabolitos de Fase I y Fase II, conociendo también los metabolitos de Fase I que se encuentran conjugados con glucurónidos o sulfatos. Adicionalmente, los autores proponen las posibles rutas metabólicas del MDPV, pudiendo realizar un seguimiento de las transformaciones experimentadas por el compuesto.

Llegados a este punto, y habiendo ya estudiado un artículo donde se realiza el análisis de metabolitos del MDPV mediante experiencias *in-vitro*, y un artículo donde se estudian los metabolitos en una muestra de orina de un consumidor, nos podemos preguntar si las experiencias con HLM pueden ser una buena aproximación para la elucidación de metabolitos de NPS. En el caso del MDPV, destacar que 2 de los metabolitos

de Fase I elucidados en la orina del consumidor, también se observaron en las experiencias con microsomas: el metabolito correspondiente a la reducción de la cetona a alcohol secundario y el metabolito correspondiente a la ruptura del anillo metilendioxi. Esto indica que el uso de microsomas hepáticos puede ser una aproximación del metabolismo humano en el caso que se deseen obtener posibles marcadores de consumo de sustancias cuyos efectos son desconocidos, sin la urgente necesidad de disponer de muestras fisiológicas de un consumidor.

En esta reseña bibliográfica, hemos podido observar cómo la HRMS es una técnica muy eficaz para la monitorización de NPS, tanto para el análisis de muestras de consumo con el fin de identificar las sustancias psicoactivas presentes, como para la elucidación de posibles metabolitos de las mismas y obtener marcadores de consumo. Adicionalmente, en el caso de la catinona MDPV, la obtención de metabolitos mediante experiencias *in-vitro* puede ser considerado como una buena aproximación a los metabolitos producidos por el cuerpo humano, pudiendo obtener así potenciales marcadores de consumo para este tipo de sustancias.

**David Fabregat**

*Instituto Universitario de Plaguicidas y Aguas (IUPA), Universitat Jaume I, Castellón*



## 16<sup>TH</sup> SCIENTIFIC MEETING OF THE SPANISH SOCIETY ON CHROMATOGRAPHY AND RELATED TECHNIQUES (SECYTA 2016)

Seville, 2 - 4 November 2016

**SECYTA** SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CROMATOGRÁFIA Y TÉCNICAS AFINES

**Vemo-nos em Sevilha!**  
**See you in Seville!**  
**Nos vemos en Sevilla!**  
**Ci vediamo a Siviglia!**

[www.secyta2016.com](http://www.secyta2016.com)

Chairman: José A. González Pérez

Co-chairman: José M de la Rosa (jmrosa@irnase.csic.es)

Scientific Committee Chairman: Francisco J. González Vila

Secretaría Técnica

El Corte Inglés Viajes Div. Congresos  
 Tel: +34 954506605; Fax: +34 954223512  
 e-mail: [secyta2016@viajeseci.es](mailto:secyta2016@viajeseci.es)





# EMPRESAS colaboradoras

## PROTECTORAS

- **AGILENT TECHNOLOGIES SPAIN, S.L.**  
Ctra. A-6, km 18,200  
28230 LAS ROZAS  
(Madrid)
- **BRUKER ESPAÑOLA, S.A.**  
Avda. Marie Curie, 5, Edificio Alfa - Pta. Baja  
Parque Empresarial Rivas Futura  
28529 RIVAS-VACIAMADRID  
(Madrid)
- **PERKIN ELMER ESPAÑA, S.L.**  
Avda. de los Encuartes, 19  
28760 TRES CANTOS  
(Madrid)
- **TEKNOKROMA ANALÍTICA, S.A.**  
Camí de Can Calders, 14  
08173 SANT CUGAT DEL VALLÉS  
(Barcelona)
- **THERMO FISHER SCIENTIFIC**  
Avda. de la Vega, 1  
Edificio 1 Planta 4  
28108 ALCOBENDAS (Madrid)
- **WATERS CROMATOGRAFÍA, S.A.**  
Ronda Can Fatjó, 7-A  
Parc Tecnologic del Vallés  
08290 CERDANYOLA DEL VALLES  
(Barcelona)

## ASOCIADAS

- **INGENIERÍA ANALÍTICA, S.L.**  
Avenida Cerdanyola, 73  
08172 SANT CUGAT DEL VALLÉS (Barcelona)
- **IZASA SCIENTIFIC, S.L.U.**  
Plaza de Europa, 21-23  
08908 L'HOSPITALET DE LLOBREGAT  
(Barcelona)
- **LECO INSTRUMENTOS, S.L.**  
Avda. de la Industria, 43  
28760 TRES CANTOS (Madrid)
- **MILLIPORE IBÉRICA, S.A.U.**  
Avda. de Burgos, 144  
28050 MADRID
- **PHENOMENEX ESPAÑA**  
Rafael Bergamín, 16  
28043 MADRID
- **SCHARLAB, S.L.**  
Gato Pérez, 33  
Polígono Industrial Mas D'en Cisa  
08181 SENTMENAT (Barcelona)
- **SERVICIO Y MANTENIMIENTO DE TÉCNICAS ANALÍTICAS, S.A.L. (SYMTA, S.A.L.)**  
San Máximo, 31  
28041 MADRID
- **S. E. DE CARBUROS METÁLICOS S.A.**  
Avda. de la Fama, 1  
08940 CORNELLÀ DE LLOBREGAT (Barcelona)  
oferta@carburos.com
- **SUGELABOR**  
Sicilia, 36  
28038 MADRID

# NOTA TÉCNICA

# Thermo SCIENTIFIC

## LA ALTA RESOLUCIÓN DE MASA ES ESENCIAL PARA UNA IDENTIFICACIÓN Y DETECCIÓN DE COMPUESTOS CON LA MÁXIMA CONFIANZA.

*D. Fco. Javier Rodríguez*

*Especialista de ventas en cromatografía, Thermo Fisher Scientific*

Los laboratorios, tanto de investigación como de análisis de rutina, se encuentran con una presión mayor cada día para producir resultados en menos tiempo, mientras se mantienen altos niveles de confianza en los resultados. La mayoría de los ensayos se basan en aproximaciones de cuantificación dirigida, empleando tanto cromatografía de gases (GC) como cromatografía líquida (LC) acoplada a espectrometría de masas (MS) de triple cuadrupolo. Estas técnicas cubren el amplio rango de familias químicas que deben ser analizadas a los niveles solicitados de sensibilidad y selectividad. Sin embargo, están limitados a los compuestos que se encuentran en la lista de adquisición y requieren una cuidadosa optimización de los parámetros de adquisición para cada compuesto. La espectrometría de masas de alta resolución en modo full scan, empleando la tecnología Orbitrap, proporciona la solución a:

- La demanda de cuantificación e identificación de un número cada vez mayor de compuestos en un mismo análisis.
- El análisis retrospectivo de las muestras mucho tiempo después de su adquisición.
- La identificación y la elucidación de la composición química y la estructura de compuestos desconocidos.

Hasta ahora, la tecnología de espectrometría de masas de alta resolución Orbitrap sólo ha estado disponible con LC y ha demostrado ser una técnica de un alto valor analítico. La tecnología de espectrometría de masas Orbitrap ha sido ahora acoplada a GC en el nuevo sistema Q Exactive™ GC, el cual es un híbrido de cuadrupolo con analizador Orbitrap. La nueva configuración de sobremesa de un espectrómetro de masas híbrido cuadrupolo-

Orbitrap abre nuevas posibilidades para los compuestos que son analizables por GC. Los siguientes ejemplos resaltan los beneficios de la MS de alta resolución acoplada a GC.

