

CROMATOGRAFÍA Y TÉCNICAS AFINES

SECYTA

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
CROMATOGRAFÍA
Y TÉCNICAS AFINES

41

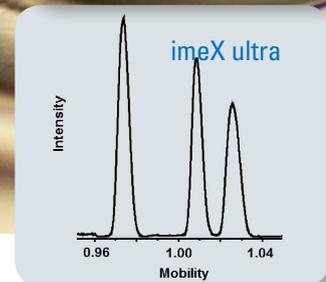
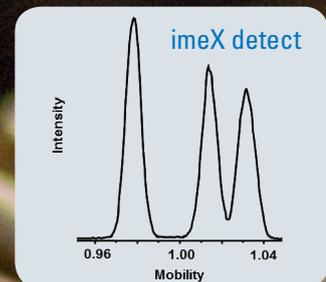
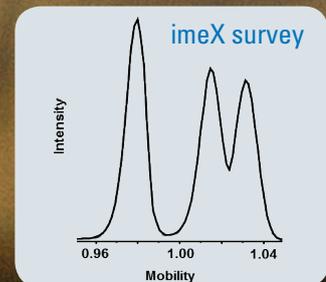
BOLETÍN DE LA SECYTA
VOLUMEN 41 NÚM. 1 (2020)
WWW.SECYTA.ORG



Bruker timsTOF™

Flexibilidad para realizar sus ideas

La tecnología imeX™ exclusiva ofrece alta resolución en movilidad iónica totalmente ajustable. Permite resolver picos solapados, focalizarse en picos de interés, o analizar con precisión CCS.



La movilidad iónica es una técnica de separación eficaz complementaria a la espectrometría de masas que resuelve la estructura tridimensional de un ion. Incrementa la capacidad analítica del sistema, así como la confianza en la caracterización del compuesto.

timsTOF, Bruker presenta la nueva generación de la espectrometría de masas con movilidad iónica.

Bruker ha diseñado el espectrómetro de masas timsTOF como una plataforma abierta, que pueda satisfacer su experiencia y curiosidad.

Para más información, visite www.timstof.com

Innovation with Integrity

TIMS-QTOF MS

Solo para investigación. No para uso diagnóstico.

CROMATOGRAFÍA Y TÉCNICAS AFINES

Madrid, 2020, Vol. 41, núm. 1

ISSN 1132-1369

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

ÍNDICE

2 **EDITORIAL**

ARTÍCULO

3 Análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos en partículas atmosféricas a nivel de traza mediante GC-MS de alta resolución y masa exacta (HRAM-GC-MS). *Barend L. van Drooge, Raimon M. Prats*

NOTICIAS DE LA SECyTA

15 Nuevos socios

16 Jubilaciones: José Carlos Díez Masa

INFORMACIONES

17 Calendario de actividades

18 Nuevas Tesis Doctorales

INFORMACIÓN BIBLIOGRÁFICA

22 Reseña de libros

DE NUESTRAS EMPRESAS COLABORADORAS

24 Notas técnicas

45 Novedades técnicas



Redacción: María Luz Sanz (mlsanz@iqog.csic.es)
Ana Cristina Soria Monzón (acsoria@iqog.csic.es)
Ana Isabel Ruiz Matute (ana.ruiz@csic.es)
Mario Fernández (mario@iqog.csic.es)
Instituto de Química Orgánica General (CSIC)
Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid. Tel.91-562 2900

Publicidad: Mario Fernández (mario@iqog.csic.es)
Instituto de Química Orgánica General (CSIC)
Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid. Tel.91-562 2900

Depósito legal: M-1902-1975

Diseño y preimpresión: Gráficas Blanco, S. L.

Impresión: Solana e hijos Artes Gráficas, S. A. U.

Diseño de la portada: Pau de Riba

Los autores son responsables del contenido de sus artículos

EDITORIAL

Queridos socios de la SECyTA,

Es ésta la primera vez que me dirijo a vosotros desde este Boletín, después de la Asamblea General de nuestra Sociedad que tuvo lugar durante la XIX Reunión Científica de la SECyTA (48ª Reunión del GCTA) en el marco del 1st Iberian Meeting in Separation Sciences & Mass Spectrometry, celebrado en Santiago de Compostela en octubre de 2019. En aquella Asamblea tuve el honor de ser elegida Presidenta de la SECyTA, y desde estas líneas, aunque ha pasado ya un año, quiero agradecer a todos los socios la confianza depositada en mí y en los nuevos miembros elegidos y agradecer a los miembros salientes y, en especial, al Dr. Francisco Javier Santos, anterior Presidente, por la labor realizada, reconociendo su esfuerzo y dedicación por impulsar nuestra Sociedad y fomentar el éxito de nuestros encuentros científicos.

En aquel momento comenzamos una nueva etapa ilusionante, que en la actualidad está marcada por la situación que vivimos y los retos que tenemos que afrontar para adaptarnos y que ha frenado de golpe las propuestas y actividades que teníamos programadas. Han pasado varios meses ya desde que os escribí en plena pandemia y en situación de confinamiento, para informaros de la cancelación de nuestra reunión anual, que iba a celebrarse en Almería, bajo la organización de nuestra compañera la Prof. Ana Agüera, de la Universidad de Almería. Desafortunadamente, a pesar de la mejoría del verano, volvemos a una situación preocupante que nos mantiene con incertidumbre ante los próximos meses, aunque al menos hemos podido recuperar parte de nuestra actividad y nuestros centros y laboratorios permanecen abiertos. A pesar de intentar normalizar nuestro trabajo adaptándonos a la situación, es obvio que muchos sectores se han resentido notablemente y esto también afecta a nuestra normalidad, a nuestros planes a corto y medio plazo. Así, este Boletín es el único de este año, y no ha sido fácil poder finalmente concluirlo; de modo que quiero expresar mi agradecimiento por el esfuerzo a nuestros compañeros del Comité Editorial, que han mantenido la calidad a pesar de las adversas circunstancias. Igualmente, desde aquí agradecemos a las empresas colaboradoras, que siguen ofreciéndonos su apoyo y participación en estos momentos de limitaciones e inconvenientes, y a vosotros que habéis seguido participando en este foro.

No obstante, la ciencia siempre ofrece una esperanza y contando con ello enfocamos nuestro objetivo para estos meses, con reservas, pero también con ilusión. En la última reunión de nuestra Junta de Gobierno, celebrada de modo virtual el pasado 6 de noviembre, la Prof. Ana Agüera mantuvo el compromiso de celebrar la XX Reunión Científica de la SECyTA (49ª Reunión del GCTA) el próximo año 2021, en principio abordando el escenario presencial y estando abiertos a una adaptación virtual dependiendo de las circunstancias. Agradecemos nuevamente la disposición de su grupo para afrontar esta situación e intentar finalmente en la modalidad que sea posible, que la reunión sea un marco de encuentro de los investigadores que trabajamos en técnicas separativas.

Es importante recordar que nuestra sociedad mantiene el apoyo a los jóvenes investigadores, que son el pilar de nuestra actividad y el futuro de la sociedad, y a los que les ha tocado vivir esta crisis sanitaria mundial que afecta a sus trabajos y a su proyección. Por ello, nos preocupan especialmente, porque son el tesoro de nuestros laboratorios y grupos. Seguiremos apoyando su actividad con la concesión de ayudas de asistencia a congresos internacionales patrocinados por la SECyTA y ofreciéndoles ayudas y una participación activa y relevante en nuestras reuniones. Les invitamos a que envíen los resúmenes de sus Tesis Doctorales para que su trabajo sea difundido en el Boletín y en nuestra web y les animamos a escribir artículos y revisiones sobre su línea de investigación que promuevan la divulgación de sus trabajos. Igualmente queremos ser una plataforma donde encontrar ofertas de empleo y formación, sirviendo como nexo entre el sector profesional y los doctores egresados.

Desde estas líneas quiero desearos también todo lo mejor para el año 2021. Confiamos en que mejore la situación sanitaria y nos permita encontrarnos en la XX Reunión Científica de la SECyTA en Almería, o al menos que podamos compartir nuestros trabajos en modo virtual, pero retomando ese contacto tan importante que tanto bien nos hace profesional y humanamente y que hemos tenido que aparcarse en esta época de pandemia.

ANA M. GARCÍA CAMPAÑA
Presidenta de SECyTA

ARTÍCULO

Análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos en partículas atmosféricas a nivel de traza mediante GC-MS de alta resolución y masa exacta (HRAM-GC-MS)

Barend L. van Drooge, Raimon M. Prats

Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IDAEA-CSIC). c/Jordi Girona 18-26, 08034-Barcelona.

RESUMEN

La cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas Orbitrap de alta resolución y exactitud de masa (HRAM-GC-MS) permite el análisis de compuestos químicos conocidos y desconocidos a nivel de traza en muestras ambientales. En este estudio se ha evaluado el Q Exactive-Orbitrap GC-MS para el análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en material de referencia estándar (SRM2260a) y partículas de aire ambiente ($PM_{2.5}$) en modo de exploración completa (Full Scan). Se observó una buena linealidad y baja incertidumbre analítica en el análisis del SRM, que varía del 1 % al 15 % (incertidumbre expandida; IE %) sobre el rango de concentración operativa (0,5-500 pg) para 21 compuestos HAPs (IE % promedio = 6 %). Sólo cuatro compuestos mostraron una IE % analítica entre 23 % y 49 % y no fueron detectables en la concentración del patrón más baja (0,5 pg inyectados). El rendimiento del sistema se probó con éxito mediante el análisis de fracciones de muestra de $PM_{2.5}$ (volúmenes de aire muestreados equivalentes a 0,37 m³), obteniéndose una repetitividad aceptable con incertidumbres entre 3 % y 22 % (IE % promedio = 7 %) para los HAPs detectados. Los análisis mediante HRAM-GC-MS fueron reproducibles, comparando las concentraciones de los HAPs con las obtenidas por extracción líquida convencional y análisis por GC-MS en modo SIM (LE GC-MS). Las IE % de las concentraciones estuvieron entre el 5 % y el 15 % para los HAPs más unidos a partículas (cinco a siete anillos), mientras que la IE % aumentó hasta el 80 % para los HAPs más volátiles y menos abundantes en estas muestras. El límite de detección del método HRAM-GC-MS para el análisis de HAPs en muestras de PM fue de 12,5 pg, que también es el límite de cuantificación ya que los HAPs no se detectaron en blancos. Este bajo límite permite el análisis de pequeñas fracciones de muestra y/o muestras con tiempos de muestreo cortos. Así, se detectaron los HAPs en tiras de filtro de aethalómetros que se utilizan para el análisis en línea de carbono negro equivalente (eBC; hollín) en la PM del aire ambiente. El trabajo que presentamos

muestra que se puede usar el HRAM-GC-MS para el análisis de rutina de HAPs en muestras de partículas atmosféricas con alta precisión y exactitud, ahorrando tiempo y consumibles en el análisis.

INTRODUCCIÓN

La cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) se usa ampliamente para la detección y cuantificación de compuestos orgánicos semi-volátiles en muestras ambientales, como la materia particulada atmosférica (PM), ya que proporciona ventajas analíticas en cuanto a resolución y reproducibilidad cromatográfica y tiene una extensa biblioteca espectral para apoyar la identificación de componentes químicos. Durante la última década, el desarrollo y uso de la espectrometría de masas basada en Orbitrap para la cromatografía líquida ha dado lugar a un considerable progreso en la identificación de compuestos y el análisis de alta resolución, incluso en procedimientos de muestreo de rutina (Eliuk, Makarov 2015). No fue hasta 2015 que se desarrolló una versión comercial que combina la cromatografía de gases y la espectrometría Orbitrap de alta resolución y masa exacta (HRAM) (www.thermofisher.com). Fue diseñada para proporcionar una caracterización integral de muestras en un solo análisis para un mayor rendimiento en la cuantificación de compuestos, pero también para el descubrimiento e identificación de compuestos nuevos. En este trabajo se ha evaluado el Q Exactive Orbitrap GC-MS de Thermo Scientific para el análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en extractos de muestras completas de partículas atmosféricas ($PM_{2.5}$) que se recogieron en filtros de cuarzo. Los HAPs son contaminantes ambientales ubicuos que son componentes de los combustibles fósiles, aunque su principal fuente de emisión al medio ambiente es a través de la atmósfera después de una combustión incompleta de material orgánico (Howsam, Jones 1998; van Drooge 2013). Durante la combustión, se forman anillos aromáticos fusionados. Por lo tanto, fuentes importantes son la combustión

de combustibles fósiles (gasoil y gasolina) y modernos (biomasa, por ejemplo, madera) para la generación de energía, pero también incendios forestales y la combustión abierta de desechos vegetales en campos agrícolas. En muchas áreas urbanas, los vehículos motorizados con motores de combustión siguen siendo la fuente de emisión más importante en estas zonas, mientras que la calefacción doméstica por combustión de madera es una fuente de emisión dominante en muchas comunidades rurales, esencialmente durante el período invernal y especialmente en áreas boscosas, como valles de montaña (van Drooge, Grimalt 2015).

El muestreo, la detección y la cuantificación de HAPs en PM con metodologías estandarizadas se realizan pasando grandes volúmenes de aire (100-1.000 m³) sobre un filtro durante 12 a 24 horas y la extracción consecutiva de estos filtros con disolventes orgánicos, y técnicas de separación y purificación. Después de concentrar el extracto, se inyecta finalmente una alícuota en el instrumento de cromatografía, ya sea con fase móvil gaseosa o líquida, y los compuestos se detectan y cuantifican (ISO 12884 2000; ISO 16362 2005; CEN/TC264 2008). GC-MS es una técnica de cuantificación convencional para el análisis de HAPs (ISO 12884 2000; CEN/TC264 2008). A pesar de la sensibilidad de la GC-MS con cuadrupolo simple, a menudo son necesarios grandes volúmenes de muestra y tiempos de muestreo largos para poder detectar los niveles en aire ambiente entre pocos pg/m³ y varios ng/m³. Sin embargo, el análisis de los HAPs a estas concentraciones relativamente bajas es necesario ya que los HAPs tienen propiedades mutagénicas y cancerígenas, así como también propiedades inflamatorias y disruptivas endocrinas a estos niveles (van Drooge 2013). El nivel máximo anual de benzo[a]pireno, el HAP más tóxico, se establece en 1 ng/m³ por la legislación de la UE (Directive 2004/107/CE), mientras que la Organización Mundial de la Salud indica que 0,12 ng/m³ debería ser el nivel aceptable para el impacto en la salud humana (WHO 2017). Por lo tanto, una determinación sensible de los HAPs en PM atmosférica es importante para los estudios de exposición, la evaluación de riesgos y la regulación. La validación del método analítico y las incertidumbres analíticas estimadas se deben establecer para los nuevos métodos, ya que se definen como requisitos generales para los laboratorios (ISO/IEC 17025 2005). La incertidumbre de la medición es necesaria para estimar la confianza de los resultados analíticos y es aplicada ampliamente en la determinación química (ISO/IEC 98-3 2008). En este trabajo, se empleó para tal fin material

de referencia estándar (SRM). Además, se utilizaron muestras de PM reales para evaluar la reproducibilidad y la repetitividad del análisis. Finalmente, el método analítico de HRAM-GC-MS se aplicó en tiras de filtro de aethalómetros (AETHLABS, San Francisco, CA, USA) que recolectan muestras de volúmenes relativamente pequeños (0,144 m³ en 24 horas) para mediciones de carbono negro equivalente en línea.

METODOLOGÍA Y MATERIALES

Reactivos

Los disolventes ciclohexano, n-hexano, diclorometano, metanol y tolueno fueron de Merck (Darmstadt, Alemania). El material de referencia estándar SRM2260a disuelto en tolueno fue del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST; Gaithersburg, MD, USA). Los patrones de recuperación con dieciséis compuestos HAPs deuterados disueltos en ciclohexano fueron de Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Alemania).

Muestras reales de PM_{2,5}

Muestras de PM_{2,5} (partículas atmosféricas con un diámetro aerodinámico menor de 2,5 micrómetros) se recolectaron en filtros de cuarzo (Pall Corporation, New York, NY, USA) limpiados previamente en 2014 en la ciudad de Manlleu (España) por medio de un captador de alto volumen —CAV-A/MSB (MCV, Collbató, España)— a un flujo de 30 m³/h durante 24 horas. Después del muestreo, los filtros se almacenaron a -20 °C antes del análisis. Este procedimiento está en línea con la metodología estandarizada para el muestreo de PM (CEN TC 64 1998; Directive 1999/30/CE).

También se recolectaron muestras de PM_{2,5} en tiras de filtro con un aethalómetro microAeth AE51 en invierno, en un pueblo en los Pirineos (La Pobla de Lillet; $n = 11$) y en una calle con tráfico de Barcelona ($n = 19$), mientras se medían las concentraciones de carbono negro equivalente (eBC) en tiempo real (volúmenes equivalentes de muestra = 0,144 m³).

Análisis por GC-MS convencional (LE GC-MS)

La metodología aplicada para el análisis de HAPs por extracción con disolvente, limpieza y análisis por GC-MS está de acuerdo con los procedimientos estanda-

rizados (CEN/TC264 2008; ISO 12884 2000). Una cuarta parte del filtro (180 m³) había sido analizada en 2015 después de ser pesada en micro-balanzas para obtener su volumen exacto equivalente. Se añadió a los filtros 25 µL de patrón HAP-D de recuperación (2 ng/µL) y luego se extrajeron en 15 mL de una mezcla de diclorometano y metanol (1:1, v/v) en un baño ultrasónico durante 15 minutos. Después, los extractos se transvasaron a un matraz a través de un filtro de jeringa (Sartorius, Göttingen, Alemania) para eliminar partículas. Este paso se repitió dos veces. El extracto final se concentró a 0,5 mL por evaporación rotatoria. Para el análisis de HAPs, el extracto se añadió a una columna de óxido de aluminio (1 g) que se había calentado la noche anterior en una mufla a 450 °C, se eluyó con 4 mL de mezcla de diclorometano:hexano (2:1, v/v), se concentró a 0,5 mL por evaporación rotatoria y se concentró aún más hasta casi sequedad bajo una corriente suave de gas nitrógeno.