### El impacto de la resolución de masa en la selectividad para análisis dirigidos

Los experimentos de masa exacta en alta resolución (HR/AM) típicamente comprenden el análisis en modo full scan de una muestra, y para el análisis de moléculas pequeñas el rango de barrido suele ser de 50 – 1.000 Da. La tecnología Orbitrap proporciona la selectividad necesaria para resolver los compuestos seleccionados de otros compuestos o de los iones de la matriz que tengan masa similar. Para el análisis dirigido de nuestros compuestos, la masa exacta del ión diagnóstico es extraída en una estrecha ventana de extracción (típicamente < 5 ppm). Esta ventana estrecha sólo es posible cuando el instrumento proporciona suficiente exactitud de masa, para lo cual un alto poder de resolución de masa es esencial.

Sin embargo, cuando dos perfiles de masa se superponen, el perfil de masa que se mide es la suma de los dos perfiles individuales. La superposición resulta en un asignamiento incorrecto de la masa del compuesto buscado. Vamos a poner unos ejemplos de análisis de pesticidas en extractos vegetales. El problema se muestra en la Figura 1, donde un extracto QuEChERS de puerro en acetonitrilo es analizado cuatro veces a un poder de resolución de 15K, 30K, 60K y 120K ( $m/z$  200).

El espectro de masas muestra el pesticida chlorpropham ( $m/z$  127.01833) y un ión de fondo de la matriz a una masa similar creando una interferencia. Se consigue una excelente exactitud de masa para el chlorpropham a 60K y a 120K, resolviendo el ión prácticamente hasta línea base. Sin embargo, a 15K y a 30K el chlorpropham no fue suficientemente resuelto de la interferencia, lo que resultó en una pobre asignación de la masa exacta. A 15K, la exactitud de masa estaba afectada de modo significativo con un valor de diferencia de masa de 15,92 ppm. Bajo el criterio típico de identificación en screening de compuestos de una diferencia de masa < 5 ppm, e incluso bajo una tolerancia amplia de 10 ppm, esta diferencia de masa habría resultado en un falso negativo (no detectado) para este pesticida. Este ejemplo claramente demuestra que un mínimo poder de resolución es necesario. Dicho poder de resolución depende de la complejidad de la muestra analizada y de la concentración de ambos: el analito y las interferencias.

## Manteniendo la sensibilidad en alta resolución

Con otros tipos de tecnologías GC-MS, el incremento de la resolución de masa resulta en una disminución de la transmisión de los iones por el analizador. Consecuentemente, la sensibilidad de las medidas puede verse afectada. Para una cuantificación y screening de compuestos a bajas concentraciones en matrices complejas, es esencial mantener la sensibilidad del instrumento mientras se trabaja a un alto poder de resolución. En la Figura 1, se demostró la necesidad de una alta resolución. Es esencial también mantener la sensibilidad a los modos de alta resolución de 60K y 120K. El sistema Q Exactive GC no pierde intensidad de señal al incrementar la resolución del modo que sí ocurre en otros tipos de espectrómetros de masas. En la Figura 2 se muestra un ejemplo de tres pesticidas (chlorbenzilate, fipronil y pendimethalin) y las respuestas correspondientes a las áreas de pico a una concentración de 10 ng/g en extractos QuEChERS de zanahoria en acetonitrilo. Los extractos se analizaron en los modos de resolución 15, 60 y 120K en full scan. Las áreas absolutas de pico se mantuvieron en los distintos modos de resolución. Esta consistencia proporciona la resolución de masa superior necesaria para obtener una excelente exactitud de masa sin sacrificar la sensibilidad.

## Alta resolución para la identificación de compuestos desconocidos

Una de las ventajas de trabajar en modo full scan con exactitud de masa es que los datos pueden ser interrogados retrospectivamente y los picos potencialmente desconocidos pueden ser identificados. La exactitud de masa de un ión permite proponer una composición elemental basada en la medida de su masa exacta y en la distribución isotópica. El número de posibles fórmulas químicas que obtenemos está basado en los elementos que proponemos en el calculador de fórmulas y en la calidad de los datos espectrales. Las medidas en alta resolución con una exactitud sub 1 ppm aceleran el proceso de identificación, reduciendo el número de fórmulas propuestas a una cantidad manejable. Este proceso queda ilustrado en la Figura 3, donde un ión de masa 304,10058 es procesado con el calculador de fórmula elemental y los hits fueron calculados teniendo en cuenta los siguientes elementos: Carbono 1-50, Hidrógeno 1-50, Oxígeno 1-20, Nitrógeno 1-20, Fósforo 1-10 y Azufre 1-10.

Se emplearon diferentes tolerancias de masa desde 0,5 a 10 ppm para sugerir la posible fórmula. El número de hits aparece en la Figura 3. Como era de esperar, a mayor tolerancia, mayor es el número de posibles fórmulas propuestas. Por ejemplo, a 10 ppm, se proponen 60

posibles hits. Incluso a una tolerancia relativamente baja de 3 ppm, 20 fórmulas elementales se ajustan al criterio seleccionado.

Sin embargo, con la exactitud de masa sub-ppm esperada del sistema Q Exactive GC, el número queda limitado a dos fórmulas a 0,5 ppm. La primera fórmula sugerida para esta masa es  $C_{12}H_{21}O_3N_2PS$ , con un error de masa de 0,3 ppm, y cuando se busca esta fórmula en la base de datos on-line ChemSpider, el top hit coincide con el pesticida diazinon. Esta identificación puede confirmarse posteriormente con la investigación de los iones fragmento, comparando los datos con librerías espectrales de un modo sencillo, ya que los datos están adquiridos con una fuente de impacto electrónico (EI).

## Conclusiones

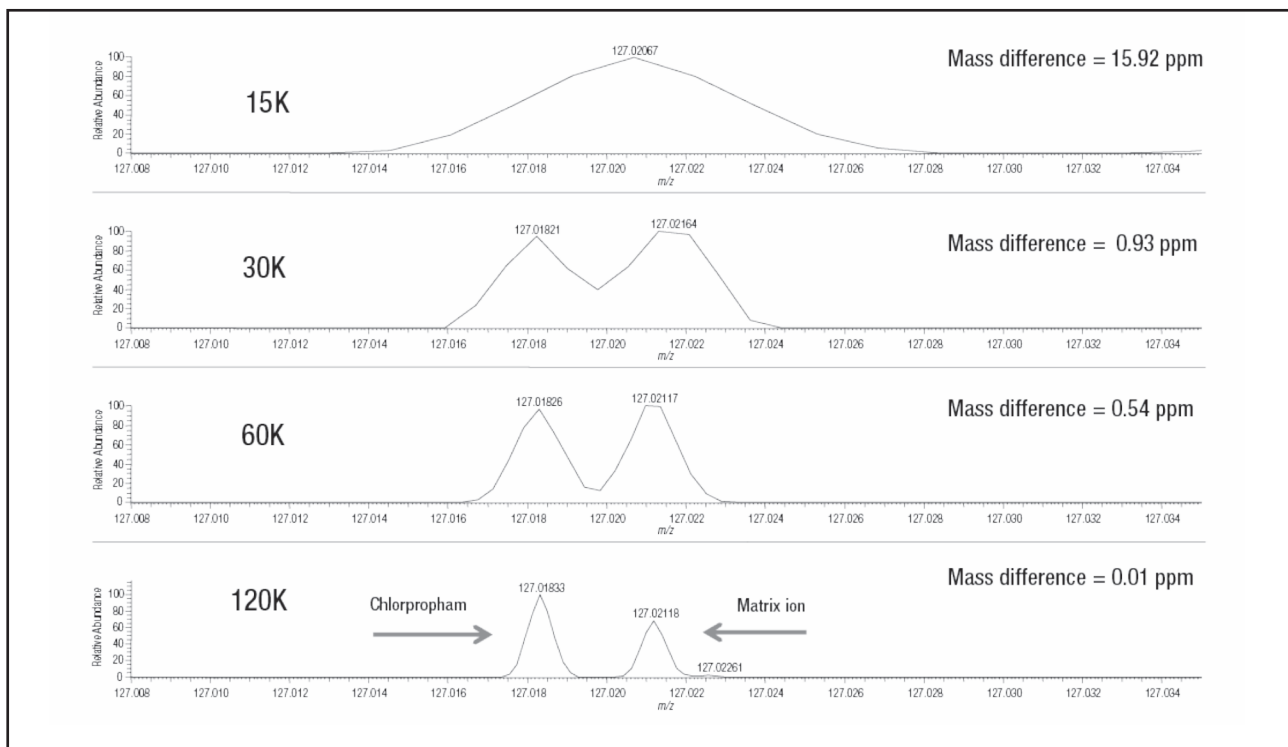
Con un ultra-alto poder de resolución en rutina y una consistente exactitud de masa sub-ppm, el espectrómetro de masas Q Exactive GC de Thermo Scientific es una herramienta de laboratorio única, de aplicación para descubrimiento de compuestos, screening, cuantificación, identificación de compuestos y para aplicaciones de elucidación estructural.

La resolución de masas de al menos 60.000 FWHM (a  $m/z$  200) es necesaria de modo rutinario para resolver todos los compuestos de los iones interferentes de la matriz o de iones de masa similar. Esta resolución es esencial para la identificación con confianza de nuestros compuestos.

El sistema Q Exactive GC proporciona alta sensibilidad en matrices complejas y, muy importante, la sensibilidad se mantiene en todos los modos de resolución empleados (15 – 120K).

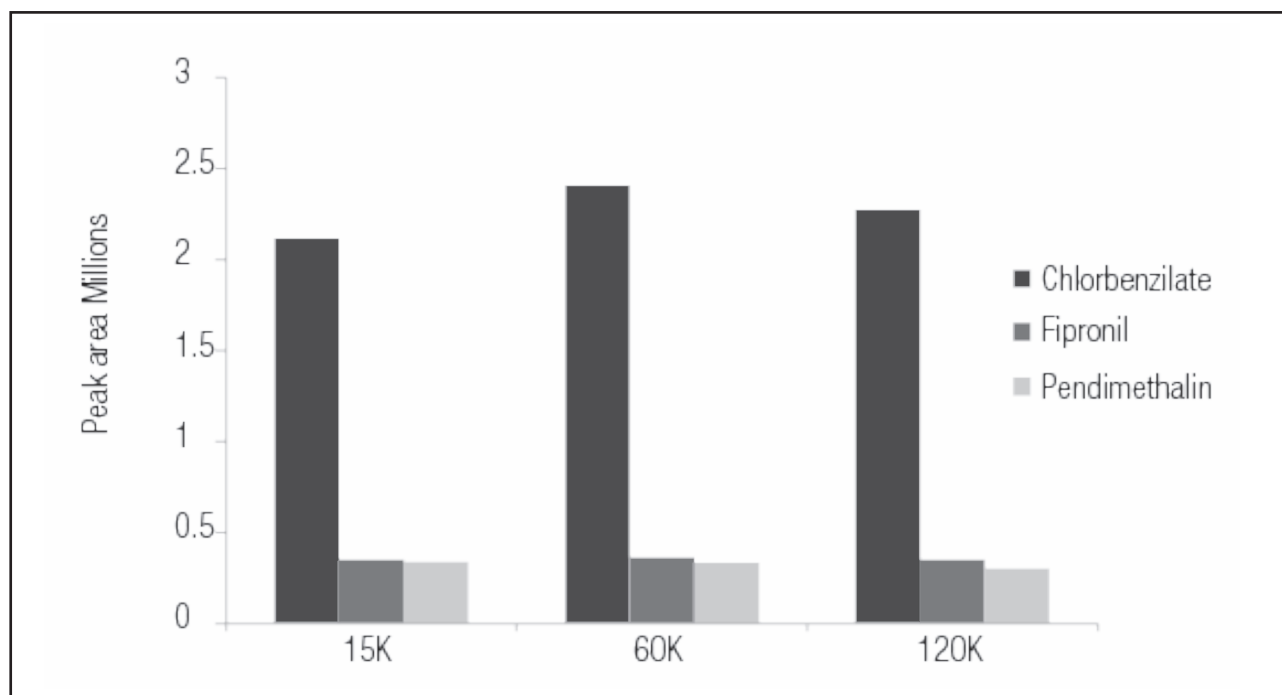
Una exactitud de masa excelente sub-ppm acelera la identificación de picos desconocidos, permitiendo el uso de tolerancias de masa muy estrechas.



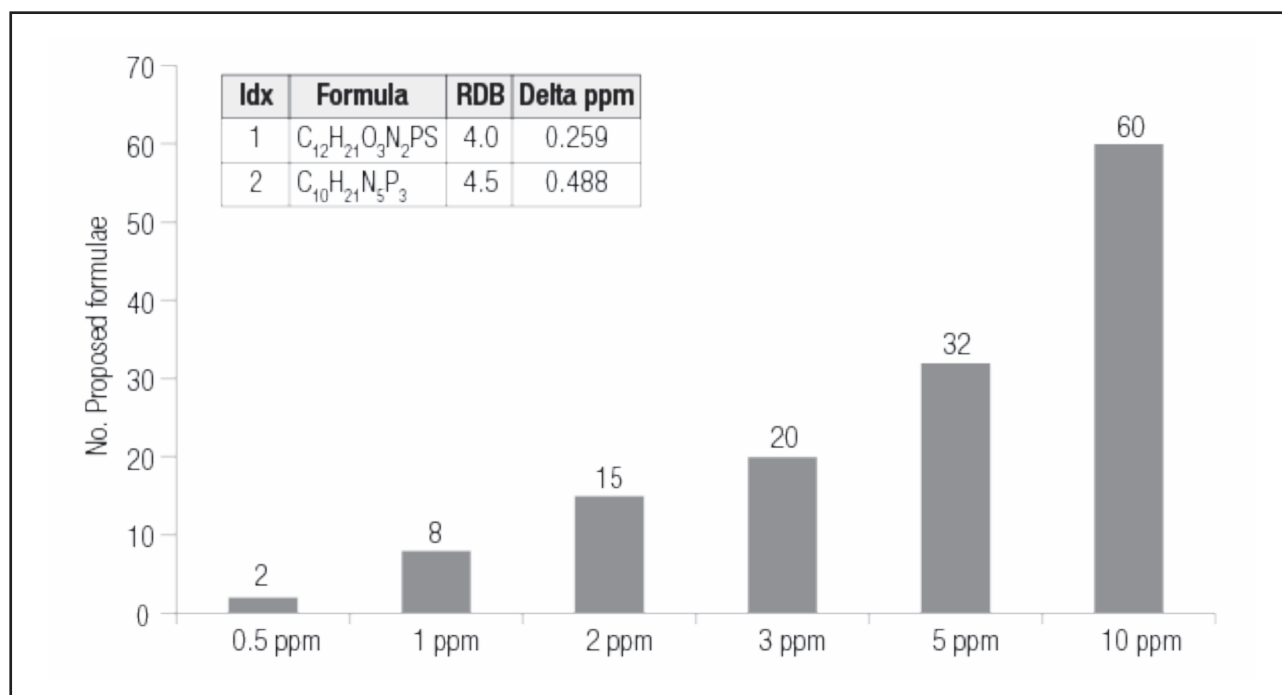


**Figura 1.** Efecto del poder de resolución en la exactitud de masa de un analito en una matriz. Los perfiles de masa del chlorpropham a 10 ng/g en puerro son adquiridos a resolución 15K, 30K, 60K y 120K. La interferencia de matriz a 15K y a 30K produce una diferencia de masa más alta de la esperada. El chlorpropham se resuelve a 60K y 120K con una mejora en la exactitud de masa. Bajo el criterio normal de screening este pesticida no habría sido detectado (falso negativo).