Se inyectaron extractos de muestra (1 µL) en un equipo de GC-MS (Thermo Trace GC Ultra-DSQ II)

equipado con una columna capilar de sílice fundida de 60 m (HP-5MS, 0,25 mm × 25 µm de espesor de película). El programa de temperatura del horno comenzó a 90 °C y se mantuvo durante 1 minuto, y luego se calentó a 120 °C a 12 °C/min y a 320 °C a 4 °C/min, donde se mantuvo durante 15 minutos. Las temperaturas del inyector, la fuente de iones, el cuadrupolo y la línea de transferencia fueron 280 °C, 200 °C, 150 °C y 270 °C, respectivamente. Se usó helio como gas portador a 0,9 mL/min. Se usó un detector selectivo de masas en modo SIM para el análisis de HAP individuales. Se identificaron de acuerdo a los tiempos de retención del estándar SRM2260a en la columna de GC y por los iones que se proporcionan en la Tabla 1. La cuantificación se realizó mediante curvas de calibración externas. Las concentraciones calculadas se corrigieron mediante los patrones de recuperación como una respuesta de área/área-D (relación entre señal del compuesto y compuesto deuterado) en las muestras frente a las proporciones de cantidad/cantidad-D (relación entre cantidad de compuesto y compuesto deuterado) en las curvas de calibración.

Tabla 1. HAPs estudiados y *m/z* de los iones analizados por LE GC-MS y HRAM-GC-MS.

Compuesto	LE GC-MS	HRAM-GC-MS
Bifenilo	154	154,0774
Naftaleno	128	128,0620
Acenaftileno	152	152,0619
Acenafteno	153	153,0697
Fluoreno	166	165,0697
Dibenzotiofeno	184	184,0339
Fenantreno	178	178,0775
Antraceno	178	178,0775
4H-Ciclopenta[def]fenantreno	189	189,0697
Fluoranteno	202	202,0774
Pireno	202	202,0774
Ciclopenta[cd]pireno	226	226,0775
Benz[a]antraceno	228	228,0932
Criseno	228	228,0932
Trifenileno	228	228,0932
Benzo[b]fluoranteno	252	252,0934
Benzo[j+k]fluoranteno	252	252,0934
Benzo[a]fluoranteno	252	252,0934
Benzo[a]pierno	252	252,0934
Benzo[e]pireno	252	252,0934
Perileno	252	252,0934

Compuesto	LE GC-MS	HRAM-GC-MS
Indeno[1,2,3-cd]pireno	276	276,0935
Dibenzo[a,h]antraceno	278	278,1092
Benzo[ghi]perileno	276	276,0935
Coroneno	300	300,0936
Naftaleno-D8	136	136,1122
Acenaftileno-D8	160	160,1121
Acenafteno-D10	162	162,1263
Fluoreno-D10	174	174,1262
Fenantreno-D10	188	188,1402
Antraceno-D10	188	188,1402
Fluoranteno-D10	212	212,1401
Pireno-D10	212	212,1401
Benz[a]antraceno-D12	240	240,1684
Criseno-D12	240	240,1684
Benzo[b]fluoranteno-D12	264	264,1685
Benzo[k]fluoranteno-D12	264	264,1685
Benzo[a]pireno-D12	264	264,1685
Indeno[1,2,3-cd]pireno-D12	288	288,1688
Dibenzo[a,h]antraceno-D14	292	292,1970
Benzo[ghi]perileno-D12	288	288,1688

Análisis por Q Exactive-Orbitrap HRAM-GC-MS

Se tomó una sección del filtro de cuarzo de PM equivalente a un volumen de muestra de 0,37 m³ por medio de un punzón ($\varnothing = 3,4$ mm) y se introdujo en un vial cónico de 1,5 mL. Se añadieron a los filtros 25 μ L de patrón de recuperación HAP-D en ciclohexano (2 ng/ μ L) y luego se extrajeron en un baño ultrasónico durante 15 minutos. Se inyectaron extractos de muestra (1 μ L) en un GC-MS Thermo Q Exactive Orbitrap equipado con una columna capilar de sílice fundida de 60 m (HP-5MS, 0,25 mm \times 25 μ m de espesor de película). Las condiciones y programa de temperatura fueron los mismos que en el análisis por GC-MS convencional. Se usó un detector selectivo de masas en modo de exploración completa (Full Scan) para el análisis de HAPs individuales. Las masas iónicas exactas de los HAPs se dan en la Tabla 1. Las condiciones de cuantificación fueron también las mismas que en el análisis por GC-MS.

Por otro lado, la mancha de muestra recogida en tiras de filtro con el microAeth AE51 se tomó con un punzón ($\varnothing = 3,4$ mm), se colocó en un vial y se extrajo en 25 μ L de disolución de patrón de recuperación. Su análisis se llevó a cabo del mismo modo que para los filtros de PM_{2,5}.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Incertidumbre analítica de la curva de calibración

La linealidad de la curva de calibración de cinco puntos para el estándar SRM se probó a lo largo de cuatro órdenes de magnitud (0,5 a 500 pg) usando la relación entre el área del pico cromatográfico del fragmento iónico de un compuesto y el área del compuesto deuterado (relaciones de señal) y las proporciones de cantidad correspondientes (relaciones de cantidad). Las incertidumbres analíticas relativas de los compuestos deuterados y compuestos HAPs fueron dadas por el fabricante del SRM2260a, incluidas las incertidumbres (u %) de los compuestos, y la incertidumbre analítica de la micro-balanza (1 %) fue considerada en las etapas de dilución consecutivas. La incertidumbre expandida (IE %) es dos veces la incertidumbre general promedio del patrón de calibración, expresado como $IE \% = 2 \times \sqrt{(u_{deut}^2 + u_{SRM}^2)}$ (Tabla S1). La IE % calculada de los patrones de calibración fue más alta para la concentración más baja, de 0,5 pg/ μ L (entre 5,4 % y 7,5 %), mientras que el valor más bajo de IE % se obtuvo para la concentración

más alta, de 500 pg/ μ L (entre 4,7 % y 7 %). En general, la IE % es baja y está dentro de un rango aceptable. El pequeño aumento del IE % entre las concentraciones indica que la preparación de las mezclas estándar para la curva de calibración no tuvo una contribución sustancial a la incertidumbre general.

Las mezclas estándar SRM2260a para la curva de calibración se inyectaron en HRAM-GC-MS. La incertidumbre relativa de la curva de calibración se calculó a partir de dos análisis separados por un mes, en base a una comparación una a una de las cinco concentraciones inyectadas. El valor esperado es el valor promedio de los dos análisis (x_i), mientras que la incertidumbre (u_i) se calculó por: $u_i = (a1 - a2) / \sqrt{(12)}$, donde $a1$ y $a2$ son las respuestas (área / área-D) en el primer y segundo análisis. La incertidumbre relativa (u %) se calculó mediante: $u_i \% = (x_i / u_i) \times 100$. La incertidumbre expandida (IE %) es dos veces la u_i % promedio de los cinco puntos de calibración. La comparación una a una de las relaciones de señal de los cinco puntos de concentración mostró incertidumbres analíticas expandidas promedio (IE %) inferiores al 14,9 % para los veinticinco HAPs, excepto para el benzo[a]fluoranteno (48,4 %), bifenilo (23 %), coroneno (40,9 %) y dibenzotiofeno (41,6 %) (Tabla S2). Estos resultados muestran que el análisis de los patrones por HRAM-GC-MS es exacto y preciso para la gran mayoría de los HAPs dentro de una incertidumbre aceptable, con excepción de los cuatro HAPs mencionados anteriormente.

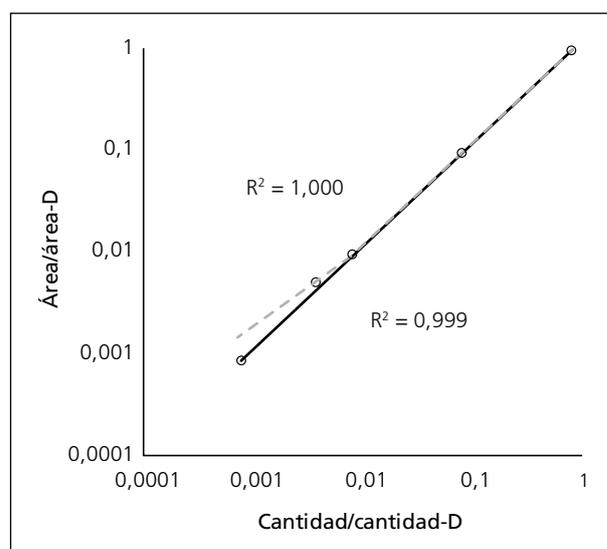


Figura 1. Gráfico de la curva de calibración de benzo[a]pireno por HRAM-GC-MS con regresiones lineal y potencial.

Tabla S1. Incertidumbres relativas de los compuestos deuterados (u_{deut} %) y compuestos HAPs en el SRM2260a (u_{SRM} %), incluidas las incertidumbres de los compuestos y las incertidumbres analíticas de la microbalanza (1 %) en etapas de dilución consecutivas. La incertidumbre expandida (IE %) es dos veces la incertidumbre general promedio del patrón de calibración, expresada como $IE \% = 2 \times \sqrt{(u_{\text{deut}}^2 + u_{\text{SRM}}^2)}$. Los compuestos deuterados que se usaron para las curvas de calibración se sitúan frente al compuesto HAP correspondiente (por ejemplo, se usó naftaleno-D8 para el bifenilo).

Curva de calibración	u_{deut} %	Compuesto	u_{SRM} %					IE %
			0,5 pg/ μ L	2,5 pg/ μ L	5 pg/ μ L	50 pg/ μ L	500 pg/ μ L	
Naftaleno-D8	1,5	Bifenilo	2,8	2,8	2,7	2,6	2,5	6,2
Naftaleno-D8	1,5	Naftaleno	3,0	2,9	2,9	2,8	2,7	6,4
Acenaftileno-D8	1,2	Acenaftileno	2,9	2,9	2,8	2,7	2,6	6,1
Acenafteno-D10	1,1	Acenafteno	2,7	2,6	2,6	2,5	2,4	5,6
Fluoreno-D10	1,2	Fluoreno	2,8	2,7	2,7	2,6	2,4	5,8
Fenantreno-D10	1,2	Dibenzotiofeno	3,4	3,3	3,3	3,2	3,1	6,9
Fenantreno-D10	1,2	Fenantreno	2,5	2,4	2,4	2,3	2,2	5,3
Antraceno-D10	1,2	Antraceno	2,5	2,5	2,4	2,3	2,2	5,3
Fenantreno-D10	1,2	4H-Ciclopenta[def]fenantreno	3,5	3,5	3,4	3,4	3,3	7,2
Fenantreno-D10	1,2	Fluoranteno	2,5	2,4	2,4	2,3	2,1	5,3
Pireno-D10	1,3	Pireno	2,6	2,5	2,4	2,3	2,2	5,5
Benz[a]antraceno-D12	1,6	Ciclopenta[cd]pireno	2,7	2,6	2,6	2,5	2,4	6,0
Benz[a]antraceno-D12	1,6	Benz[a]antraceno	2,7	2,7	2,6	2,5	2,4	6,1
Criseno-D12	1,3	Criseno	2,8	2,7	2,7	2,6	2,5	5,9
Criseno-D12	1,3	Trifenileno	3,2	3,1	3,1	3,0	2,9	6,6
Benzo[b]fluoranteno-D12	1,6	Benzo[b]fluoranteno	2,7	2,7	2,6	2,5	2,4	6,1
Benzo[k]fluoranteno-D12	1,6	Benzo[j+k]fluoranteno	2,7	2,6	2,6	2,5	2,4	6,0
Benzo[k]fluoranteno-D12	1,6	Benzo[a]fluoranteno	2,4	2,3	2,2	2,1	2,0	5,4
Benzo[a]pireno-D12	1,6	Benzo[e]pireno	2,7	2,7	2,6	2,5	2,4	6,1
Benzo[a]pireno-D12	1,6	Benzo[a]pireno	3,0	2,9	2,9	2,8	2,7	6,5
Benzo[a]pireno-D12	1,6	Perileno	2,7	2,6	2,6	2,5	2,4	6,1
Indeno[1,2,3-cd]pireno-D12	1,6	Indeno[1,2,3-cd]pireno	2,7	2,6	2,6	2,5	2,3	6,0
Dibenzo[a,h]antraceno-D14	1,1	Dibenzo[a,h]antraceno	2,5	2,4	2,3	2,2	2,1	5,1
Benzo[ghi]perileno-D12	1,2	Benzo[ghi]perileno	2,5	2,4	2,4	2,3	2,2	5,3
Benzo[ghi]perileno-D12	1,2	Coroneno	2,5	2,5	2,4	2,3	2,2	5,3

Los coeficientes de regresión (R^2) de las curvas de calibración lineal para todos los compuestos probados fueron superiores a 0,999 (la Figura 1 muestra la curva del benzo[a]pireno), aunque no se pudo detectar la concentración más baja de los patrones (0,5 pg/ μ L) para benzo[a]fluoranteno, bifenilo y coroneno. Propiedades físico-químicas como la volatilidad pueden desempeñar un papel importante en que los errores más altos se observen para el HAP más volátil (bifenilo) y para el menos volátil (coroneno). Además, estos HAPs, así como el dibenzotiofeno y el benzo[a]fluoranteno, pueden mostrar errores más altos porque no

tienen compuestos deuterados individuales para corregir las variaciones. Sin embargo, este último factor tiene un papel relativamente pequeño, porque otros compuestos como el benzo[e]pireno tampoco tienen su respectivo compuesto deuterado y no presentan este problema. El error analítico de la curva de calibración del resto de HAPs mostró una IE % inferior al 1,7 %, lo cual es más que aceptable para las normas de calidad analítica. También se probó la transformación de la curva de calibración en una curva de regresión potencial, ya que esta curva a menudo corrige las incertidumbres en el rango de concentración más

Tabla S2. La incertidumbre relativa (u_i %) de la curva de calibración se calculó a partir de dos análisis separados por un mes, en base a una comparación una a una de las cinco concentraciones inyectadas. El valor esperado es el valor promedio de los dos análisis (x_i), mientras que la incertidumbre se calculó por: u_i % = $(a1 - a2)/\sqrt{12}$, donde $a1$ y $a2$ son las respuestas (área/área-D) en el primer y segundo análisis. La incertidumbre relativa se calculó mediante: u_i % = $(x_i/u_i) \times 100$. La incertidumbre expandida (IE %) es dos veces la u_i % promedio de los cinco puntos de calibración.

Compuesto	u_i %					IE %
	0,5 pg/μL	2,5 pg/μL	5 pg/μL	50 pg/μL	500 pg/μL	
Bifenilo	nd	21,5	18,8	5,3	0,4	23,0
Naftaleno	2,2	0,3	0,0	1,3	0,6	1,7
Acenaftileno	3,9	3,6	1,5	0,8	0,2	4,0
Acenafteno	0,5	1,8	0,4	0,2	0,3	1,3
Fluoreno	2,5	1,8	0,0	1,2	0,1	2,2
Dibenzotiofeno	53,5	20,5	20,1	7,0	2,7	41,6
Fenantreno	3,9	0,6	0,4	0,0	0,3	2,1
Antraceno	1,5	6,5	7,3	6,5	1,9	9,5
4H-Ciclopenta[def]fenantreno	0,2	2,2	3,3	4,0	3,0	5,1
Fluoranteno	6,5	1,4	1,7	0,2	0,5	4,2
Pireno	6,3	2,6	0,3	1,2	0,2	4,3
Ciclopenta[cd]pireno	12,7	7,4	5,3	2,8	1,9	12,0
Benz[a]antraceno	2,3	2,4	1,8	0,8	0,3	3,0
Criseno	1,6	1,3	1,4	0,6	0,7	2,3
Trifenileno	0,8	0,3	0,9	1,9	1,6	2,2
Benzo[b]fluoranteno	7,7	4,1	1,4	1,7	1,7	6,7
Benzo[j+k]fluoranteno	5,5	2,4	3,0	1,2	0,3	5,0
Benzo[a]fluoranteno	28,9	40,6	31,7	12,2	7,5	48,4
Benzo[e]pireno	5,2	3,9	5,4	2,9	2,6	8,0
Benzo[a]pireno	3,2	0,0	2,9	2,3	2,9	4,5
Perileno	9,9	3,4	1,2	2,7	0,9	7,3
Indeno[1,2,3-cd]pireno	28,9	3,1	1,4	2,6	1,2	14,9
Dibenzo[a,h]antraceno	12,1	4,4	0,9	1,6	1,2	8,1
Benzo[ghi]perileno	21,6	6,0	1,7	2,4	0,4	12,8
Coroneno	nd	nd	28,9	20,5	11,9	40,9

bajo (Figura 1). El R^2 de las curvas de regresión potencial para los compuestos probados siempre fue superior a 0,996, lo que demuestra que las curvas de calibración no mejoran, pero tampoco empeoran. La IE % de las curvas de calibración de regresión potencial también fue inferior al 1,7 %. Ambos tipos de curvas de regresión demuestran que pueden ser usadas para la calibración y cuantificación de la mayoría de los HAPs con una incertidumbre aceptable (IE % <15 %).