# NOTA TÉCNICA



**Figura 2.** Chlorbenzilate, fipronil y pendimethalin en un extracto QhEChERS de zanahoria a una concentración de 10 ng/g mostrando las respuestas de área de pico obtenidas a resolución 15, 60 y 120K FWHM ( $m/z$  200). La sensibilidad se mantiene a lo largo de los distintos modos de resolución, tanto para los compuestos que producen una alta como una baja respuesta. Un mínimo de 12 scans/pico se mantiene.



**Figura 3.** Número de composiciones elementales sugeridas para la  $m/z$  304.10058 con diferentes tolerancias de masa aplicadas. Arriba se muestra los dos hits obtenidos a 0,5 ppm.

# NOTA TÉCNICA



## VENTAJAS DEL USO DE DISOLVENTES ESPECÍFICOS PARA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA CON DETECCIÓN POR MS

Las técnicas de LC-MS y UHPLC-MS combinan las ventajas de la separación por cromatografía y las de la espectrometría de masas. La UHPLC tiene la ventaja de ser más rápida y sensible que la HPLC. Cuando se trata de la detección, la información estructural de los compuestos separados que proporciona la espectrometría de masas permite su identificación y cuantificación, incluso cuando están en matrices complejas. Estas características hacen que ambas técnicas se utilicen de forma generalizada en el control de calidad farmacéutico, en análisis de compuestos orgánicos y análisis medioambiental, además de en genómica y proteómica.

La transición de cromatografía líquida con detección UV a cromatografía con detección por MS no es trivial, y es necesario adaptar los métodos a nuevas condiciones analíticas para poder obtener el máximo rendimiento y beneficio de estas técnicas. Esto conlleva la necesidad de utilizar disolventes de calidad garantizada para LC-MS o UHPLC-MS.

La sensibilidad de un instrumento de LC-MS o UHPLC-MS se incrementa con el uso de eluyentes con menos impurezas. Un disolvente de calidad HPLC no siempre es la opción más adecuada para LC-MS o UHPLC-MS, ya que algunas impurezas que no se detectan por espectroscopia UV pueden interferir en la detección por espectrometría de masas.

Los disolventes y mezclas para LC-MS o UHPLC-MS deben ser adecuados para las nuevas necesidades técnicas.

Las impurezas metálicas a nivel de ppm que no afectan en HPLC distorsionan el espectro de masas modificando la abundancia de los iones de interés, haciendo más complicada la interpretación del espectro.

Los disolventes y agua Scharlau se someten a un control de calidad por LC-MS.

### DISOLVENTES SCHARLAU PARA LC-MS Y UHPLC-MS

CARACTERÍSTICAS:	BENEFICIOS:
- Bajo contenido en impurezas metálicas (cationes alcalinos y alcalinotérreos)	- Mayor sensibilidad
- Microfiltrados por 0,22 $\mu\text{m}$ (LC-MS) o por 0,1 $\mu\text{m}$ (UHPLC-MS)	- La identificación de espectro se hace más sencilla
- Niveles mínimos de acidez libre o alcalinidad libre	- Formación más eficiente de iones moleculares
- Bajo contenido en agua	- Más duración de las columnas
- Niveles bajos de impurezas no volátiles	- Ahorro en el mantenimiento de los equipos
- Controlados por LC-MS o UHPLC-MS	- Garantía de un producto controlado por LC-MS o UHPLC-MS
- Certificado de análisis de cada lote	

En la parte inferior se muestran los espectros correspondientes a los siguientes tests para acetonitrilo y agua de calidad UHPLC-MS:

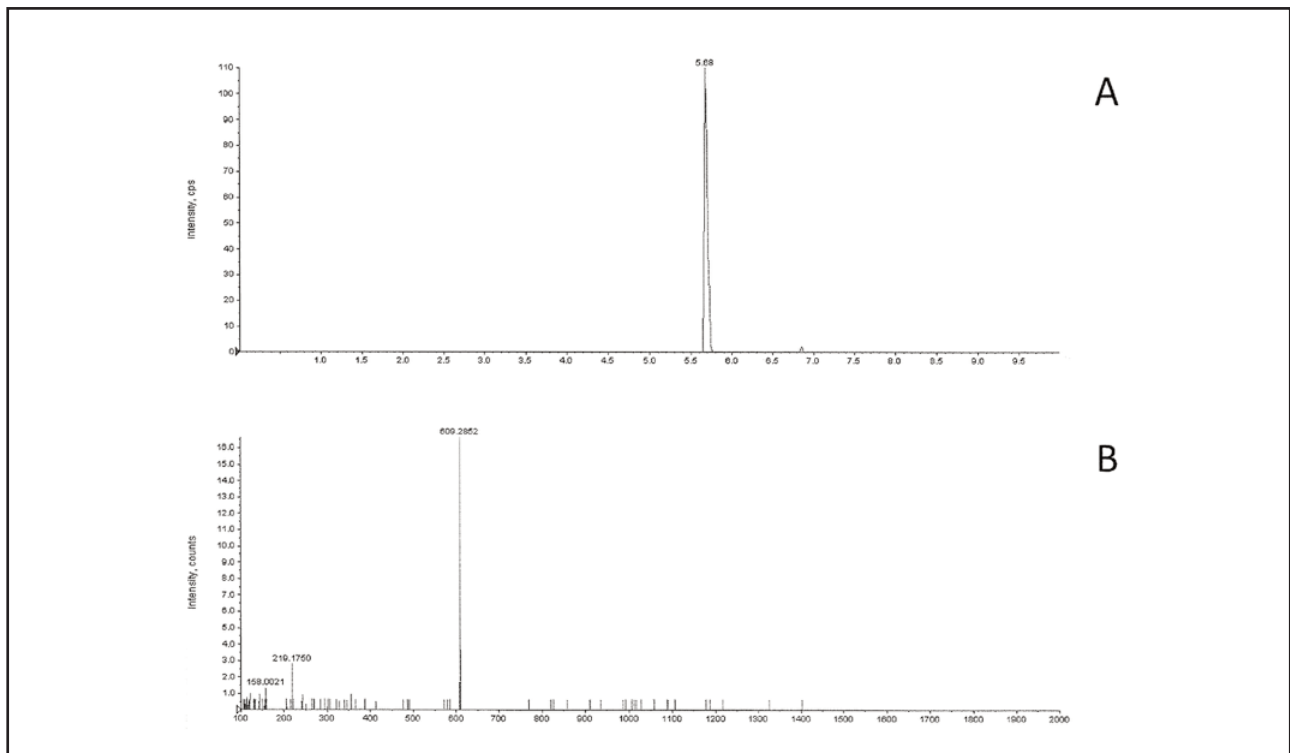
- Test de gradiente UV 210 y 254 nm TIC(+) y TIC(-) entre  $m/z$  100 y 2.000
- Test reserpina 5 ppb HPLC-UV-ESI(+)
- Test digoxina 20 ppb HPLC-UV-ESI(-)

### Conclusiones

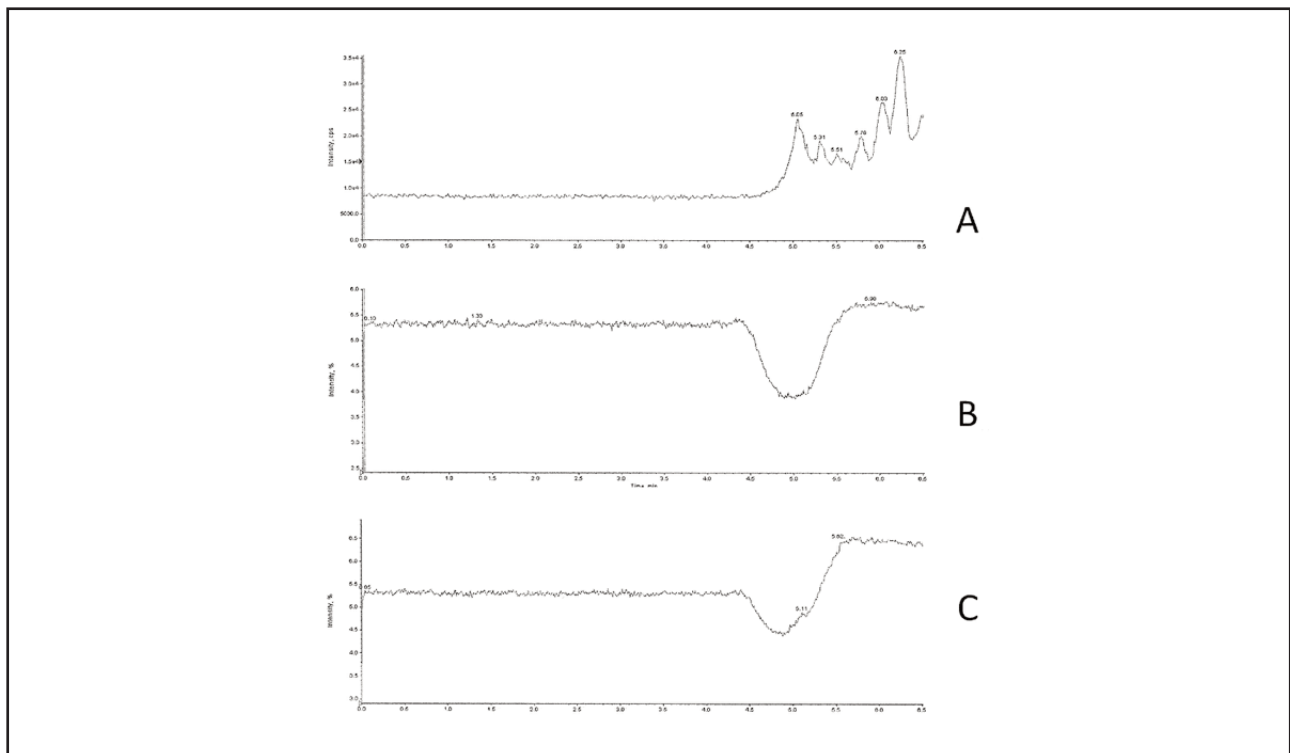
Con un ultra-alto poder de resolución en rutina y una consistente exactitud de masa sub-ppm, el espectrómetro de masas Q Exactive GC de Thermo Scientific es una herramienta de laboratorio única, de aplicación para descubrimiento de compuestos, screening, cuantificación, identificación de compuestos y para aplicaciones de elucidación estructural.

La resolución de masas de al menos 60.000 FWHM (a  $m/z$  200) es necesaria de modo rutinario para resolver todos los compuestos de los iones interferentes de la matriz o de iones de masa similar. Esta resolución es esencial para la identificación con confianza de nuestros compuestos.

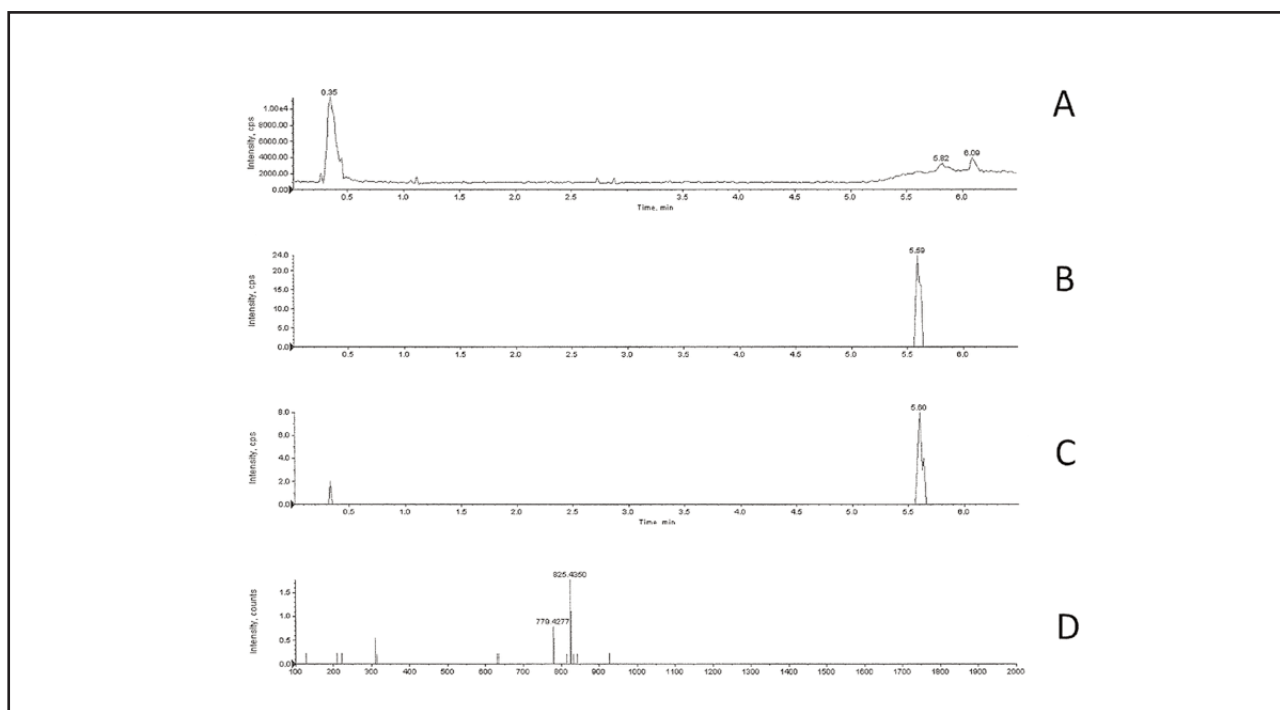
El sistema Q Exactive GC proporciona alta sensibilidad en matrices complejas y, muy importante, la sensibilidad se mantiene en todos los modos de resolución empleados (15 – 120K).



**Figura 1.** TOF MS(+) Test reserpina 5 ppb (ESI+), ACN y H<sub>2</sub>O Scharlau calidad UHPLC. Podemos observar que la traza del ion  $[M+H]^+$  tiene un alto ratio señal:fondo y es el ion más abundante del espectro de masas, superando el test de reserpina 5ppb. TOF MS(+) A) XIC  $m/z$  609; B) Espectro de masas.



**Figura 2.** TOF MS(+) Gradientes: A) TIC MS(+), B) UV 254 nm, C) UV 210 nm.



**Figura 3.** Test digoxina 20 ppb (ESI-), ACN y H<sub>2</sub>O Scharlau calidad UHPLC. Podemos observar el pico en el cromatograma traza y que los iones [M-H] y [M+HCOO] son los más abundantes del espectro de masas, superando el test de digoxina 20 ppb. TOF MS(-) A) TIC MS(-); B) Cromatograma traza  $m/z$  825; C) Cromatograma traza  $m/z$  779; D) Espectro de masas del pico.