El análisis de las curvas de calibración también mostró que el HRAM-GC-MS es lo suficientemente

sensible como para detectar la gran mayoría de los HAPs a la concentración más baja de 0,5 pg/μL inyectada en el instrumento con alta precisión y exactitud. Traducido a los extractos de muestras completas, que a menudo se diluyen en 25 μL de volumen final, la cantidad de compuestos de HAPs individuales podría ser tan baja como 12,5 pg en la matriz de muestra extraída para ser detectada en HRAM-GC-MS. Esto implica que se pueden utilizar fracciones de un filtro completo en el caso de que las concentraciones de HAPs sean superiores a 12,5 pg en el extracto de la muestra. Esta última situación, es decir, concentraciones que pueden exceder los valores límite de seguridad

dad, a menudo se encuentran cuando se realizan estudios de exposición y evaluación de riesgos para determinar el impacto en la salud de los HAPs en las personas y el medio ambiente. Por ejemplo, el HAP más tóxico (benzo[a]pireno) tiene un valor máximo anual para PM en aire ambiental de 1.000 pg/m³ (Directive 2004/107/CE), mientras que la Organización Mundial de la Salud considera el nivel de 120 pg/m³ como aceptable para la exposición humana (WHO 2017). En una muestra de alto volumen, esta última concentración da como resultado más de 80.000 pg en toda la matriz de muestra de filtro, lo que evidencia que una pequeña fracción de sub-metro cúbico sería suficiente para ser analizada por HRAM-GC-MS por encima del límite de detección. Además, pequeñas alícuotas de muestras de PM también disminuirían posibles interferencias y niveles de los blancos.

Repetitividad de análisis de muestras de sub-metro cúbico por HRAM-GC-MS

Las secciones de las muestras de filtro de cuarzo PM_{2,5} se tomaron con un punzón ($\varnothing = 3,4$ mm; volúmenes de muestra equivalentes de 0,37 m³; Figura 2) y se extrajeron en 25 μ L de la solución de patrón deuterado. Las catorce muestras de PM se recolectaron en un área semi-rural/semi-urbana (Manlleu, Barcelona) que a menudo mostró concentraciones de benzo[a]pireno por encima de 1 ng/m³ en invierno (Gencat). Tres de las muestras se analizaron por duplicado para evaluar la repetitividad del procedimiento analítico. Todos los HAPs analizados con una masa molecular superior a m/z 202 (fluoranteno a coroneno) fueron detectados

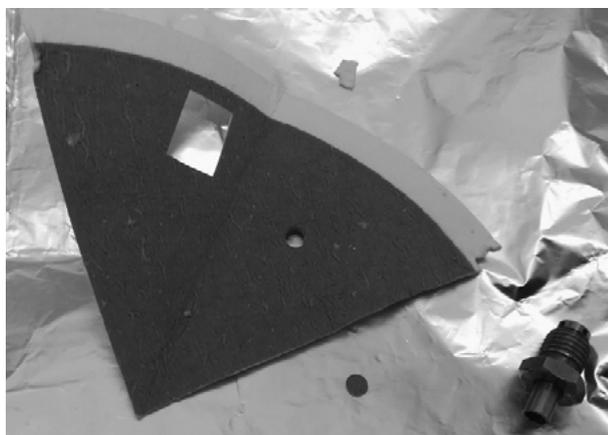


Figura 2. Imagen de 1/4 de filtro de PM_{2,5} y fracción de sub-metro cúbico de muestra tomada con un punzón ($\varnothing = 3,4$ mm) que fueron analizados por HRAM-GC-MS.

en las muestras. El coroneno, el benzo[a]fluoranteno y el dibenzo[ah]antraceno se detectaron sólo en las muestras más contaminadas y no se cuantificaron en dos de los duplicados de muestra. La IE % de la prueba de repetitividad varió entre 22,1 % (coroneno) y 2,9 % (perileno) (Tabla S3), lo que demuestra una alta repetitividad del procedimiento analítico, a pesar del uso de fracciones de muestra muy pequeñas (Figura 3). No hubo diferencias sustanciales en la IE % entre la muestra con una carga de HAPs más baja (Σ HAP = 5.000 pg/muestra; rango IE % 1 – 21 %) y la muestra con la carga más alta (Σ HAP = 35.000 pg/muestra; rango IE % 2-6 %), aunque para algunos compuestos, como el coroneno y el benzo[a]fluoranteno, estas diferencias fueron significativas ($p < 0,001$).

Tabla S3. Incertidumbres relativas (u_i %) del análisis de muestras duplicadas por HRAM-GC-MS, basado en una comparación una a una de las concentraciones de HAPs. El valor esperado es el valor promedio de los dos análisis (x_i), mientras que la incertidumbre se calculó por: $u_i \% = (a_1 - a_2)/\sqrt{12}$, donde a_1 y a_2 son las cantidades cuantificadas (pg) en los extractos en el primer y segundo análisis. La incertidumbre relativa (u %) se calculó mediante: $u_i \% = (x_i/u_i) \times 100$. La incertidumbre expandida (IE %) es dos veces la u_i % promedio de las muestras duplicadas.

Compuesto	IE %
Dibenzotiofeno	4,9
Fenantreno	5,0
Antraceno	9,2
4H-Ciclopenta[def]fenantreno	9,3
Fluoranteno	6,3
Pireno	3,8
Ciclopenta[cd]pireno	5,8
Benz[a]antraceno	5,3
Criseno	3,9
Trifenileno	6,7
Benzo[b]fluoranteno	4,7
Benzo[j+k]fluoranteno	6,9
Benzo[a]fluoranteno	10,9
Benzo[e]pireno	4,4
Benzo[a]pireno	4,9
Perileno	2,9
Indeno[1,2,3-cd]pireno	5,9
Dibenzo[a,h]antraceno	6,6
Benzo[ghi]perileno	3,4
Coroneno	22,1

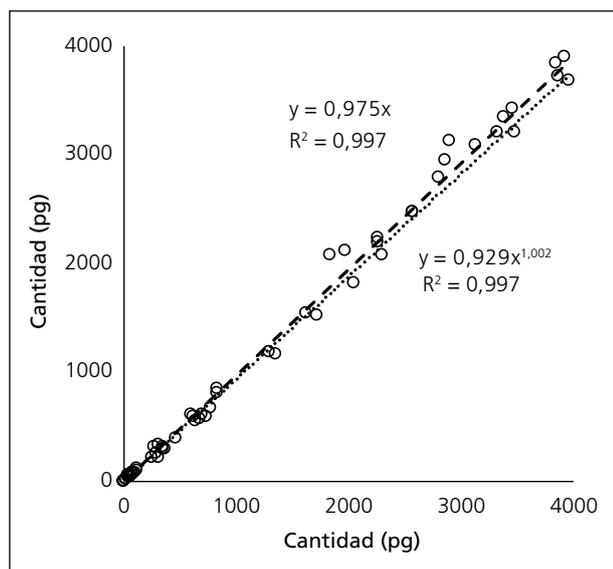


Figura 3. Cantidad (pg en extracto) de todos los compuestos HAPs analizados en tres muestras duplicadas de $PM_{2,5}$ para la prueba de repetitividad.

Reproducibilidad del análisis de muestra (HRAM-GC-MS vs. LE GC-MS)

Las concentraciones del análisis de las muestras de $PM_{2,5}$ (HRAM-GC-MS) se compararon con los resultados obtenidos mediante extracción líquida de $\frac{1}{4}$ de la muestra (volumen de muestra equivalente = 180 m^3) y posterior análisis por GC-MS con un cuadrupolo en modo SIM (LE GC-MS). Las concentraciones de los tres isómeros benzo[b+j+k]fluoranteno, así como el criseno y el trifenileno, se sumaron ya que no se resolvieron bien cromatográficamente en el análisis LE GC-MS. La Figura 4 muestra las concentraciones de los HAPs obtenidas por los dos métodos analíticos y los coeficientes de regresión de los compuestos cuantificados. Ambos métodos analíticos mostraron IE % de $25 \pm 14\%$ para fluoranteno, $37 \pm 16\%$ para pireno y entre $5 \pm 5\%$ y $15 \pm 5\%$ para los otros HAPs cuantificados. Se podrían esperar los errores más altos para el fluoranteno y el pireno, ya que estos compuestos son más volátiles que los otros HAPs y sensibles a las pérdidas durante los dos procedimientos analíticos, así como durante el almacenamiento de las muestras. Los HAPs que están más o completamente unidos a partículas (benz[a]antraceno a benzo[ghi]perileno) muestran incertidumbres aceptables y una buena reproducibilidad entre los dos métodos. Por ejemplo, el benzo[a]pireno, con concentraciones de muestra entre $0,4$ y 10 ng/m^3 , mostró una IE % entre los métodos de $10 \pm 8\%$, lo que indica que el análisis HRAM-

GC-MS de las pequeñas secciones de muestra puede reproducir el resultado. Las concentraciones de benzo[a]pireno en las muestras de Manlleu (Cataluña) están en el rango de las concentraciones analizadas en otras muestras del área de tráfico urbano de Barcelona en el mismo período por las autoridades regionales (Figura S1).

Detección de HAPs en tiras de filtro de micro-aethalómetro AE51

La alta sensibilidad y precisión del método HRAM-GC-MS para el análisis de HAPs abre la posibilidad de determinar estos compuestos en pequeñas fracciones de muestra. El microAeth AE51 (AETHLABS) es un monitor de aerosol de carbono negro en tiempo real portable, diseñado para la monitorización de la exposición personal. El instrumento mide la absorción de la luz transmitida debido a la recolección continua a 100 mL/min de aerosoles ($PM_{2,5}$) que se depositan en una pequeña tira de filtro. Las mediciones a 880 nm se interpretan como concentraciones de carbono negro (hollín) equivalente (eBC) que se dan cada cinco minutos. El instrumento se puede usar en estaciones fijas para observar tendencias temporales en lugares, pero también en mediciones móviles (por ejemplo, caminar o ir en bicicleta) para observar variaciones espaciales en un área más amplia (van Drooge 2013). La PM se recoge en un punto de 3 mm en la tira de filtro que está hecha de fibra de vidrio de borosilicato recubierto de teflón T60 y que se reemplaza fácilmente cada 24 horas. Las muestras recogidas en estas tiras de filtro (Figura 5) se analizaron por HRAM-GC-MS para los HAPs unidos a partículas (benz[a]antraceno a benzo[ghi]perileno). Todos los compuestos, excepto el dibenzo[a,h]antraceno, estuvieron por encima del límite de cuantificación de $12,5\text{ pg}$. La concentración de benzo[a]pireno varió en las muestras rurales entre $1,0$ y $3,6\text{ ng/m}^3$ (media = $2,1\text{ ng/m}^3$), mientras que las muestras urbanas variaron de $0,2$ a $1,1\text{ ng/m}^3$ (media = $0,7\text{ ng/m}^3$). Dichos niveles indican que el impacto de los HAPs es generalmente más alto en áreas rurales en invierno debido a la quema de biomasa de la calefacción doméstica, lo cual está de acuerdo con estudios previos en estos sitios (van Drooge, Grimalt 2015). La composición en las muestras rurales está dominada por benzofluorantenos, criseno + trifenileno y benzo[a]pireno, mientras que las muestras urbanas están dominadas por benzofluorantenos y benzo[ghi]perileno (Figura 6). Este último compuesto indica la importancia de las emisiones de escape del motor diésel en el área urbana, en comparación con el sitio rural de

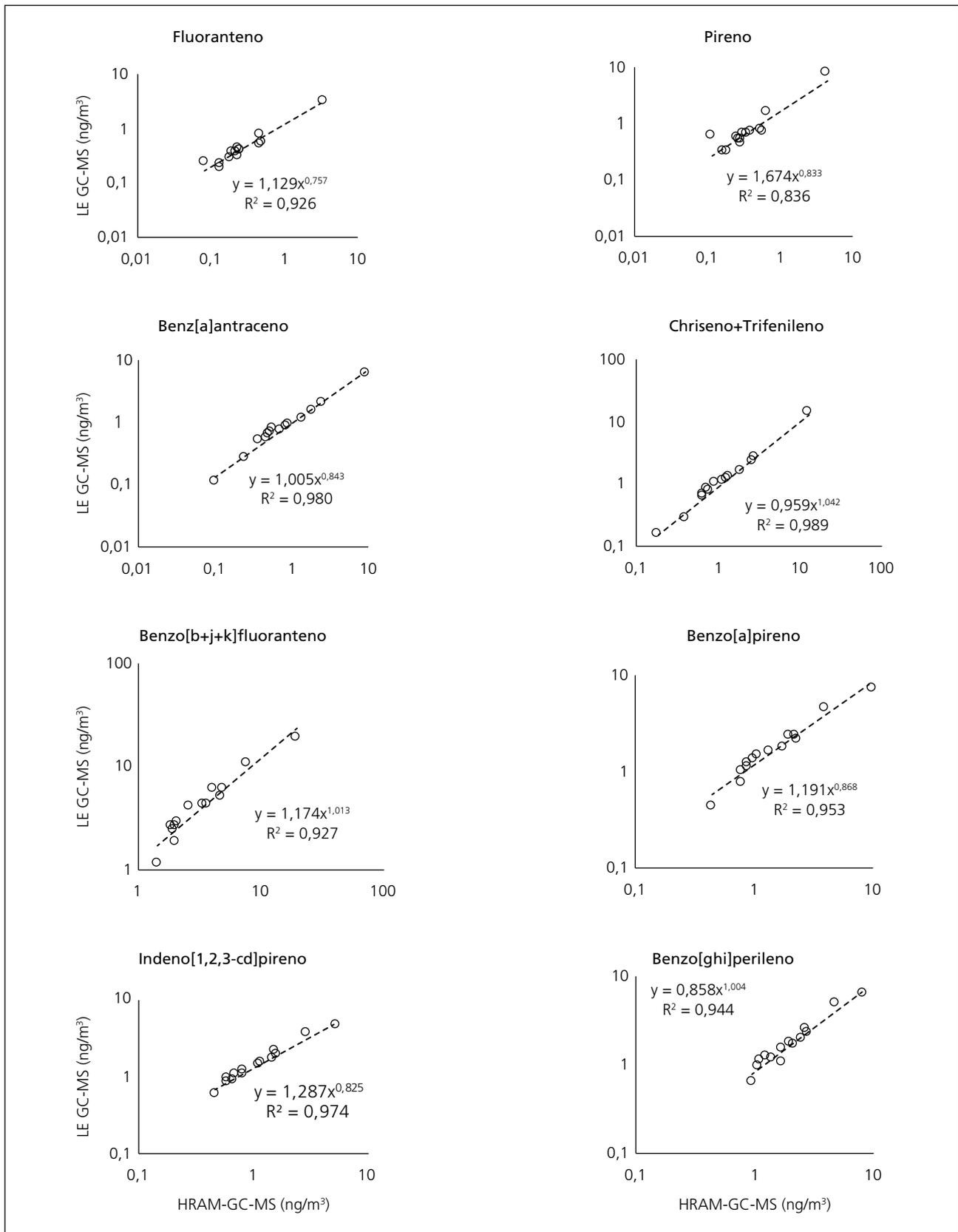


Figura 4. Concentraciones de HAPs (ng/m³ en escala logarítmica) determinadas por LE GC-MS vs HRAM-GC-MS.

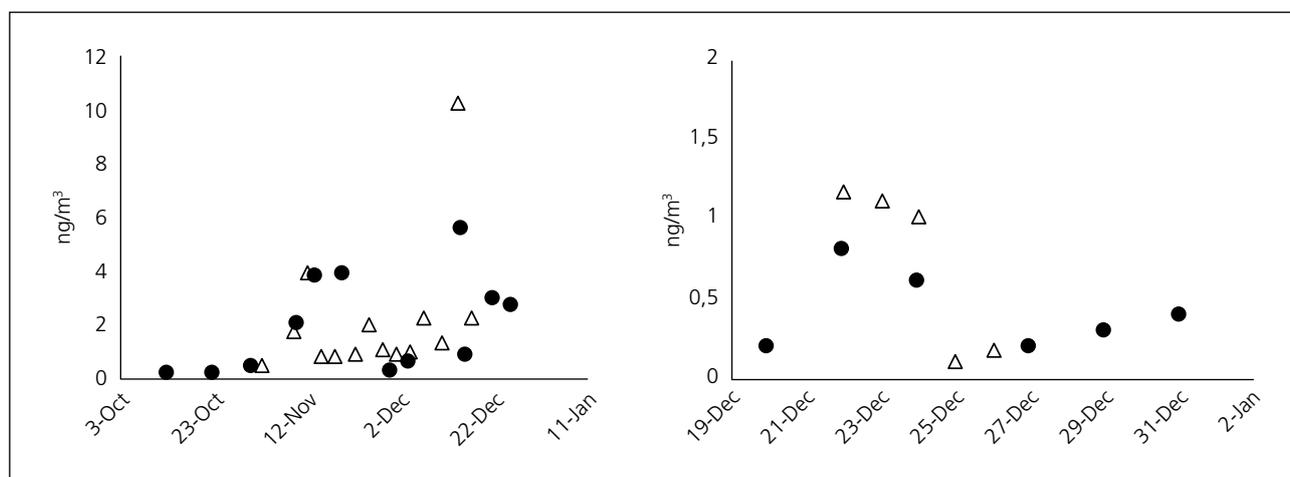


Figura S1. Concentraciones de benzo[a]pireno en muestras de $PM_{2.5}$ en Manlleu (izquierda; sitio semi-rural en España) y Barcelona (derecha; sitios de tráfico urbano en España). Los triángulos indican los análisis de nuestro estudio, mientras que los círculos representan datos de la Generalitat de Catalunya (Manlleu) y la Agencia de Salut Pública de Barcelona (Barcelona).



Figura 5. Tira de filtro de carbón negro equivalente (eBC) del microAETH AE51 y fracción de muestra en vial analítico.

montaña. Esta composición de HAPs en PM de áreas urbanas y rurales (es decir, calidad del aire influida por tráfico y por quema de biomasa, respectivamente) se ha observado también en estudios llevados a cabo en otros lugares (van Drooge, 2013).