#### Condiciones cromatográficas:

- Gradiente: agua (H<sub>2</sub>O)/acetonitrilo (ACN); rampa: (t (min); % ACN) (0; 5), (3; 5), (3,1; 0), (4,5; 95), (6; 95), (10; 5). Flujo: 600  $\mu$ L/min, Splitless. En los tests de reserpina y digoxina el agua se acidifica (0,1 % HCOOH)
- Volumen inyección: 10  $\mu$ L
- Detector UV: 210 nm y 254 nm

#### Condiciones MS:

- Ion spray voltage: +5,5 KV (ESI+), -4,5 KV (ESI-)
- Temp: 400°C
- Offset voltage: +5,3 V TOF MS(+) y +10,5 V TOF MS(-)
- CEM: 2.200 V TOF MS(+); 2.200 V TOF MS(-)
- TOF MS masas (Da):  $m/z$  100-2.000

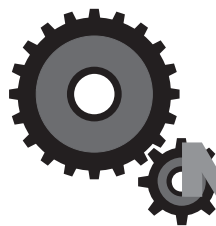
Disolventes grado UHPLC-MS Scharlau utilizados	
DESCRIPCIÓN:	REF.
Acetonitrilo, UHPLC-MS	AC0391
Agua, UHPLC-MS	AG0015

Para más información de la gama de productos LC-MS y UHPLC-MS puede visitar nuestra página web ([www.scharlab.com](http://www.scharlab.com)) o contactar con nosotros: [consultas@scharlab.com](mailto:consultas@scharlab.com)

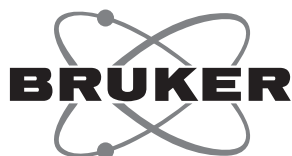
#### PÁSESE A LOS PATRONES EN SOLUCIÓN

Presentamos el nuevo catálogo de patrones orgánicos, que incluye más de 4.500 referencias de patrones en solución y mezclas. Listos para usar y acompañados de un certificado de análisis, le permitirán ahorrar en tiempo y costes de preparación. También disponibles mezclas según normativas ASTM, EN, EPA e ISO.



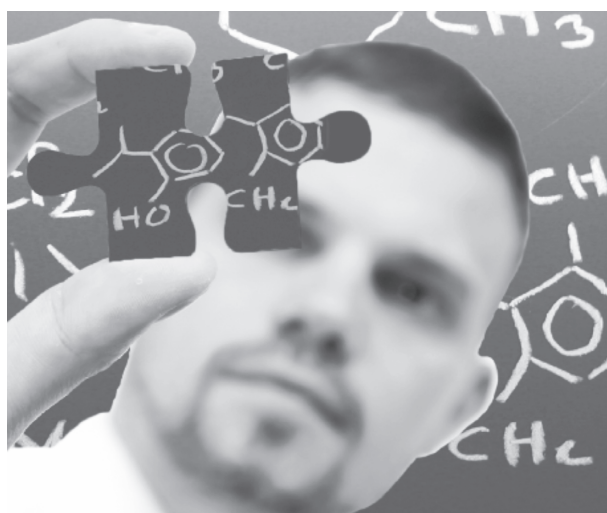


# NOVEDADES TÉCNICAS



Bruker Chemical Analysis

## METABOSCAPE PLATAFORMA DE IDENTIFICACIÓN AUTOMÁTICA EN PERFILES METABÓLICOS MEDIANTE BRUKER LCMS UHR QTOF IMPACT II.



Una nueva solución enfocada a relacionar la información biológica y funcional en organismos con los datos instrumentales que obtenemos mediante espectrometría de masas.

Esta es la pregunta fundamental en la mayoría de estudios actuales en metabolómica. *¿Cómo podemos gestionar la gran complejidad y diversidad de moléculas en un amplio rango de concentraciones?* No siempre vamos a conseguir una identificación y cuantificación absoluta de todos los compuestos y, por tanto, debemos combinar aproximaciones dirigidas y no dirigidas de forma sencilla de usar, manteniendo un flujo de trabajo alto para las muestras a procesar.

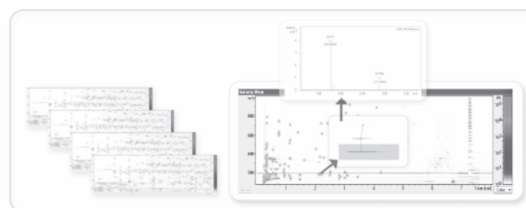
Hypothesis + experimental design



Full scan high resolution LC-QTOF data.

Como es habitual, la solución viene de la combinación de herramientas, de forma que el instrumento **UHR QTOF Bruker Impact II** se encarga de proporcionar los datos de masa exacta con la mejor calidad posible, la plataforma de “Software” **MetaboScape + PathwayScreener** ofrece la productividad necesaria para la interpretación de las características biológicas y su relación con los datos instrumentales. Bibliotecas como **Bruker HMDB metabolite Library** ofrecen la información necesaria para progresar en la necesaria identificación. Con la integración de estas herramientas podemos afrontar con garantías el reto de completar el puzle metabolómico.

La novedad que supone el uso de la plataforma **MetaboScape**, en la estrategia no dirigida, es que permite preseleccionar los “paquetes” de datos interesantes para aplicarles posteriormente un estudio estadístico más profundo, detectando diferencias significativas entre ellos. El sistema combina toda la información adquirida por el **Q-TOF MS**, aplicando el novedoso algoritmo **FMF** (“Find Molecular Feature”) que permite encontrar las características relevantes a nivel de espectro de masas, teniendo en cuenta la masa exacta, el perfil isotópico, los estados de carga, la formación de aductos, etc., y extrae de forma automática toda la información relevante de los datos experimentales.

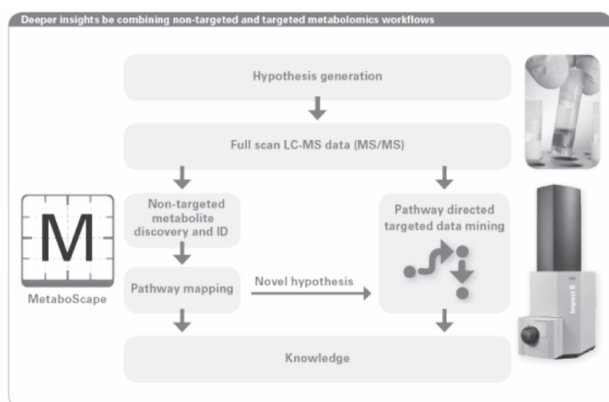


**Extract and combine all relevant information**  
The Find Molecular Features (FMF) algorithm in ProfileAnalysis™ automatically extracts and combines all relevant information, even from very complex LC-MS/MS data sets. It combines the ions belonging to the same compound into one feature, i.e. isotopes, charge states, adducts or fragments. Powerful data reduction helps to separate real signals from noise.

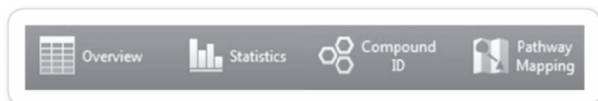
Una vez reducidos los datos, el procesamiento estadístico con **Compass ProfileAnalysis** permite confirmar o descartar la presencia de potenciales biomarcadores relacionando la biología con los datos experimentales, de forma efectiva.

Una vez identificados estos potenciales biomarcadores, podemos aplicar las herramientas más orientadas al trabajo dirigido donde, además de los algoritmos apropiados de identificación de estructuras de Bruker **Smart Formula 3D**, podemos acudir a distintas bibliotecas especializadas. Una vez identificado el candidato, vuelve a ser fundamental incorporarlo en el contexto biológico de su ciclo metabólico correspondiente. Para ello, el **Compass PathwayScreener** nos permite de forma sencilla e intuitiva identificar el ciclo metabólico al que pertenece el potencial marcador; de esa forma podremos iden-

tificar fácilmente otros compuestos para confirmar el modelo planteado, completando el ciclo.



La combinación de un excelente Q-TOF como el **Impact II**, que proporciona unos datos con excelente estabilidad y reproducibilidad en masas exacta, con las herramientas de software de **MetaboScape** ofrecen la máxima fiabilidad en el camino desde los datos “crudos” del espectro de masas hasta la biología real.