La detección y cuantificación de los HAPs en tiras de filtro AE51 permite la comparación con las concentraciones de eBC medidas durante 24 horas. Existen buenas correlaciones entre las concentraciones de eBC y HAPs, aunque los sitios rurales y urbanos muestran pendientes independientes (Figura 7). Estas diferencias probablemente se deban a la naturaleza del

carbón negro equivalente. La combustión de biomasa, especialmente a baja temperatura, genera más HAPs pero menos hollín y más carbón vegetal, mientras que los motores de los vehículos generan más hollín y menos HAPs en la combustión a alta temperatura. Las concentraciones de HAPs detectadas en el área urbana de Barcelona están en el rango de las reportadas por las autoridades regionales sobre la calidad del aire durante los días de muestreo (Figura S1, Gencat) u otras áreas urbanas en España (van Drooge et al. 2018). El análisis de HAPs en las tiras de filtro AE51, por lo tanto, también se puede utilizar para la determinación de las fuentes. Si hay conocimiento so-

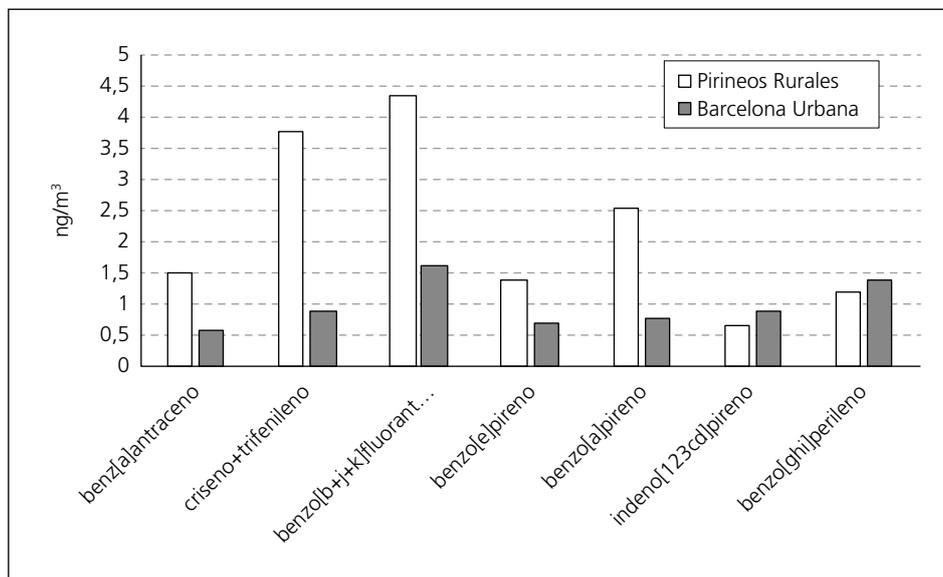


Figura 6. Concentración media de HAPs (ng/m^3) analizada en tiras de filtro microAeth AE51 recolectadas en un pueblo en los Pirineos ($n = 11$) y en una calle con tráfico urbano en Barcelona ($n = 19$) en invierno.

bre las posibles fuentes de combustión en un área, entonces el análisis eBC por medición AE51 puede estimar los niveles de benzo[a]pireno y otros HAPs en PM. Esto incluso se puede dar a una resolución temporal de cinco minutos, correspondiente a la resolución temporal de las mediciones eBC. Por otro lado, basándose en las correlaciones obtenidas por las me-

diciones en los sitios rurales y urbanos, se puede aplicar una regla general, que los niveles promedio de eBC de 24 horas en el sitio rural (expuestos a la quema de biomasa) deberían ser superiores a $0,6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ para poder detectar benzo[a]pireno ($> 12,5 \text{ pg}$), mientras que este nivel debe ser superior a $1,6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en áreas urbanas (humo de los vehículos con motor de combustión). En muchas ciudades europeas, incluidas Barcelona y Madrid, las concentraciones medias de BC están por encima de este nivel (Reche et al. 2011), lo que demuestra que los análisis consecutivos por microAeth AE51 y de HAPs por HRAM-GC-MS pueden ser una herramienta muy útil para determinar niveles de HAPs en muestras de PM de forma rápida, exacta y precisa.

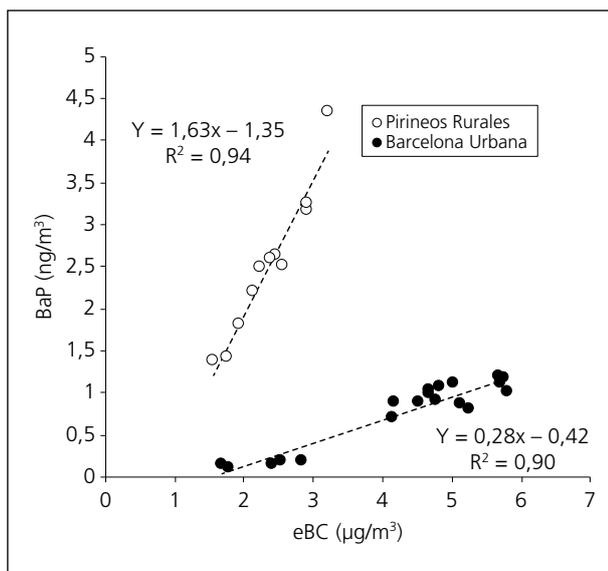


Figura 7. Concentraciones de benzo[a]pireno (BaP; ng/m^3) analizadas en tiras de filtro versus concentración de carbono negro equivalente (eBP; $\mu\text{g}/\text{m}^3$) medida por microAeth AE51 en un pueblo de los Pirineos y un sitio urbano en Barcelona.

Conclusiones

Los detectores Orbitrap GC-MS de alta resolución y masa precisa (HRAM) son herramientas potentes para el análisis de compuestos químicos conocidos y desconocidos. En este trabajo se ha probado con éxito este equipo para el análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en material de referencia estándar (SRM2260a) y partículas de aire ambiente ($\text{PM}_{2,5}$) en modo de exploración completa (Full Scan). Los resultados son comparables a los obtenidos por análisis GC-MS convencional. Las incertidumbres analíticas para los HAPs unidos a partículas están en el rango de calidad analítica aceptable, mostrando

alta precisión y exactitud. El límite de detección del método HRAM-GC-MS para el análisis de HAPs fue de 0,5 pg (12,5 pg en extracto), que también es el límite de cuantificación ya que los HAPs no se detectaron en blancos. Esta alta sensibilidad permite el análisis de pequeñas fracciones de muestra y/o muestras con tiempos de muestreo cortos, ya que las concentraciones en aire ambiente exterior para HAPs individuales varían entre unos pocos pg/m³ y varios ng/m³. El análisis de secciones de muestras ($\varnothing = 3,4$ mm) de filtro de PM, y la extracción consecutiva en solución de patrón de recuperación y el análisis por HRAM-GC-MS demuestra ser un procedimiento eficiente, exacto y preciso. El método, en comparación con el método convencional LE GC-MS, permite la adquisición más rápida de datos sobre las concentraciones de HAPs en el aire ambiente, ahorrando tiempo y consumibles en el análisis. Además, sólo es necesaria una fracción muy pequeña de la muestra completa, lo que permite que la muestra pueda ser utilizada en otros análisis, como por ejemplo en estudios de toxicidad. Esta metodología permitió también la detección de HAPs en tiras de filtro de micro-aethalómetros para análisis en línea de carbono negro equivalente. Se concluye, por tanto, que la HRAM-GC-MS se puede utilizar para el análisis de rutina de HAPs en muestras de partículas atmosféricas, con alta precisión y exactitud.

Agradecimientos

Se agradece la asistencia técnica de R. Chaler. El apoyo financiero para este estudio fue proporcionado por los proyectos de investigación del Plan Nacional de I+D+i del Ministerio de Ciencia e Innovación CUANTOX (CTM2015-71832-P) e INTEMPOL (PGC2018-102288-B-I00).

Referencias

AETHLABS. <https://aethlabs.com/microaeth>
 CEN/TC 264, Air quality —Determination of the PM 10 fraction of suspended particulate matter— Reference method and field test procedure to demonstrate reference equivalence of measurement methods. EN 12341. 1998.
 CEN/TC 264, Air quality —Standard method for the measurement of the concentration of benzo[a]pyrene in ambient air. EN 15549. 2008.

Directive 1999/30/EC of the European Parliament and of the Council relating to limit values for sulphur dioxide, nitrogen dioxide and oxides of nitrogen, particulate matter and lead in ambient air.
 Directive 2004/107/EC of the European Parliament and of the Council relating to arsenic, cadmium, mercury, nickel and polycyclic aromatic hydrocarbons in ambient air.
 Eliuk S., Makarov A. 2015. Evolution of orbitrap mass spectrometry instrumentation. *Annu. Rev. Anal. Chem.*, 8, 61-80.
 Gencat. http://mediambient.gencat.cat/ca/05_ambits_dactuacio/atmosfera/qualitat_de_laيرة/
 ISO 12884 2000. Ambient air—Determination of total (gas and particle-phase) polycyclic aromatic hydrocarbons— Collection on sorbent-backed filters with gas chromatographic/mass spectrometric analyses. Switzerland.
 ISO 16362 2005. Ambient air—Determination of particle-phase polycyclic aromatic hydrocarbons by high performance liquid chromatograph. Switzerland.
 ISO/IEC 17025 2005. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. International Organization for Standardization. Switzerland.
 ISO/IEC 98-3 2008. Guide to the expression of uncertainty of measurements. International Organization for Standardization. Switzerland.
 Howsam M., Jones K. C. (eds.), *The Handbook of Environmental Chemistry*, vol. 3, Part I—PAHs and Related Compounds, Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, 1998, p. 137 (Chapter 4).
 NIST. <https://www-s.nist.gov/srmors/certificates/2260A.pdf>
 Reche C., Querol X., Alastuey A., Viana M., Pey J., Moreno T., Rodríguez S., González Y., Fernández-Camacho R., de la Rosa J., Dall'Osto M., Prévôt A. S. H., Hueglin C., Harrison R. M., Quincey P. 2011. New considerations for PM, Black Carbon and particle number concentration for air quality monitoring across different European cities. *Atmos. Chem. Phys.*, 11, 6207-6227.
 Thermofisher. <https://www.thermofisher.com/>
 van Drooge B.L. Human exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in urban and rural ambient air, in: Occurrence, fate and impact of atmospheric pollutants on environmental and human health, ACS Symposium Series Vol. 1149, American Chemical Society, 2013, pp. 59-82 (Chapter 4).
 van Drooge B. L., Grimalt J. O. 2015. Particle sized-resolved source apportionment of primary and secondary organic tracer compounds at urban and rural locations in Spain. *Atmos. Chem. Phys.*, 15, 7735-7752.
 van Drooge, B.L., Fontal, M., Fernández, P., Fernández, M.A., Muñoz-Arnanz, J., Jiménez, B., Grimalt, J. O. 2018. Organic molecular tracers in atmospheric PM₁ at urban intensive traffic and background sites in two high-insolation European cities. *Atmos. Environ.*, 188, 71-81.
 WHO 2017. http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0019/331660/Evolution-air-quality.pdf

NOTICIAS DE LA SECyTA

NUEVOS SOCIOS

1952

Gómez Ruiz, Laura
Av. Pablo Neruda, 61 2º A
28018 Madrid

1954

Labad Roig, Francesc
Buenos Aires, 27 2º 1ª
08902 L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona)

1955

Rambla Alegre, María
Arxiu de Simancas, 104, 2º pta. 6
43540 Sant Carles de la Ràpita (Tarragona)

NOTA EDITORIAL

Queridos socios, es un placer para nosotros saludaros de nuevo después de varios meses en los que todos nos hemos visto afectados por la pandemia de la COVID-19. Como sabéis, el número del boletín correspondiente a junio de este año fue imposible sacarlo adelante debido a las dificultades conocidas por todos. Por ello, el número de diciembre será el único que se publique este año.

Meses después de que se iniciara el confinamiento, la posterior desescalada y un notable incremento de contagios desde septiembre, constatamos que todos los sectores de la sociedad se han visto drásticamente alterados en su normal funcionamiento. Como ejemplo de ello, los organizadores de los congresos científicos nacionales e internacionales programados para este año tuvieron que cambiar las fechas, en general, posponiéndolos para 2021, como ha sido el caso del congreso que la SECyTA iba a celebrar en Almería. En otras ocasiones se solventaron mediante su

adaptación a una versión *on-line* o, en el peor de los casos, se anularon.

Somos conscientes de las dificultades para mantener la actividad de todas las empresas, organismos de investigación, así como de los miembros de nuestra Sociedad. Por ello, en esta ocasión, nos gustaría agradecer de una manera especial vuestro esfuerzo para hacer realidad el presente número y os pedimos vuestra colaboración para sacar adelante los próximos.

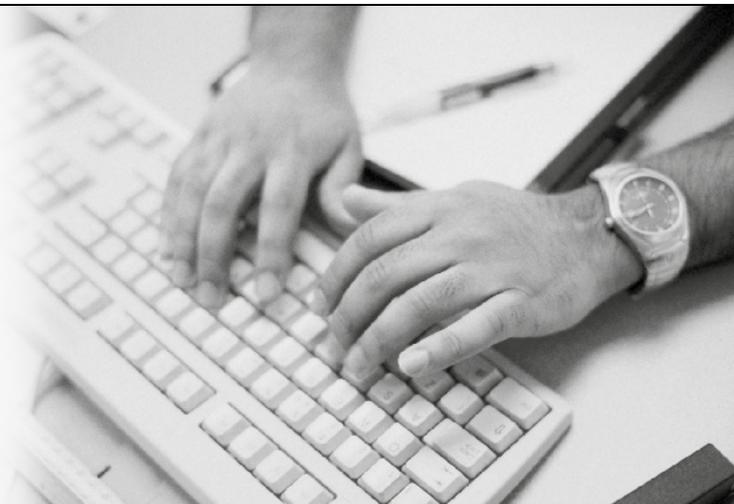
Esperamos y deseamos que todos estéis bien, tanto en el ámbito personal como en el profesional y que, cuanto antes, dejemos definitivamente atrás los obstáculos y dificultades que hemos tenido que superar.

Desde el Comité Editorial del Boletín, os agradecemos vuestro trabajo y participación para seguir adelante.

El Comité Editorial

NOTA DE REDACCIÓN

Desde el Comité Editorial os animamos a que nos enviéis toda aquella información que consideréis de interés (premios, jubilaciones, etc.) para su difusión entre los lectores del boletín.



¡SE HA JUBILADO JOSÉ CARLOS DÍEZ-MASA!



José Carlos Díez-Masa se licenció en Ciencias en la Universidad de Valladolid y desde allí llegó al Instituto de Química Orgánica General (IQOG) del CSIC para realizar la Tesis Doctoral bajo la dirección del Dr. Manuel Dabrio Bañuls. Con el trabajo de su doctorado estudiando la modificación de la superficie de vidrio para lograr mayor eficacia en cromatografía de gases capilar, empezó su contacto con las técnicas de separación. Ya antes de defender la Tesis se incorporó al laboratorio del Prof. George Guiochon en la École Polytechnique de París donde realizó una estancia posdoctoral en la que trabajó estrechamente con el Dr. Henri Colin durante más de 3 años especializándose en HPLC para la determinación de parámetros químico-físicos.

A la vuelta de José Carlos al IQOG, al laboratorio del Dr. Dabrio, implementaron la técnica de HPLC en España.

Su inquietud por conocer nuevas técnicas le llevó años más tarde a realizar una estancia de 6 meses en el laboratorio del Dr. Barry Karger en Northeastern University, en Boston para adentrarse en el conocimiento de la entonces incipiente técnica de electroforesis capilar (CE), que a su regreso introdujo en España.

La gran habilidad de José Carlos y sus conocimientos de mecánica y óptica han hecho que haya contribuido decisivamente al diseño, construcción y montaje de instrumentación, como un equipo para construir columnas de HPLC a alta presión, la transformación de un detector de HPLC para CE, equipos modulares de CE termostatizados, detectores de fluorescencia inducida por láser y por LEDs, un equipo de CE bidimensional, aparatos de CE para microchips, etc.

Por otra parte, su interés en mejorar la calidad del trabajo en el laboratorio le llevó a implementar un

entorno regulado por normas de calidad aplicado a diversas actividades.

A lo largo de su trayectoria científica siempre ha estado dispuesto a aprender cosas nuevas y ha seguido muy de cerca la evolución de los intereses de la ciencia y la sociedad, buscando en ellos temas de trabajo y colaboraciones con muy diversos grupos españoles e internacionales.

Además de su trabajo en el laboratorio, José Carlos fue vicedirector del IQOG y, durante 10 años, representante español en el grupo 6 (Productos biofarmacéuticos) de la Farmacopea Europea. En la última etapa, desde 2014, ha sido miembro del Consejo de Redacción de la revista *Arbor*.

Con nuestra sociedad, la SECyTA, y previamente con el GCTA, estuvo siempre muy involucrado, habiendo sido vicepresidente desde 1984 a 2004 y presidente de la Sociedad de 2004 a 2007. Como anécdota, en las elecciones de miembros de la Junta, en las diferentes ediciones de los últimos tiempos siempre le ha correspondido estar en la mesa electoral como el miembro presente con mayor antigüedad en la sociedad (con la experiencia que esto conlleva).

José Carlos ha puesto siempre gran empeño y dedicación en la formación de muchos estudiantes, que ahora estamos trabajando en sitios muy diversos y que no hemos podido, todavía, dedicarle la celebración que nos habría gustado.

José Carlos, esta extraordinaria situación en que nos tiene el SARS-COV 2 nos ha hecho retrasar la despedida que, junto con un gran número de amigos y compañeros, te habíamos preparado para el día anterior a que empezara el confinamiento. Bueno, buscándole la parte positiva, como no te hemos despedido, así sigues más ligado a todos nosotros.

¡Disfruta esta bien merecida nueva etapa de tu vida!

ÁNGEL DE LA PUERTA y MERCEDES DE FRUTOS
Instituto de Química Orgánica General (CSIC)



INFORMACIONES

CALENDARIO DE ACTIVIDADES

1. **PITTCON 2021**
6-10 de marzo de 2021. Nueva Orleans, Luisiana (EE.UU.)
<https://pittcon.org/pittcon-2021/>
Reunión virtual
2. **SETAC Europe 2021. 31st Annual Meeting**
3-6 de mayo de 2021. Sevilla (España)
Chairs: **José Julio Ortega-Calvo** y **Julián Blasco**
<https://seville.setac.org/>
Reunión virtual
3. **SBCN 2021: 15th International Symposium on Biochromatography and Nanoseparations**
Mayo de 2021. Nancy (Francia)
Chair: **Romain Kapel**
<https://www.sbcn2020.com/>
4. **45th International Symposium on Capillary Chromatography & 18th GCxGC Symposium**
9-14 de mayo de 2021. Forth Worth, Texas (EE.UU.)
Chairs: **Kevin Schug** y **Jonathan Edelman**
<https://www.isccgcxgc.com/>
5. **IMIL 2020: 6th Iberoamerican Meeting on Ionic Liquids**
23-27 de mayo de 2021. Santiago de Chile (Chile)
Chair: **Esteban Quijada-Maldonado**
imil2020@usach.cl
www.imil2020chile.cl
6. **PREP 2020/21: 33rd International Symposium on Preparative and Process Chromatography**
6-10 de junio de 2021. Baltimore (EE.UU.)
Chair: **Giorgio Carta**
<https://www.prepsymposium.org/>
7. **MSB 2021: 37th International Symposium on Microscale Separations and Bioanalysis**
11-14 de julio de 2021. Boston, MA (EE.UU.)
Chairs: **Alexander Ivanov**, **Kimberly Hamad-Schifferli** y **Jarrold Marto**
<http://msb-conferences.org>
<https://form.jotform.com/202246495304149>
8. **ISIMS 2021. 29th International Conference on Ion Mobility Spectrometry**
25-30 julio 2021. Memphis, Tennessee (EE.UU.)
Chairs: **Herbert Hill**, **Steve Harden** y **Maggie Jam**
<https://www.isims.info/>
9. **EuroAnalysis 2021**
22-27 de agosto de 2021. Nijmegen (Países Bajos)
Chair: **Prof. Lutgarde Buydens**
euroanalysis2021.secretariat@ru.nl
<http://www.euroanalysis2021.nl/>
10. **Dioxin 2021: 41st International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants**
22-27 de agosto. Xiam (China)
Chairs: **Guibin Jiang** y **Minghui Zheng**
<http://www.dioxin2021.org/>
11. **PBA 2020: 31st International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Analysis**
29 de agosto-1 de septiembre de 2021. Kioto (Japón)
Chairs: **Jun Haginaka** y **Kenji Hamase**
<http://soyaku.phar.kyushu-u.ac.jp/PBA2020/index.html>
12. **ISEAC 41: International Conference Series on Environmental and Food Monitoring**
13-17 de septiembre de 2021. Regensburg (Alemania).
Chairs: Prof. **Antje Baeumner** y **Markus Fischer**
iseac41@bluewin.ch
<http://iseac-conferences.org/index.php>
13. **MicroTAS: 25th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences**
10-14 de octubre de 2021. Palm Springs, CA (EE.UU.)
Chairs: **Amy E. Herr** y **Joel Voldman**
info@microtas2021.org
<https://microtas2021.org/>
14. **IMSC: 23rd International Mass Spectrometry Conference 2021**
12-16 de diciembre de 2021. Rio de Janeiro (Brasil)
Chair: **Marcos Eberlin**
<https://www.imsc2020.com>
15. **XX Reunión Científica de la SECyTA**
Noviembre DE 2021. Almería (España).
Pendiente de concretar los días y el formato.

Debido a la pandemia de la COVID-19, todas las reuniones son susceptibles de cambiar las fechas de celebración o el formato de las mismas.

NUEVAS TESIS DOCTORALES



“Nuevas metodologías analíticas para la determinación de contaminantes organohalogenados legislados y emergentes en alimentos”

Autor: **Ángel García-Bermejo Pérez**

Directora: Dra. Belén Gómara Moreno

Instituto de Química Orgánica General (CSIC). Dpto. Análisis Instrumental y Química Ambiental

Universidad de Alcalá, 29 de julio de 2020

Resumen:

El objetivo principal de esta tesis doctoral fue el desarrollo, evaluación y aplicación de nuevas metodologías analíticas para la determinación de contaminantes organohalogenados legislados y emergentes en alimentos.

Uno de los pilares de esta tesis se centraba en la optimización de una nueva metodología de determinación instrumental basada en la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas en tándem con analizador de triple cuadrupolo (GC-QqQ(MS/MS)), para el análisis de policlorodibenzo-*p*-dioxinas (PCDDs), policlorodibenzofuranos (PCDFs), bifenilos policlorados (PCBs), polibromodifenil éteres (PBDEs) y nuevos retardantes de llama bromados emergentes (NBFRs) en diferentes matrices alimentarias. Específicamente, se trabajó con diversos alimentos enriquecidos con ácidos grasos omega-3, como leche de vaca, huevos de gallina, galletas y productos de soja, y con suplementos alimenticios basados en aceites de pescado. Adicionalmente, se incluyeron otros alimentos, como miel, debido a que la miel se ha considerado en algunos estudios como un indicador de la contaminación ambiental y es consumida ampliamente en todo el mundo, y a que, al tratarse de una matriz no grasa, supone un reto analítico importante a la hora de determinar las bajas concentraciones esperables de estos compuestos.

Por otra parte, en la presente tesis también se desarrolló una nueva metodología de tratamiento de muestra para la extracción de FRs en alimentos grasos y la posterior purificación de los extractos. El objetivo principal de esta parte de la tesis era conseguir la extracción eficaz de todos los analitos objeto de estudio y la completa eliminación de lípidos y pigmentos, para disminuir así los efectos de la matriz y conseguir una mejora de la sensibilidad en la determinación instrumental.

Todas las metodologías desarrolladas en la tesis se caracterizaron mediante la determinación de parámetros analíticos relativos a precisión, exactitud, intervalos lineales y límites de detección y cuantificación y se validaron mediante el análisis de materiales de referencia certificados, muestras pertenecientes a ejercicios interlaboratorio internacionales y/o muestras suplementadas.

En los trabajos presentados en esta tesis se ha incidido tanto en los aspectos relacionados directamente con las metodologías analíticas necesarias para la determinación de estos contaminantes, como en la evaluación de su presencia en alimentos destinados a consumo humano.



“Mecanismos de transglicosilación de disacaridasas del borde en cepillo (BBMV) del intestino delgado de cerdo. Purificación de lactulosa y galactosil lactulosas”

Autora: **Lesbia Cristina Julio González**

Directores: Agustín Olano y Nieves Corzo. Grupo de Química y Funcionalidad de Carbohidratos y Derivados. Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación CIAL (CSIC-UAM)

CIAL, 13 de Julio de 2020

Resumen:

El diseño de nuevos carbohidratos prebióticos, con propiedades biológicas mejoradas o complementarias a las de los ya existentes, está relacionado con el conocimiento de los mecanismos de acción de las enzimas digestivas. Por ello, en esta Tesis Doctoral se ha estudiado la actividad transglicosidasa de las glicosilhidrolasas presentes en el extracto de las vesículas de la membrana del borde en cepillo (BBMV) del intestino delgado de cerdo utilizando concentraciones suprafisiológicas de los principales carbohidratos presentes en la dieta.

Los resultados obtenidos han puesto de manifiesto la capacidad de estas enzimas de hidrolizar a más de un tipo de enlace, encontrándose cierta superposición en sus diversas actividades. También se han establecido las estructuras de los carbohidratos sintetizados y susceptibles de ser hidrolizados por las disacaridasas del BBMV. Se ha propuesto la utilización de estas enzimas como una estrategia válida para entender los mecanismos de la hidrólisis enzimática de los oligosacáridos de la dieta por parte de las disacaridasas del intestino delgado, permitiendo de esta forma el diseño de nuevos carbohidratos prebióticos.

Por otra parte, a pesar del interés indiscutible por el desarrollo de procesos para la comercialización de prebióticos libres de carbohidratos de alto índice glucémico, los prebióticos comerciales siguen siendo mezclas con contenidos significativos de mono- y disacáridos. Por tanto, otro objetivo de esta Tesis Doctoral ha sido desarrollar métodos sencillos de purificación de carbohidratos prebióticos, galactooligosacáridos (GOS), derivados de lactulosa (OsLu), lactulosa y galactosil lactulosas reduciendo el contenido de otros carbohidratos no prebióticos. De los métodos de purificación estudiados, la utilización de β -galactosidasas de *Bifidobacterium bifidum* y posterior tratamiento con carbón activo, permitió obtener el producto comercial de lactulosa con una pureza mayor del 94 %.

NUEVAS TESIS DOCTORALES



“Application of advanced mass spectrometric techniques for the identification, metabolic characterisation and toxicological analysis of new psychoactive substances”

Autor: **David Fabregat Safont**

Directores: María Ibáñez Martínez y Juan Vicente Sancho Llopis

Universitat Jaume I, Castelló de la Plana, España.

Universitat Jaume I, 27 de noviembre de 2020

Resumen:

En esta Tesis Doctoral se ha realizado una investigación en profundidad sobre las nuevas sustancias psicoactivas (NPS) desde el punto de vista de la química analítica, disciplina presente en los análisis toxicológicos y forenses. La utilidad de la química analítica especializada, basada en la espectrometría de masas para la investigación de las NPS, ha quedado demostrada a través de los diferentes estudios que se describen a continuación.

El primer bloque de la Tesis está compuesto por seis artículos de investigación divididos en dos capítulos. En el primer capítulo, se presenta la caracterización analítica completa de cuatro nuevas NPS no reportada anteriormente. El segundo capítulo de este bloque incluye dos artículos de investigación, en los que se exploran todas las capacidades del detector de masas de triple cuadrupolo para realizar la identificación de compuestos, utilizando los modos de adquisición *precursor ion scan* y *neutral loss scan*, así como la adquisición de tipo *data-dependent* para identificar los compuestos en base a su fragmentación. En este estudio también se utilizó una sonda para el análisis directo de sólidos modificada para poder determinar trazas de NPS en superficies, por ejemplo, los dedos de un potencial consumidor.

El segundo bloque de la Tesis, formado por dos capítulos con dos artículos de investigación cada uno, explora la aplicabilidad de diferentes modelos *in vitro* e *in vivo* para evaluar la farmacología de las NPS. El primer capítulo de este bloque se centra en los modelos *in vitro*, e incluye los estudios de metabolismo y potencia de los cannabinoides 5F-APP-PICA y AMB-FUBINACA, mientras que el segundo estudio de este capítulo muestra la elucidación de los metabolitos de cuatro estimulantes sintéticos, incluida la catinona sintética 5-PPDi. El quinto capítulo de la tesis, y la segunda parte de este bloque, evalúa la farmacología de las NPS utilizando modelos *in vivo*, estudiando el metabolismo y farmacocinética de la triptamina 5-MeO-MiPT, y un segundo trabajo explorando la relación entre la estructura de las catinonas sintéticas y su permeabilidad a través de la barrera hematoencefálica.

El tercer bloque está formado por el sexto capítulo, que incluye dos artículos científicos. Ambos se basan en la aplicación de estrategias de tipo *suspect screening* mediante espectrometría de masas de alta resolución, para la determinación del consumo de cannabinoides sintéticos entre adolescentes. Los resultados mostraron que algunos adolescentes participantes del estudio consumen *herbal blends* a fin de evitar que se detectara el consumo de sustancias mediante los análisis de drogas rutinarios, así como la variación en la disponibilidad de NPS en base a la legislación vigente.



“Espectrometría de masas de dilución isotópica y deconvolución de perfiles isotópicos aplicada a problemas complejos: Determinación de esteroides en muestras clínicas y drogas en aguas residuales.”

Autor: **Jorge Pitarch Motellón**

Directores: Antoni Frances Roig Navarro, Juan Vicente Sancho Llopis
Instituto Universitario de Plaguicidas y Aguas, Universitat Jaume I, Castelló
Universitat Jaume I, 19 de noviembre de 2020

Resumen:

La espectrometría de masas de dilución isotópica (IDMS) es una de las herramientas más potentes de la química analítica debido a su capacidad de producir datos de alta fiabilidad y calidad metrológica. El uso de IDMS, y especialmente mediante su acoplamiento a técnicas cromatográficas, hace posible la cuantificación de analitos a nivel de trazas en muestras de alta complejidad. Habitualmente, la cuantificación por IDMS se lleva a cabo mediante curvas de calibrado con patrón interno marcado isotópicamente; no obstante, en la presente tesis doctoral se presenta otra posibilidad: la deconvolución de perfiles isotópicos (IPD). Si bien es una técnica ampliamente estudiada en el campo de la especiación y el análisis elemental, su uso para análisis molecular es todavía novedoso y poco conocido.

La principal ventaja de la IPD frente a la IDMS convencional es que no necesita de curvas de calibración para la cuantificación. Se trata de una herramienta matemática, basada en regresión lineal múltiple, capaz de hallar la contribución —como fracción molar— de cada compuesto al perfil isotópico de una mezcla de un compuesto natural y su homólogo marcado con un isótopo estable. De esta manera, la adición de una cantidad conocida de compuesto marcado y la consiguiente medida del perfil isotópico resultante permite obtener la cantidad de analito en la muestra. Así, cada inyección proporciona un valor de concentración, hecho que puede conllevar un considerable ahorro de tiempo y costes económicos.

Todos los estudios presentados hacen uso de la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) y cuantificación por IPD con el objetivo de enfatizar el potencial de la IPD en la resolución de problemas analíticos complejos. Se incluye el desarrollo de la metodología de IPD aplicada a la determinación de esteroides androgénicos endógenos en orina, evaluada frente a la cuantificación por calibrado en términos de incertidumbre y de cuantificación simultánea de hasta 4 metabolitos. Se realizaron dos estudios enfocados a análisis clínicos, tanto para la certificación de estándares de vitamina D como para la cuantificación de estrógenos en suero. Finalmente, se aplicó IPD a otra matriz de gran dificultad analítica como lo son las aguas residuales, para la realización de estudios de epidemiología basada en aguas residuales (WBE) de drogas de abuso.



Advances in the determination of xenobiotics in foods

Current and future developments in food science, Volume 1

Editado por: Belén Gómara y María Luisa Marina

ISBN: 9789811421570

2019, Betham Science Publishers

Durante la preparación, procesado y almacenamiento de los alimentos se generan compuestos de muy diversa naturaleza, muchas veces de forma no deseada. Son los conocidos xenobióticos, cuyo estudio es fundamental para garantizar la seguridad de los alimentos. Dichos compuestos aparecen como mezclas complejas y, la mayor parte de las veces, en pequeñas concentraciones, por lo que para su análisis se requieren técnicas analíticas avanzadas con un alto poder de separación, alta sensibilidad y capacidad de identificación.

El libro *Advances in the determination of xenobiotics in foods* es una obra completa y actual que recoge los avances y desarrollos analíticos más recientes para la determinación de distintos xenobióticos en alimentos. Dicha obra está destinada a profesionales de la química analítica y de la ciencia y tecnología de los alimentos, tanto del ámbito científico como industrial, así como a estudiantes de doctorado o especialistas de laboratorios de control de calidad.

El libro recoge excelentes contribuciones de reconocidos científicos, tanto nacionales como internacionales, que versan sobre los distintos xenobióticos que pueden encontrarse en los alimentos. Así, se incluyen capítulos que tratan sobre la posible migración de compuestos desde los envases activos a los alimentos, así como sobre la aplicación de nanopartículas en el sector alimentario y el desarrollo de metodologías analíticas para su determinación. Se consideran también xenobióticos específicos que, debido a su presencia en el medio ambiente, pueden entrar en la cadena alimentaria, tanto regulados (dioxinas, bifenilos policlorados, pesticidas y metales pesados como el mercurio), como otros que también deben controlarse (micro- y nanoplasticos, retardantes de llama y compuestos perfluoroalquilados). Además, se incluyen también xenobióticos generados durante el procesamiento de los alimentos y algunos contaminantes naturales como micotoxinas y aminos biogénicas.

Este libro, editado por dos miembros activos de nuestra Sociedad, Belén Gómara y María Luisa Marina, ha sido inspirado en el contexto de los consecutivos Programas de Actividades de I+D de Grupos de Inves-

tigación de la Comunidad de Madrid concedidos desde el año 2006 y basados en el desarrollo de nuevas metodologías para la mejora de la calidad y seguridad de los alimentos. Además, mencionar que ha sido dedicado a nuestra querida expresidenta de la SECyTA, María José González Carlos, por su gran contribución al análisis de xenobióticos durante toda su carrera científica.

Chapter 1: Safety assessment of active food packaging: role of known and unknown substances (*Filomena Silva, Raquel Becerril, Cristina Nerín*).

Chapter 2: Microplastics and nanoplastics in foods (*Pilar Fernández-Hernando, Rosa María Garcinuño-Martínez, Esther Garrido-Gamarro*).

Chapter 3: Nanotechnology in the food field: application of metal based nanoparticles (*Beatriz Gómez-Gómez, Yolanda Madrid*).

Chapter 4: Halogenated and organophosphorus flame retardants (*Óscar Aznar-Aleman, Ethel Eljarrat*).

Chapter 5: Dioxins and PCBs in food and feed matrices: advances in physico-chemical methods and EU regulatory framework (*Jordi Parera, Manuela Ábalos, Esteban Abad*).

Chapter 6: Pesticides (*Vicente Andreu, Yolanda Picó*).

Chapter 7: Perfluoroalkyl substances (PFAS) in foodstuffs and human dietary exposure (*Qian Wu, Kurunthachalam Kannan*).

Chapter 8: Mercury (*Zoyne Pedrero Zayas*).

Chapter 9: Process contaminants (*Marta Mesías, Francisca Holgado, Francisco J. Morales*).