Más información sobre el sistema **MetaboScape** en:

<https://www.bruker.com/products/mass-spectrometry-and-separations/ms-software/metaboscape/overview.html>

Poster Note: PN-27 Biosynthetic function of genes, 12-2015 (1841298)

Poster Note: PN-26 MetaboScape®: Linking HRAM QTOF Data to Biology - Increasing Arginine Production in *C. glutamicum* by Rational Strain Design and Discovery Metabolomics (1841297)

Brochure: MetaboScape, 12-2015 (1841294)

**Novedad.** En la reciente ASMS2016 se ha presentado un complemento muy interesante al MetaboScape, que es la biblioteca personal **MetaboBASE**, desarrollada en colaboración con el Dr. Gary Siuzdak del centro Scripps en La Jolla, California. Se ha realizado un importante trabajo de análisis y documentación. Contiene espectros de MS y MS/MS de más de 13.000 compuestos analizados en Bruker QTOF. Esta biblioteca es un excelente comple-

mento a las herramientas de la plataforma MetaboScape que, junto con el sistema Bruker Impact II o Compact, proporcionan una solución completa e integrada para el campo metabolómico.

Para más información sobre las novedades presentadas en la ASMS 2016 por Bruker consulte en:

<https://www.bruker.com/es/events/mass-spectrometry/asms-2016.html>

## NOVEDADES DE BRUKER ASMS2016



Como muchos de Vds. sabrán, muy recientemente se ha celebrado la conferencia anual de la Sociedad Americana de Espectrometría de Masas ASMS 2016. En ella, Bruker ha presentado algunas novedades significativas que desarrollaremos en un futuro próximo, pero queríamos presentarles aquí un avance de dichas novedades que, sin duda alguna, darán bastante que hablar en el campo de la Espectrometría de Masas.

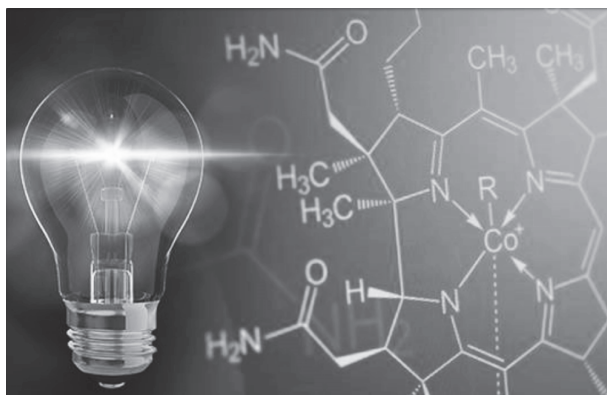
- **tims-TOF:** Nuevo sistema TOF con un innovador sistema de movilidad iónica acoplado que permite la máxima flexibilidad para potenciar su uso. Próximamente llegarán más detalles.
- **RapifleX TOF-TOF:** El sistema MALDI TOF más rápido del mercado, ahora con mayor funcionalidad, mediante TOF-TOF para el análisis proteómico.
- **ToxScreen & Pesticide Screener 2.1:** Nuevas versiones de los ya famosos sistemas de “screening” basados en Q-TOF Bruker.
- **MALDI Pharma PULSE:** Un nuevo concepto de screening ultrarrápido enfocado a la investigación y desarrollo farmacéutico que aprovecha al máximo la selectividad del MALDI MS, para conseguir velocidades de menos de 1 segundo por muestra, sin elevados costes de consumibles.
- **Bruker Fusion-SV 1.1:** La innovadora plataforma de SW que permite combinar los datos de NMR y MS,



ahora ampliada a  $^{13}\text{C}$  y HMBC, la mejor herramienta para la confirmación estructural.

**Nueva solución HDX:** Análisis de intercambio Hidrógeno-Deuterio automático mediante espectrometría de masas, que permite el estudio de cambios conformacionales en proteínas mediante el estudio de interacciones proteína-ligando. Está basado en la extraordinaria fiabilidad espectral y resolución del Bruker UHR-QTOF Maxis II.

Ha sido un evento lleno de novedades en las que iremos profundizando poco a poco a lo largo de las próximas semanas. Manténgase atento a la información en: <https://www.bruker.com/es/events/mass-spectrometry/asms-2016.html>



### **Bruker Española, S.A.**

Parque Empresarial Rivas Futura  
C/ Marie Curie, 5. Edificio Alfa  
28521 Rivas-Vaciamadrid  
Madrid - Spain  
Tel.: 91 4994634 / 4080  
Fax: 91 656 62 37  
Info-bcad-spain@bruker.com

Para obtener más información de Bruker, póngase en contacto con Bruker Daltonics en: [info-bcad-spain@bruker.com](mailto:info-bcad-spain@bruker.com), o en la web [www.bruker.com](http://www.bruker.com)



### **SSI-16 INTERFASE TGAA GC/MSD**

La SSI-16 es una interfase automatizada de almacenamiento y análisis multi-loop, íntegramente desarrollada por Ingeniería Analítica S.L.

Permite acoplar una termobalanza (TGA) a un sistema de GC/MSD.

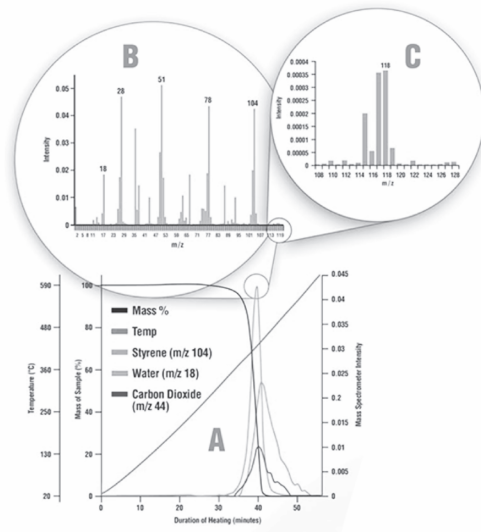
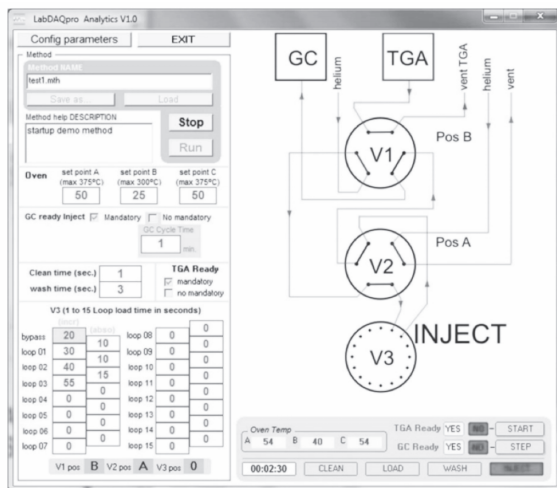
En una TGA, durante la degradación térmica de la muestra, la composición del gas que se genera varía demasiado rápido para su análisis y caracterización por GC o GC/MSD.

Con la SSI-16 el tiempo de análisis en TGA ya no es un problema, ya que el gas generado se almacena secuencialmente en distintos loops para poder analizarse automáticamente por GC/MSD una vez finalizado el experimento de TGA. La duración del análisis por GC ya no es un factor limitante para los estudios de perfil con TGA.

Los gases obtenidos durante la transición térmica de la TGA se recogen a los tiempos programados según la secuencia de muestreo definida por el usuario en los 16 loops de muestra termostatzados que incorpora el sistema. La válvula de aislamiento permite una recogida exacta de la muestra en cada bucle durante el tiempo especificado.

Número de loops	16 en material sulfinert
Volumen de loops	Configurable por el usuario al realizar el pedido, estándar 25n µl
Número de válvulas	3 (inyección, almacenaje, aislamiento) con control automático o manual
Zonas calefaccionadas	3 reguladas eléctricamente
Línea de transferencia	Calefaccionada hasta 375 °C de 1 m x 1/16" en material sulfinert
Temperatura máxima de las válvulas	310 °C máx en la versión estándar
Potencia	220 VAC 1000W Máx
Dimensiones	40 cm de ancho
Requisitos software	Windows 7, puerto Ethernet
Requisitos GC	requiere una entrada Split/suplirles, start remoto, remoto ready-out PC





Una vez finalizado el proceso de recogida, el sistema realiza una limpieza de las líneas e inyecta automáticamente y de forma secuencial las muestras en el GC sin intervención alguna del usuario.