Chapter 10: Mycotoxins (*Yelko Rodríguez-Carrasco, Alberto Ritieni*).

Chapter 11: Biogenic amines (*Gianni Sagratini, Giovanni Caprioli, Massimo Ricciutelli, Sauro Vitori*).



EMPRESAS colaboradoras

PROTECTORAS

- AGILENT TECHNOLOGIES SPAIN, S.L.
Parque Empresarial Alvia
José Echegaray, 8. Edif. 3, Planta 1.^a
28232 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)
- SCIEX SPAIN, S.L.
Valgrande, 8
Edificio Thanworth II, Nave B1A
28108 ALCOBENDAS (Madrid)
- TEKNOKROMA ANALÍTICA, S.A.
Camí de Can Calders, 14
08173 Sant Cugat del Vallès BARCELONA
- THERMO FISHER SCIENTIFIC
Avda. de la Vega, n.º 1. Edif. 1 Planta 4
28108 ALCOBENDAS (Madrid)
- WATERS CROMATOGRAFÍA, S.A.
Ronda Can Fatjó, 7-A
Parc Tecnològic del Vallès
08290 CERDANYOLA DEL VALLÈS (Barcelona)

ASOCIADAS

- INGENIERÍA ANALÍTICA, S.L.
Avda. Cerdanyola, 73
08172 SANT CUGAT DEL VALLÈS (Barcelona)
- IZASA SCIENTIFIC, S.L.U.
Plaza de Europa, 21-23
08908 L'HOSPITALET DE LLOBREGAT
(Barcelona)
- LECO INSTRUMENTOS, S.L.
Plaza de la Encina, 10, N.3 1.º A
28760 TRES CANTOS (Madrid)
- SCHARLAB, S.L.
Gato Pérez, 33
Polígono Industrial Mas D'en Cisa
08181 SENTMENAT (Barcelona)
- SCION INSTRUMENTS IBÉRICA
Forjadores, 16
28660 BOADILLA DEL MONTE (Madrid)
- SYMTA, S.L.L.
San Máximo, 31
28041 MADRID
- SUGELABOR
Sicilia, 36
28038 MADRID



NOTAS TÉCNICAS



BRUKER TIMSTOF MS EN ANÁLISIS MEDIOAMBIENTAL

Lo que aporta la trampa de movilidad **tims** para la discriminación y mejora de la sensibilidad en la detección de "PFOS".



Las regulaciones medioambientales, y particularmente en el análisis de aguas, están continuamente sometidas a cambios que requieren aumentar el número y el nivel de detección de compuestos de interés químico y biológico. Por ello, se está continuamente innovando en nuevas tecnologías que permitan métodos de separación y detección más robustos y sensibles para la monitorización de un número cada vez mayor de posibles contaminantes. Las muestras son

cada vez más complejas y pueden tener centenares de compuestos de interés donde la separación cromatográfica tradicional puede no ser suficiente para discriminar entre compuestos relacionados o isómeros manteniendo los límites de detección exigidos.

Dentro de los contaminantes medioambientales, los sulfonatos de Perfluorooctano (PFOS) están considerados compuestos tóxicos prioritarios dentro de la familia de las sustancias alquilperfluoradas (PFAS) fundamentalmente debido a su alta persistencia y efectos nocivos para la salud humana y animal [1,2]. Las aguas contaminadas son con mucha frecuencia la fuente de exposición, por tanto, la monitorización continua de aguas naturales es cada vez más interesante y se han desarrollado recientemente diferentes legislaciones al respecto tanto en la UE como en EE.UU. [3-5]

Una de las principales dificultades de estos compuestos es la amplia variedad de isómeros que deben diferenciarse, ya que cada uno de ellos presentan toxicidades distintas y requieren su determinación independiente.

El sistema **Bruker timsTOF** permite la diferenciación de los distintos isómeros, aunque no estén separados cromatográficamente, gracias a la dimensión de movilidad iónica, mejorando significativamente los tiempos de análisis y los límites de detección para un análisis real.

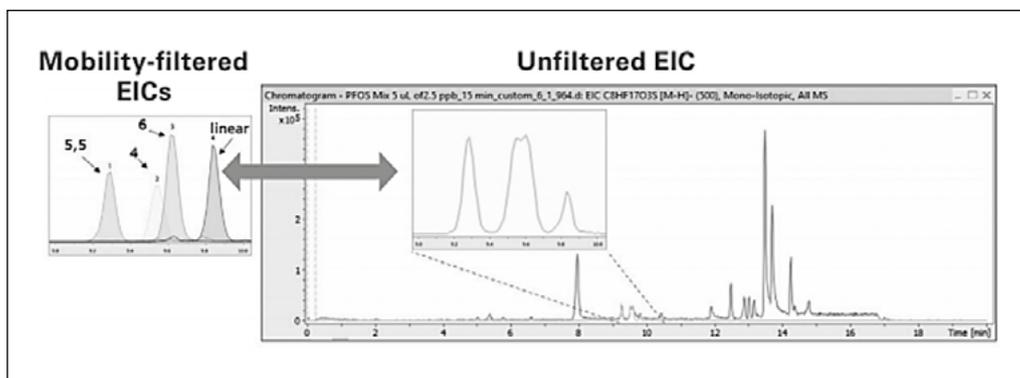


Figura 1. Cromatograma extraído a m/z 498,9302 \pm 0,005 Da para una inyección de 5 μ L de una mezcla de los cuatro isómeros de PFOS a una concentración de 2,5 ng/mL (2,5 ppb).

Todos los análisis se han llevado a cabo con la configuración de **Bruker TargetScreener** y su método estándar de UHPLC. En estas condiciones coeluyen varios isómeros, pero se pueden cuantificar independientemente gracias a la separación en la dimensión de movilidad.

La trampa de movilidad iónica ofrece una cuarta dimensión (4D)

Es muy común que las coeluciones de compuestos debidas a su similitud química, incluso con idéntica masa, generen problemas de identificación incorrecta o errores en la asignación de pico. El sistema **Bruker timsTOF** combina la trampa de movilidad iónica de alta resolución con las prestaciones de ultra-alta resolución en el QTOF, ofreciendo una combinación única para identificación y cuantificación de contaminantes prioritarios a niveles de traza o ultra-traza en matrices reales.

La separación por movilidad iónica se basa en la estructura tridimensional de cada compuesto y permite medir la sección transversal de colisión —“Collision Cross-Section” (CCS)— como un factor específico y diferenciador para la confirmación y cuantificación, tal como se muestra en la Figura 2.

Diferenciación con excelente fidelidad isotópica y exactitud de masas

El trabajo con la trampa de movilidad iónica Bruker tims utilizando el método estándar Target-

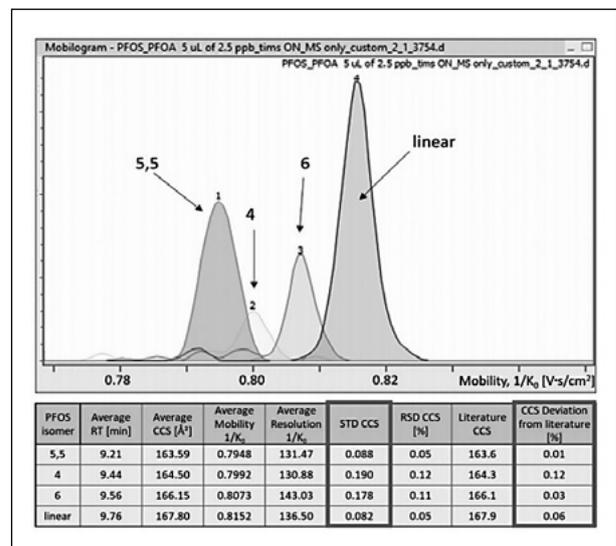


Figura 2. Mobilogramas extraídos con los valores de CCS característicos para cada isómero de PFOS. Los valores de CCS presentan una excelente reproducibilidad y precisión respecto a los valores publicados [6]. En condiciones estándar permite una resolución completa de cada isómero.

Screener permite una separación completa de los isómeros de PFOS entre ellos y de otros componentes de la muestra con exactitudes de masa entre 0,1 y 2 ppm (0,1-1mDa). Adicionalmente, la coincidencia del perfil isotópico real con el teórico es excelente, con valores muy bajos de mSigma.

Para la identificación y cuantificación de compuestos conocidos, disponer de estos parámetros adicionales ofrece una fiabilidad analítica muy importante respecto a sistemas que no disponen de tims. En trabajos

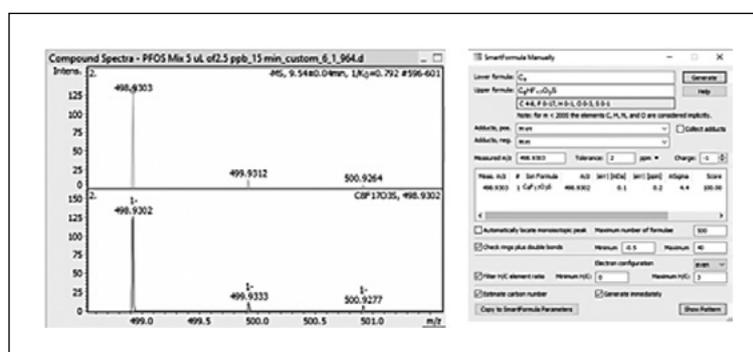


Figura 3. Se puede observar una excelente coincidencia de la masa exacta y del perfil isotópico medido con el perfil isotópico teórico del ácido perfluoro-4-metilheptano sulfónico (4) (C₈HP₁₂O₃S). Un valor de mSigma de 5,2 indica su ajuste casi perfecto al perfil teórico. (Los valores mSigma representan un parámetro estadístico de coincidencia entre el perfil isotópico teórico y experimental. Valores menores indican un mejor ajuste).

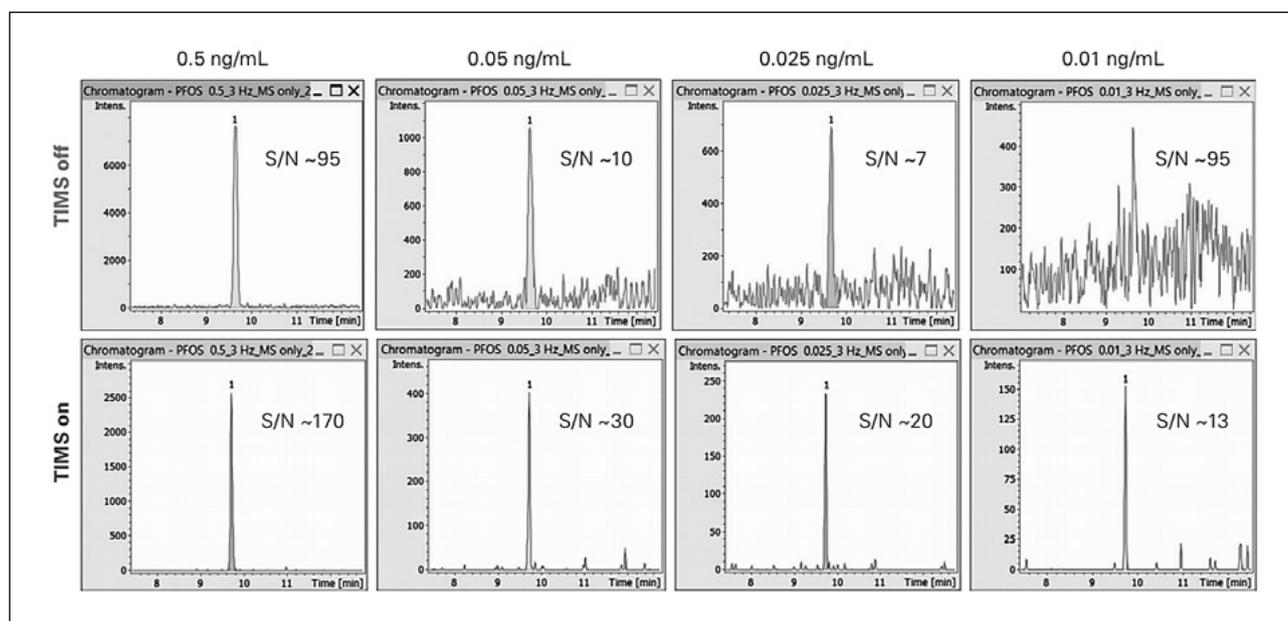


Figura 4. Cromatogramas extraídos a m/z 498,9302 \pm 0,005 Da para una dilución de PFOS, en modo sin movilidad iónica “TIMS OFF” en la parte de arriba del gráfico, y en modo con movilidad iónica “TIMS ON” en la fila de abajo. Dichos modos son fácilmente seleccionables por software. Todos ellos corresponden a una inyección de 5 μ L de 2,5 ng/mL de concentración. Los valores solo se pueden comparar en cada concentración al haberse utilizado digitalizadores distintos en cada modo.

de identificación de compuestos desconocidos, la combinación de la exactitud de masa con una comparación de perfiles isotópicos de alta resolución y la dimensión de movilidad proporciona una confianza adicional importante para la determinación de la fórmula molecular.

Aumento de sensibilidad en MS con la trampa de movilidad iónica

Se ha analizado una serie de diluciones para los isómeros PFOS en modo MS con y sin el modo de movilidad iónica —fácilmente activado y desactivado

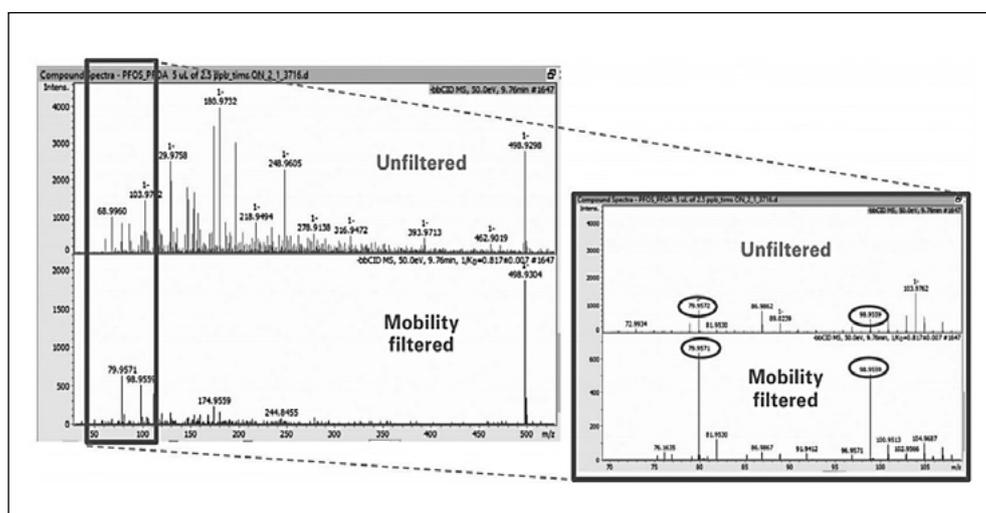


Figura 5. Ácido perfluorooctano sulfónico lineal analizado en modo bbCID. Al aplicar la trampa de movilidad iónica **tims** el espectro adquirido (abajo) es mucho más limpio, pudiendo ver los iones de diagnóstico mucho más fácilmente. Muestra inyectada: 5 μ L, 2,5 ng/mL.

por software—. Los límites de detección y valores de relación señal/ruido mejoran considerablemente cuando se trabaja en modo tims.

La movilidad iónica tims mejora la confianza en la identificación

Los métodos de trabajo estándar en los sistemas Bruker QTOF y timsTOF para la identificación de desconocidos incluyen los modos de adquisición de MS y bbCID "broad band CID". Si sumamos la información de movilidad iónica en el timsTOF, nos ofrece una dimensión adicional de confianza en la identificación de contaminantes. La aplicación de esta dimensión adicional permite identificar los iones característicos de forma mucho más sencilla al eliminar gran parte del ruido, incluso en iones de masas bajas.

Por todo ello, disponer de un sistema tims nos ofrece una cuarta dimensión (4D) analítica que añade claridad, sensibilidad y especificidad tanto para la cuantificación de compuestos conocidos como la identificación de desconocidos en aplicaciones con muestras y matrices reales como se describe en esta nota.

Piense en la nueva dimensión timsTOF para una detección de contaminantes superior

- Permite un poder de separación inigualable para la discriminación entre compuestos combinando la separación por movilidad iónica con la tecnología QTOF de ultra alta resolución.
- Mejora la confianza en la identificación mediante la medida de valores específicos de CCS, mejorando la detección mediante iones de diagnóstico.
- Aumenta la capacidad de análisis en muestras complejas, tanto para compuestos conocidos como desconocidos.
- Resuelve muchos de los retos actuales en la monitorización de contaminantes ambientales y ofrece unas prestaciones únicas para la adaptación a las nuevas regulaciones y al desarrollo de métodos que respondan a los retos emergentes actuales.

Traducida y adaptada por P.Cano de la Flash Note: Environmental screening via timsTOF MS: A new dimension for discrimination and improved sensitivity in

the detection of PFOS pollutants. Autores: Silke Boddendiek, Karin Wendt, Andrea Kiehne; Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany.

Bruker Española, S.A.

Parque Empresarial Rivas Futura
C/ Marie Curie, 5. Edificio Alfa
28521 Rivas-Vaciamadrid
Madrid – Spain
Tel.: 91 499 40 80
Fax: 91 656 62 37
bdal.es@bruker.com

Para obtener más información de Bruker, póngase en contacto con Bruker Daltonics en: bdal.es@bruker.com o en la web www.bruker.com

timsTOF
Pro



Target-
Screener



Bibliografía

- [1] United States Environmental Protection Agency (May 2016) *Health Effects Support Document for Perfluorooctane Sulfonate (PFOS)*, (EPA 822-R-16-002).
- [2] Lau C. (2015). Perfluorinated Compounds: An Overview. In *Toxicological Effects of Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances. Molecular and Integrative Toxicology*; DeWitt J. (ed.); Humana Press, Cham, 2015; pp.1-21. https://doi.org/10.1007/978-3-319-15518-0_1
- [3] European Union (2019). Regulation (EU) 2019/1021 of the European Parliament and of the Council of 20 June 2019 on persistent organic pollutants (Text with EEA relevance.) (OJ L).
- [4] European Commission (2017). Proposal for a DIRECTIVE OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL on the quality of water intended for human consumption(recast), COD No 0332.
- [5] United States Environmental Protection Agency (February 2019). EPA's Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) Action Plan (EPA 823R18004). <https://www.epa.gov/pfas>
- [6] Dodds J. N. et al. (2020). Rapid Characterization of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) by Ion Mobility Spectrometry–Mass Spectrometry (IMS-MS), *Anal Chem* 92:4427.



DIRECT AQUEOUS ANALYSIS OF PESTICIDES AND PPCPS IN DRINKING AND BOTTLED WATER AT PARTS PER TRILLION LEVELS

Using the SCIEX Triple Quad™ 7500 LC-MS/MS System – QTRAP® Ready

Jianru Stahl-Zeng¹, Bertram Nieland⁴, Phil Taylor², Jack Steed², Ian Moore³, Ronny Bosch⁵, Bernard Bajema⁵

¹SCIEX, Germany, ²SCIEX, United Kingdom, ³SCIEX, Canada, ⁴SCIEX, Netherlands, ⁵Vitens, Netherlands

Drinking water analysis is subjected to extremely low and rigid prescribed consent values (PCV) for determinands. Water suppliers and utility companies need to ensure that the final water product they send out for bottling or into supply networks is safe and complies with state and country regulations.^{1,2,3} Water can be a challenging matrix, in particular if it is sourced from a river, lake or reservoir before entering the water treatment process. The laboratories which serve the water companies must have highly sensitive instrumentation to quantify beyond PCV limits with precision and confidence and also handle all the matrix challenges.

Here, a series of experiments was conducted in collaboration with Vitens Water Company, to test several types of water samples spiked with a mixed standard of 431 determinands, including pesticides, pharmaceuticals and personal care products. This work explores the sensitivity levels of the SCIEX Triple Quad™ 7500 LC-MS/MS System – QTRAP® Ready, the reproducibility of the acquired data as well as the simplicity of data processing using SCIEX OS Software.

Key features of the SCIEX 7500 System for drinking water analysis

- Very high sensitivity demonstrated using the SCIEX Triple Quad 7500 LC-MS/MS System – QTRAP Ready for sub part per trillion detection limits for analytes in drinking water.

- Includes improvements in the generation of ions with the OptiFlow® Pro Ion Source and the E Lens™ Technology and the capture of ions with the D Jet™ Ion Guide¹⁸.
- Very simple sample preparation strategy of direct aqueous injection greatly streamlines the water analysis workflow.
- SCIEX OS Software is a single platform for data acquisition, data processing and streamlined results review.
- QTRAP Ready system future proofs the lab with an easy upgrade path to obtain the qualitative functionality of the linear ion trap scan features in addition to the quantitative triple quadrupole functionality.

Methods

Sample preparation: Direct aqueous injection of spiked water samples - MilliQ water, tap water (SCIEX Concord Laboratory), Evian bottled water and Fiji bottled water. The samples were spiked with a custom mix standard provided by Vitens, Netherlands, containing 431 analytes, include 46 internal standards. A series of 12 standards were made in the respective matrices at sequential concentrations from 0.1 to 500 ng/L. A collection of unknown blank samples was also included in this study.

Liquid chromatography: HPLC separation was performed on an ExionLC™ System using a Phenomenex Luna Omega C18 column (100 Å, 1.6 µm, 100 × 2.1 mm P/N 00F-4742-AN). The gradient used for the separation is outlined in Table 1. The column oven temperature was set to 40°C. For this experiment, the selected injection volume was 500 µL.

Table 1. Gradient profile and mobile phase composition.

Total Time (min)	Flow rate (µL/min)	% A	% B
0.00	500	99	1
0.50	500	99	1
16.00	500	1	99
21.00	500	1	99
21.10	500	99	1
25.00	500	99	1

Mobile phase A – Water + 0.1% formic acid + 5mM NH₄ Formate
Mobile phase B – Methanol + 0.1% formic acid + 5mM NH₄ Formate.

Mass spectrometry: The SCIEX Triple Quad 7500 LC-MS/MS System – QTRAP Ready was equipped with the OptiFlow Pro Ion Source and operated in conventional high flow ESI mode. To increase the efficiency in the transfer of the sample into the mass spectrometer, the E Lens Technology was also used. Due to the nature of this acquisition method, the system was configured for positive and negative analysis with a fast polarity switching time of five milliseconds (ms).

The acquisition method with 431 determinands was created in SCIEX OS Software, using the Scheduled MRM™ Algorithm to maximize the number of analytes in a single injection. Each determinand had two MRM transitions. Standards and spiked samples were injected multiple times to conduct a reproducibility and accuracy study.

Data analysis: The Explorer and Analytics tools in SCIEX OS Software were used to review the acquired sample data.

Table 2. MS Method parameter settings.

Parameter	Setting	Parameter	Setting
Acquisition mode	MRM	Curtain gas	32 psi
Ionization mode	ESI	Ion source gas 1	30 psi
Polarity	positive and negative	Ion source gas 2	70 psi
CAD gas	9	Source temperature	500°C

Identification and integration of the peaks were achieved with the Auto Peak Algorithm. Improvements in the recognition and baseline integration of peaks expedited data review and reduced the need for manual adjustments.

Method development and optimization

A custom mix of 431 pesticides, pharmaceuticals and personal care products in acetonitrile was prepared by Vitens water laboratory to prepare a sequential series of calibration standards in MilliQ water. The calibration standard concentrations were 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200 and 500 ng/L. A calibration blank was also prepared.

Store-bought bottles of Fiji Water, Evian Water and tap water from SCIEX Concord Laboratory were spiked with varying concentrations within the calibration range of 0.1 to 500 ng/L. Chromatography gra-

dients and conditions along the SCIEX 7500 System were optimized to enable adequate data points across all peaks (Table 1 and 2).

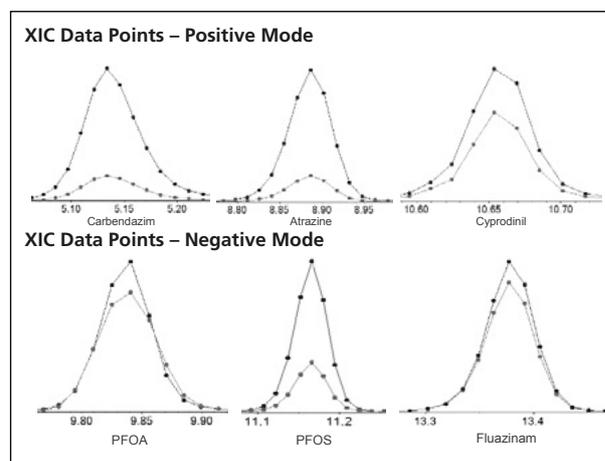


Figure 1. Fast polarity switching ensures high data quality. The method was optimized to ensure there were sufficient data points across the peak to quantify the determinands and meet regulatory requirements. This figure shows the extracted ion chromatogram (XIC) positive determinands of carbendazim, atrazine and cyprodinil at 50 ppt. The negative XIC determinands are PFOA, PFOS and fluazinam.

Due to the broad range of compounds analyzed in this study, polarity switching was used to maximize compound coverage. The speed of polarity switching ensured that very good peak sampling was obtained for all analytes, with sufficient data points across the LC peak (Figure 1, 50 ng/L). The two fungicides shown in the positive mode are carbendazim and cyprodinil. Carbendazim⁴ is a benzimidazole fungicide used across fruit, vegetable and cereals. Cyprodinil⁵ is for the treatment of rhynchosporium outbreaks on crops. Atrazine⁶ is a weed killer that has been used in corn farming.

Negative mode compounds perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) are perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFAS).⁷ These compounds are used in industrial applications such as cookware manufacturing, the upholstery industry and firefighting. The fungicide fluazinam⁸, used in the farming of potatoes, peanuts and grapevines, was also selected.

Very good chromatographic separation was observed (Figure 2), which also helps ensure good quantitative coverage.

NOTAS TÉCNICAS

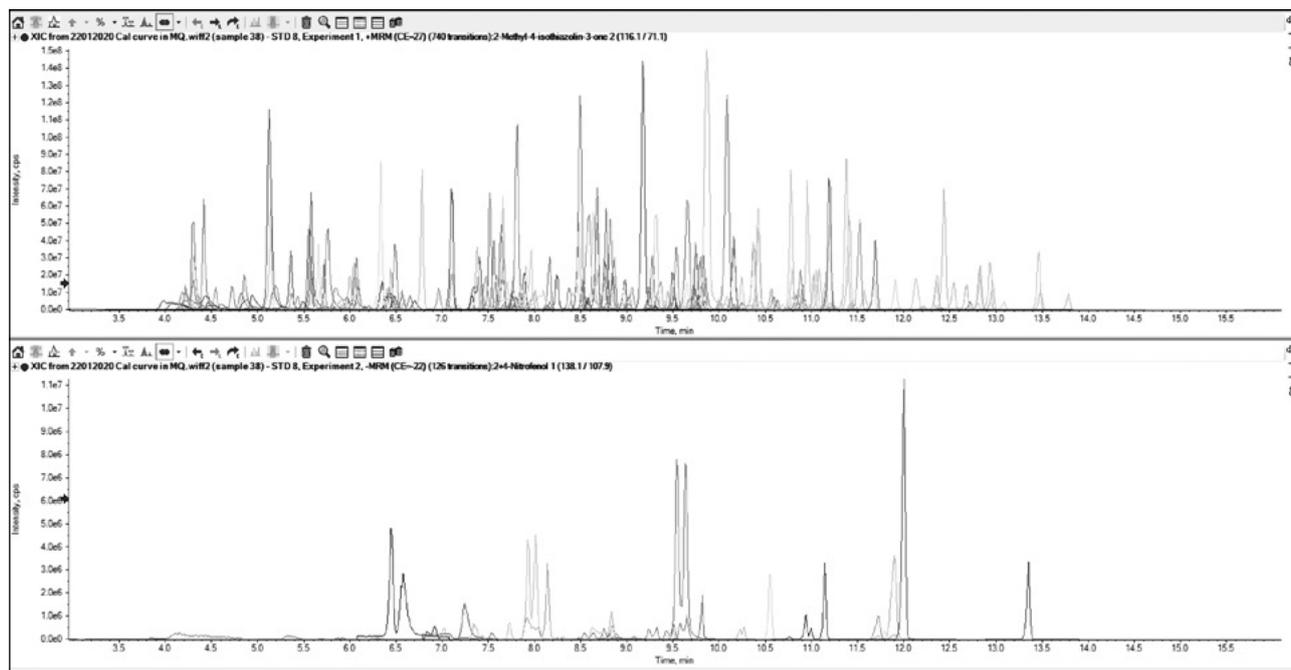


Figure 2. All 431 compounds optimized for analysis with fast positive and negative switching. Extracted ion chromatograms (XIC) show the positive mode compounds (top) and the negative mode compounds (bottom). Excellent separation was achieved.

Calibration curves

A series of calibration curves were prepared in MilliQ water to evaluate the sensitivity of the SCIEX Triple Quad 7500 LC-MS/MS System – QTRAP Ready and determine the lower limits of quantification. To enable maximum coverage of analytes in the samples, a calibration range from 0.1 ng/L to 500 ng/L was spiked into MilliQ water. Using SCIEX OS Software for data processing, calibration curves were quickly generated and supporting statistical data was summarized for quick review (Figure 3 and 4). The ion ratio confidence column shows that all concentrations passed, with no non-conforming ratios flagged. Strong linearity was observed for most compounds. Furthermore, SCIEX OS Software will also flag any erroneous calibrators and automatically remove the standards for regression.

A new era of sensitivity

Very good sensitivity was observed across the series of experiments conducted in this study. Using the SCIEX Triple Quad 7500 LC-MS/MS System – QTRAP Ready, which includes improvements in both ion generation and ion sampling, detection limits of 0.1 ng/L were

achieved for many of the analytes. Figure 5 shows the data for bottled water spiked with very low levels of concentrations of six different compounds compared with blank bottled water. All data were acquired through direct aqueous injection.

Figure 5 demonstrates sub-part per trillion limits of detection with direct aqueous injection. Directly testing a water sample reduces the costs and time demands associated with having to perform more laborious sample preparation approaches such as concentrating the sample with solid phase extraction (SPE). Furthermore, by removing the sample preparation step, there is a reduced risk of cross-contamination, leading to false-positive results.

Dicamba analysis

One of the more problematic determinands to analyze is dicamba. This herbicide is used in the commercial farming of crops and grains, its purpose is to kill perennial broadleaf weeds. Dicamba is applied to control brush and bracken in grazing pastures as well as legumes and cacti.¹⁷ Dicamba has been found to be highly soluble in water (500 g/L) and is therefore a determinand of concern for water laboratories. Direct

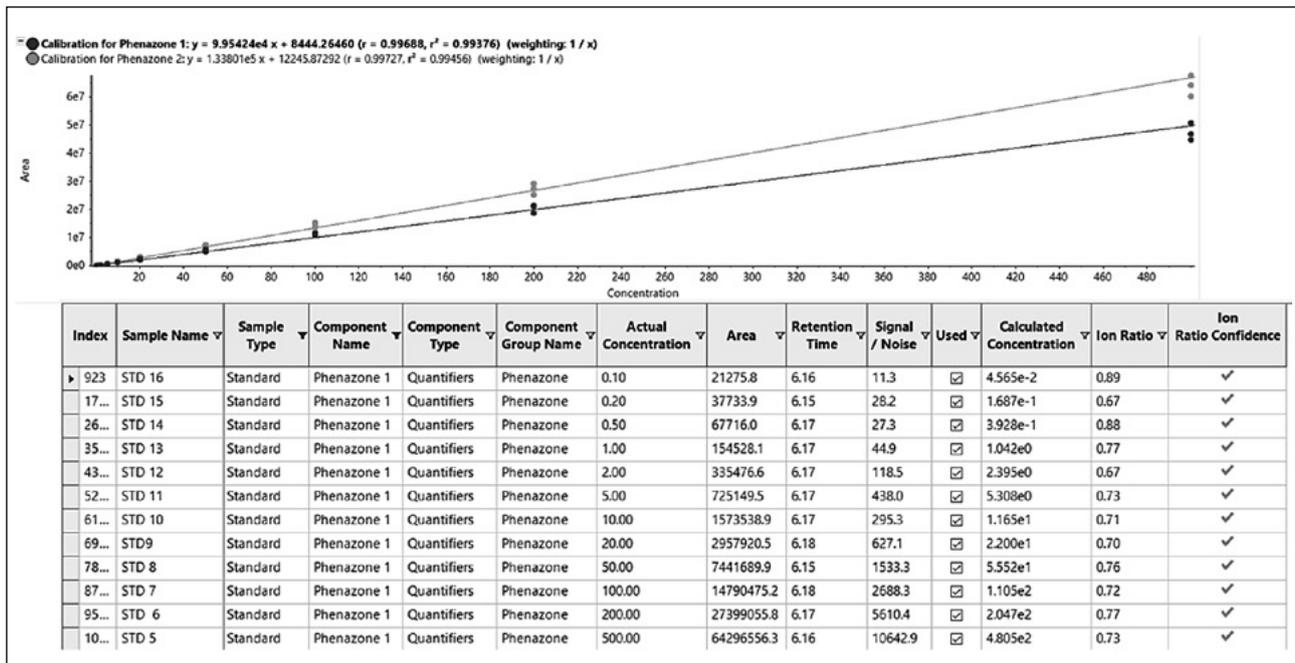


Figure 3. Example of calibration curve and ion ratio confirmation for phenazone in positive ion mode. SCIEX OS Software displays all the data involved in the creation of the calibration curve. The user can review and quickly identify any issues using the flagging tools. In this instance, the ion ratio confidence scores meet the satisfactory level for typical water regulatory analysis.

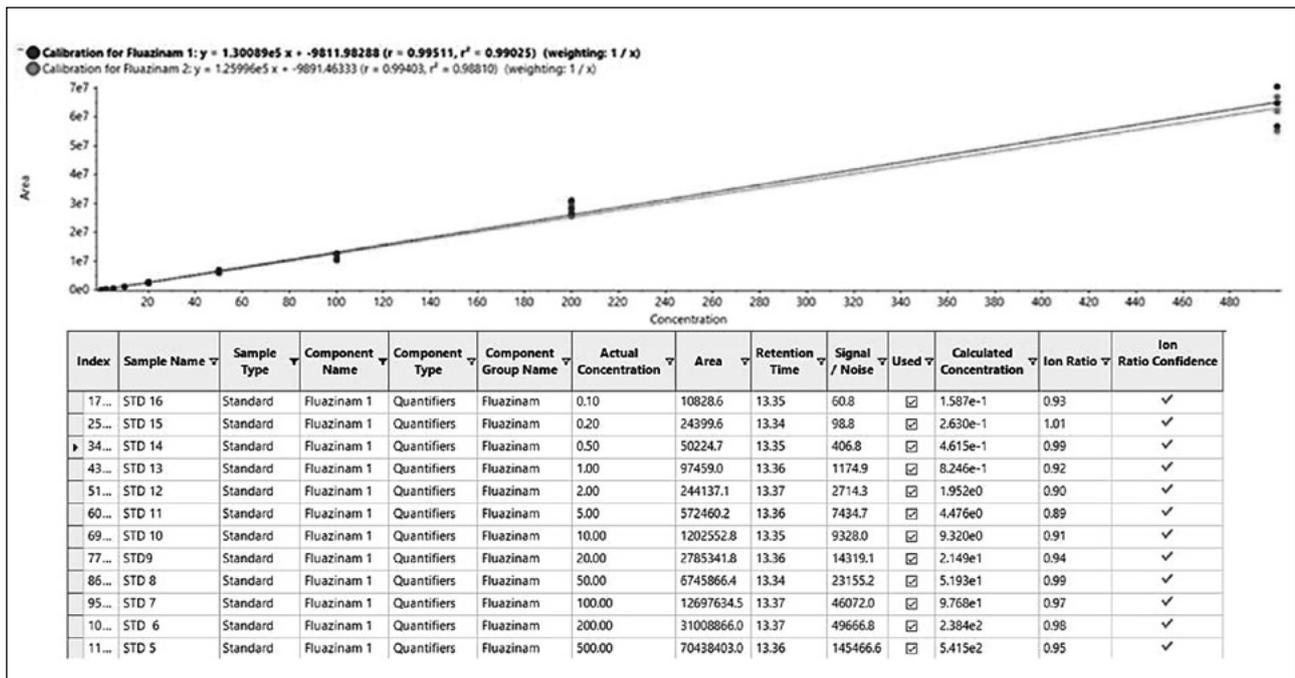


Figure 4. Calibration curve and ion ratio for fluazinam analyzed in negative mode. SCIEX OS Software displays all the data involved in the creation of the calibration curve. The operator can review and quickly identify any issues through the flagging tool. Here, the ion ratio confidence meets the satisfactory level for typical water regulatory analysis.