El propio gas portador del GC es el que arrastra secuencialmente en cada análisis la muestra de cada uno de los loops hacia el puerto de inyección del GC a través de una línea de transferencia termostatazada.

La SSI-16 se suministra con su propio software de control, que permite editar secuencias y guardar métodos. El software comunica automáticamente con el GC leyendo su estado de “ready” y enviándole señales de “start” remotos.

Con una interfase de usuario sencilla, el usuario puede:

- Programar tiempos de almacenamiento para cada bucle de muestra de forma independiente.
- Monitorizar continuamente el estado del GC, enviándole una señal de start automático al final de la recogida de los loops tan pronto éste se encuentre disponible.
- Lavado automático de los loops después de la inyección en el GC.
- Inyección rápida con el modo directo utilizando un solo bucle, combinado con un analizador rápido o a tiempo real.

El Sistema TGA está compuesto por:

- 2 líneas de transferencia termostatazadas de material inerte (Sulfinert), para la recogida de muestra de la TGA y posterior transferencia al GC.
- 2 válvulas termostatazadas de 6 puertos, conectadas a 16 bucles de toma de muestra.

Con la SSI-16 es posible correlacionar los efectos térmicos con información de la naturaleza de la molécula, su estructura y composición del material analizado.

La SSI-16 está diseñada para ser acoplada a cualquier modelo de TGA y GC o GC/MSD. También es compatible con cualquier técnica de desorción térmica y/o pirólisis donde poder recolectar muestras a diferentes tiempos nos permitirá realizar estudios cinéticos. El sistema SSI-16 también puede actuar como recolector de fracciones a la salida de la columna para su aislamiento y concentración.

Es un sistema fácilmente instalable por el propio usuario y no ocupa permanentemente un puerto de inyector del GC (S/SL), pudiendo liberar el GC/MSD para aplicaciones de rutina en menos de 1 minuto, cuando no nos interese trabajar con la técnica acoplada.

#### Ejemplo de Resultados EGA TGA – SSI-16 – GC/MS

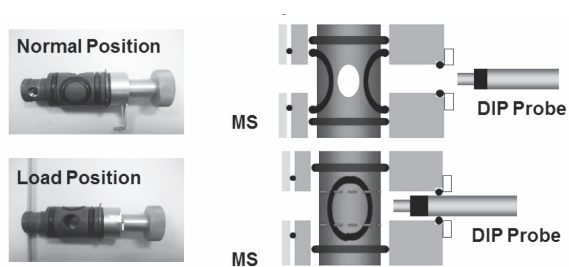
- A. Mostramos la pérdida de masa del TGA junto con la intensidad de señal del MSD.
- B. Espectro de Masas del gas capturado en el loop número 14 durante el intervalo 39,75- 40,00. Los picos a  $m/z$  18, 44, y 104 corresponden al agua,  $\text{CO}_2$  y estireno, respectivamente. Ajustando los tiempos de recogida de cada bucle podemos correlacionar cada pérdida de masa observada a lo largo del tiempo con los compuestos químicos identificados por GC/MSD, sin las limitaciones propias de los MSD de proceso.
- C. Porción reescalada del espectro de masas. Los picos a  $m/z$  115-128 corresponden a la molécula de estireno todavía ligada a un grupo metilo procedente de la rotura de la molécula padre.



**METABOSCAPE PLATAFORMA DE IDENTIFICACIÓN AUTOMÁTICA EN PERFILES METABÓLICOS MEDIANTE BRUKER LCMS UHR QTOF IMPACT II.**



La Sonda de Introducción Directa (DIP) acoplada a Espectrometría de Masas (MS) es una técnica perfectamente establecida, rápida y conveniente para el análisis de muestras sólidas y líquidas.



→ vacuum lock assy with marginal dead volume : no additional pump for the vacuum lock required

Esta combinación DIP-MS resulta particularmente adecuada para aplicaciones tales como la determinación del peso molecular y métodos de screening.

El prototipo utilizado emplea una varilla que inserta la muestra en el vacío de la fuente de iones para obtener el espectro de masas. Un control externo de la bomba y del vacío permite introducir la muestra en el sistema con la

mínima introducción de aire. Cuando la varilla es introducida completamente, la punta de la sonda se calienta (es programable a distintas rampas de temperatura) y empieza la adquisición de datos.

El prototipo está siendo diseñado por la empresa SIM (Scientific Instruments Manufacturer GmbH) para el sistema de LECO GC-HRT TOF MS de alta resolución.

**DISEÑO DE LA SONDA DIP**

Mecanismo de sellado: la muestra se transfiere en el vacío de la cámara de ionización a través del “vacuum-lock assembly”.

La sonda DIP se controla desde el software DIP. Este programa permite al usuario introducir directamente el perfil del programa de temperaturas.

El tiempo total se calcula automáticamente y el análisis empieza cuando se pulsa el botón de Start.

**Aplicaciones DIP/Alta resolución**

- Determinación del peso molecular y screening.
- Drogas de abuso, p. ej., cocaína.
- Fármacos, p. ej., ibuprofeno.
- E-líquidos, p. ej., cigarrillo electrónico.
- Productos químicos peligrosos en ropa de marca, p. ej. TBT.
- Productos químicos a granel (incluyendo compuestos no volátiles).

El Espectrómetro de Masas LECO GC-HRT TOF MS de alta resolución con sistema “Multi-Reflecting” alcanza una resolución de 50.000 a FWHM y exactitud mejor que 1 ppm de masa exacta.

Los distintos modos de resolución facilitan la identificación de compuestos desconocidos, eliminando las interferencias isobáricas.

La utilización de la introducción de muestra por sonda directa acoplada a la fuente de iones permitirá el análisis rápido y efectivo de compuestos sólidos y líquidos.

Las características avanzadas del paquete de procesamiento de datos ayudan al usuario en la identificación de compuestos desconocidos, así como en la confirmación de compuestos target.

Website – [www.LECO-Europe.com](http://www.LECO-Europe.com)

# A new chapter

A comprehensive understanding of samples has been out of reach for GC-MS users for too long. The new Thermo Scientific™ Q Exactive™ GC Orbitrap GC-MS/MS system is about to change all of that. An exciting new chapter in GC-MS is here with the superior resolving power, mass accuracy and sensitivity that only Thermo Scientific™ Orbitrap™ technology can deliver.

# in GC-MS

• Learn more at [thermoscientific.com/QExactiveGC](http://thermoscientific.com/QExactiveGC)



SUS MÉTODOS EXISTENTES.  
SUS FUTUROS OBJETIVOS.  
**PARTIENDO DE AQUÍ, LLEGUE  
DONDE USTED QUIERA.**



Acuity<sup>®</sup> Arc<sup>™</sup>

Presentamos una nueva y potente vía para construir el puente entre la HPLC y ACQUITY UPLC<sup>®</sup>. Imagine una compatibilidad de métodos “plug-and-play” real y un aumento de productividad que permitan a su laboratorio poder dar respuesta a las necesidades científicas, tecnológicas y económicas actuales y futuras. ¿Dónde le llevaría esta versatilidad LC sin compromisos? Elija su camino en [waters.com/arc](http://waters.com/arc)

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.<sup>®</sup>

INDUSTRIA FARMACÉUTICA ▪ CIENCIAS DE LA VIDA ▪ ALIMENTACIÓN ▪ MEDIO AMBIENTE ▪ ANÁLISIS QUÍMICO

©2015 Waters Corporation. Waters, The Science of What's Possible y ACQUITY UPLC son marcas registradas de Waters Corporation. Arc es una marca comercial de Waters Corporation.