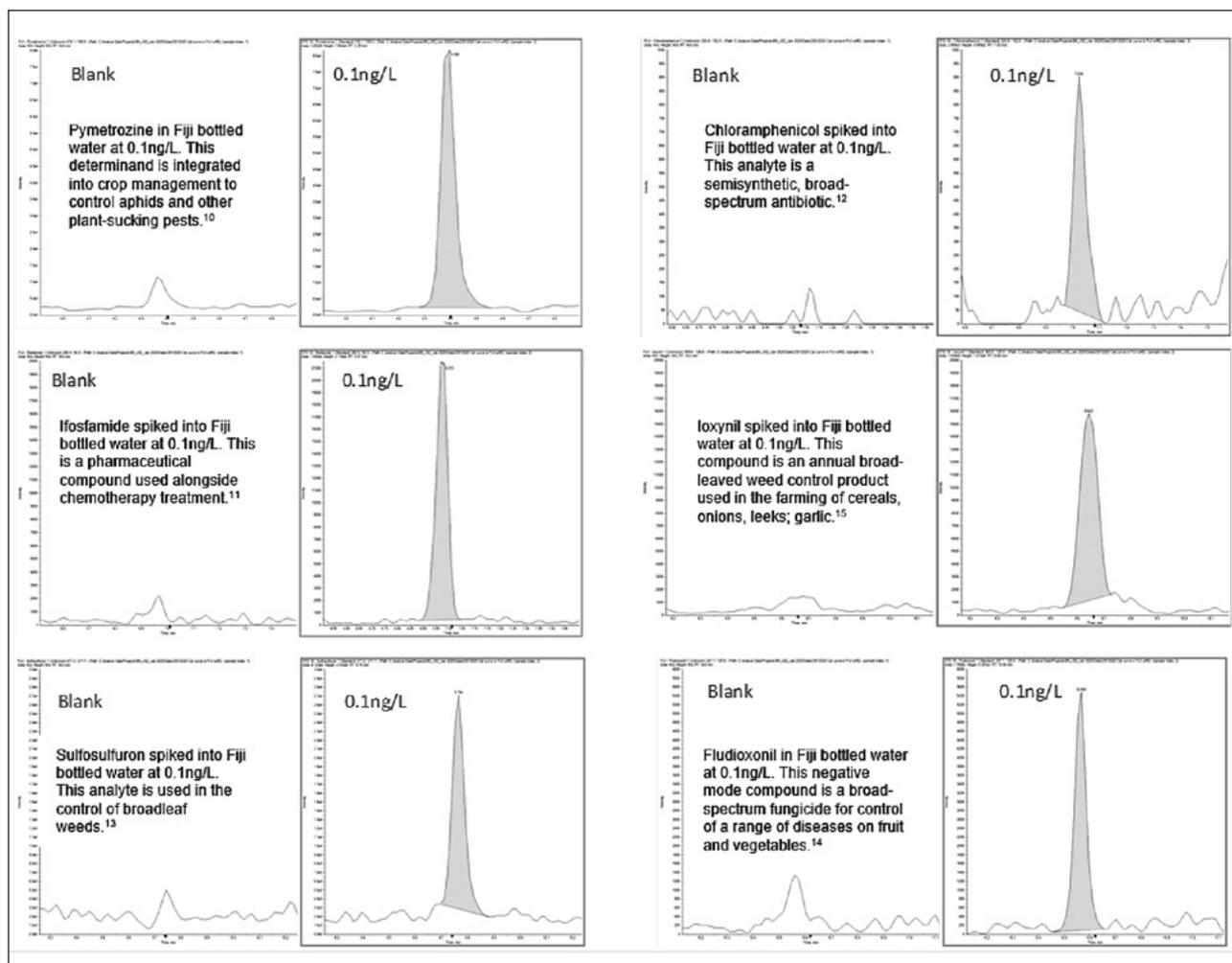


Figure 5. XIC for different compounds spiked into bottled water at 0.1 ng/L. (Left) Analytes analyzed using positive ionization. (Right) Analytes analyzed using negative ionization.

aqueous analysis of this analyte is sometimes problematic and reaching low-level parts per trillion detection limits is very difficult.

In this series of experiments dicamba was one of the 431 compounds in the custom mix. Here, a limit of detection (LOD) of 5 ng/L (5 ppt) was observed with one transition of the dicamba MRM transitions, and a limit of quantification (LLOQ) of 10 ng/L (10 ppt) was obtained with 2 transitions with correct ion ratio was achieved. Figure 6 shows the chromatograms for dicamba spiked into MilliQ water at 50 ppt down to 5 ppt. The acquired peaks clearly display the confirmatory ion ratios between the two transitions for confident reporting of results.

Reproducible results

The ability to quantify to a low-level concentration is important, but the ability to consistently deliver this high-quality data time and time again is crucial. Figure 7 provides an example of the reproducibility of a determinand (phenazone) at low levels of concentration, which has been spiked into the sample. Even at the lowest concentrations at a sub-part per trillion, the percentage coefficient variation (%CV) is consistently low and shows a high degree of accuracy and precision. At the LOD for phenazone, the %CV is 6.76% in this example.

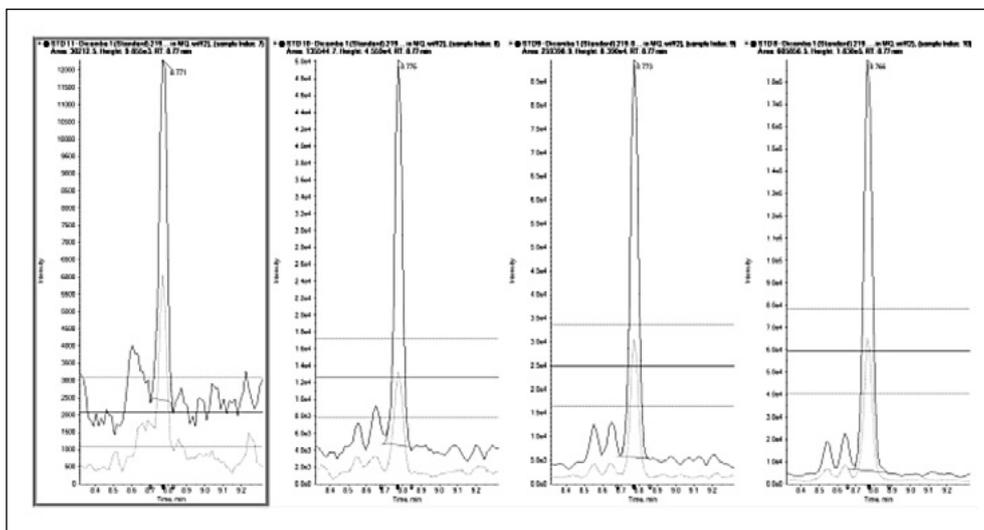


Figure 6. Sensitivity for dicamba analysis. The peak areas observed for dicamba at concentrations of 5, 10, 20 and 50 ng/L with a 500 μ L direct aqueous injection is shown.

Row	Component Name	Actual Concentration	Num. Values	Mean	Standard Deviation	Percent CV	Accuracy
1	Phenazone 1	0.10	3 of 3	8.151e-2	5.509e-3	6.76	81.51
2	Phenazone 1	0.20	3 of 3	2.059e-1	3.638e-3	1.77	102.94
3	Phenazone 1	0.50	3 of 3	5.255e-1	3.191e-3	0.61	105.09
4	Phenazone 1	1.00	3 of 3	8.489e-1	5.448e-2	6.42	84.89
5	Phenazone 1	2.00	3 of 3	2.140e0	5.628e-2	2.63	106.99
6	Phenazone 1	5.00	3 of 3	4.345e0	5.723e-1	13.17	86.91
7	Phenazone 1	10.00	3 of 3	1.160e1	9.351e-1	8.06	116.01
8	Phenazone 1	20.00	3 of 3	2.215e1	7.684e-1	3.47	110.76
9	Phenazone 1	50.00	3 of 3	5.484e1	3.838e0	7.00	109.67
10	Phenazone 1	100.00	3 of 3	9.837e1	9.631e0	9.79	98.37
11	Phenazone 1	200.00	3 of 3	1.937e2	7.592e0	3.92	96.85

Figure 7. Reproducibility of the SCIEX 7500 System at a low-level concentration. At sub-parts per trillion, accuracy and precision are satisfactory for regulatory requirements.

Conclusions

In this work, the SCIEX Triple Quad 7500 LC-MS/MS System – QTRAP Ready has demonstrated its potential for low-level quantification (parts per trillion detection limits) across a relatively large suite of 431 determinands. The ability to analyze this many compounds without the need for laborious sample preparation improves operational efficiencies. The direct aqueous injection approach enables water testing laboratories to go beyond their current limits of sensitivity. Combined with the ease of processing and flexibility of SCIEX OS Software, the time between

sampling and reporting results was expedited through this workflow which can positively impact how the data produced by the labs that monitor the health and purity of the water network.

There is scope to expand the number of analytes tested and apply this system to other individual workflows which demand very low limits of quantification. The innovations of the SCIEX 7500 System can open the water industry up to an era of analysis where the impacts of the matrix studied is reduced while the levels of sensitivity are increased.

NOTAS TÉCNICAS

References

- [1] Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption.
- [2] Safe Drinking Water Act (SDWA).
- [3] The Water Supply (Water Quality) Regulations 2018.
- [4] Carbendazim - University of Hertfordshire - Pesticide Properties DataBase.
- [5] Cyprodinil - University of Hertfordshire - Pesticide Properties DataBase.
- [6] Atrazine - University of Hertfordshire - Pesticide Properties DataBase.
- [7] Analysis of EPA Method 537 per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) using microflow liquid chromatography *SCIEX technical note RUO-MKT-02-11534-A*.
- [8] Fluazinam - University of Hertfordshire - Pesticide Properties DataBase.
- [9] Phenazone - National Library of Medicine - National Center for Biotechnology Information.
- [10] Pymetrozine - University of Hertfordshire - Pesticide Properties DataBase <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/562.htm>.
- [11] Cybutryne - National Library of Medicine - National Center for Biotechnology Information <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cybutryne>.
- [12] Ifosfamide - National Library of Medicine - National Center for Biotechnology Information.
- [13] Chloramphenicol - National Library of Medicine - National Center for Biotechnology Information.
- [14] Sulfosulfuron - University of Hertfordshire - Pesticide Properties DataBase.
- [15] Fludioxonil - University of Hertfordshire - Pesticide Properties DataBase.
- [16] Ioxynil - University of Hertfordshire - Pesticide Properties DataBase.
- [17] Dicamba - University of Hertfordshire - Pesticide Properties DataBase.
- [18] Enabling new levels of quantification. *SCIEX technical note RUO-MKT-02-11886-A*.

Acknowledgements

Vitens is a drinking water company based in the Netherlands that wants water to work for people. They try to achieve this by providing outstanding service, useful products and services, and reliable information. The state-of-the-art Vitens laboratory in Leeuwarden carefully monitors the quality of drinking water from the source to their customers. Every day, the laboratory processes hundreds of samples and the analyses are largely automated. Its logistics resources and advanced measuring equipment ensure that high efficiency and high-quality data is generated. The laboratory has implemented a quality management system in compliance with ISO/IEC 17025.

The SCIEX clinical diagnostic portfolio is For In Vitro Diagnostic Use. Rx Only. Product(s) not available in all countries. For information on availability, please contact your local sales representative or refer to <https://sciex.com/diagnostics>. All other products are For Research Use Only. Not for use in Diagnostic Procedures.

Trademarks and/or registered trademarks mentioned herein, including associated logos, are the property of AB Sciex Pte. Ltd. or their respective owners in the United States and/or certain other countries.

© 2020 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-11877-A. AB SCIEX™ is being used under license.



Headquarters

500 Old Connecticut Path | Framingham, MA 01701 USA
Phone 508-383-7700
Sciex.com

International Sales

For our office locations please call the division headquarters or refer to our website at sciex.com/offices



SOLUCIONES CROMATOGRÁFICAS EN EL ANÁLISIS DE MICROPLÁSTICOS

Introducción

Desde hace algunos años, existe un creciente interés por la determinación y el estudio de microplásticos (MPs) en ecosistemas marinos. Procesos como la bioacumulación en organismos marinos de compuestos tóxicos presentes en los MPs, así como la ingestión de los propios MPs, suponen un problema desde el punto de vista medioambiental con incidencia en la seguridad alimentaria.

Un MP se puede definir como cualquier partícula de plástico con tamaño comprendido entre varias micras hasta alrededor de 5 mm. Existen una buena cantidad de trabajos científicos que corroboran el aumento de la presencia de estas partículas en el medio ambiente y que describen algunos de los efectos observados en organismos marinos. Sin embargo, aún queda mucho por saber de los MPs y sus efectos, por lo que desarrollos de nuevas estrategias para determinar y caracterizar completamente los MPs y las sustancias tóxicas que los acompañan, son de sumo interés para la comunidad científica.

Entre las técnicas analíticas más usadas para el estudio de MPs, los espectrofotómetros de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) ocupan un lugar destacado. Se utilizan para el análisis cualitativo de los MPs de mayor tamaño, mientras que los microscopios FTIR permiten un análisis de alta sensibilidad de pequeños MPs de alrededor de 10 μm . Sin embargo, cuando existen MPs que contienen distintos tipos de partículas, su análisis por las técnicas anteriormente citadas se hace muy complicado. Por ello, debemos tener en cuenta las alternativas que nos ofrecen técnicas cromatográficas como la pirólisis acoplada a cromatografía de gases masas (Py-GC/MS).

El objeto de este artículo es explorar y profundizar en lo que las técnicas cromatográficas nos pueden aportar en el análisis de MPs. La gran diversidad de técnicas cromatográficas y de sistemas de introduc-

ción de muestra nos permite no solo abordar la propia caracterización de MPs compuestos por un solo tipo de partículas o por mezclas de plásticos, sino también evaluar las moléculas pequeñas contenidas o adsorbidas en los MPs y que pueden tener efectos contraproducentes para el medio ambiente y los seres vivos. El estudio de los propios aditivos empleados en la fabricación de los plásticos, o incluso de los tóxicos adsorbidos por los MPs y que luego pueden ser liberados y bioacumulados en seres vivos, son aplicaciones de alto interés que pueden ser abordadas por técnicas cromatográficas acopladas a detectores de espectrometría de masas. Shimadzu, empresa líder en instrumentación analítica a nivel mundial, ha apostado por el desarrollo de métodos y herramientas que permitan llevar a cabo esta labor de la manera más sencilla posible. Así, existen a disposición del analista una serie de herramientas en forma de bases de datos, que asisten en la identificación de los compuestos analizados, desde los plásticos (Frontier Laboratories F-Search Polymer Library), hasta los aditivos y contaminantes (Shimadzu Polymer Additives Library).

Resultados

Análisis de sustancias tóxicas adsorbidas en MPs

En esta aplicación se estudia la adsorción sobre MPs de hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) y sustancias per- y polifluoroalquiladas (PFAS). La determinación cuantitativa de estos analitos se llevó a cabo empleando instrumentos de triple cuadrupolo del tipo GC-MS/MS y LC-MS/MS, respectivamente. Ambos tipos de compuestos están descritos como tóxicos con capacidad para bioacumularse en seres vivos. Se utilizaron como MPs partículas de tamaño homogéneo e inferior a 5 mm de los siguientes materiales: polipropileno (PP), poliestireno (PS) y polietileno (PE). El experimento propuesto consistió en la inmersión de los distintos MPs mencionados en recipientes con 300 mL de H₂O ultrapura, a los que se añadieron 100 ng de PAHs u 8 ng de PFAS, respectivamente. La preparación se mantuvo en agitación constante durante 24 h a temperatura ambiente para favorecer la adsorción. A continuación, los MPs secos se sometieron a una extracción sólido-líquido asistida por ultrasonidos. Los MPs tratados con PAHs se extrajeron con hexano, mientras que los MPs puestos en contacto con PFAS se extrajeron con metanol.

Los extractos de PAHs se analizaron mediante GC-MS/MS (Shimadzu, TQ-8040NX) y los extractos de

NOTAS TÉCNICAS

PFAS mediante LC-MS/MS (Shimadzu, LCMS-8060) para su análisis cuantitativo mediante el método de patrón interno. En ambos casos la inyección de los extractos fue directa sin necesidad de preparación de muestra adicional. Las condiciones experimentales se pueden encontrar en la nota de aplicación 1.

Los cromatogramas mostrados en la Figura 1 corresponden al análisis por GC-MS/MS de un patrón de PAHs (2 ng/mL) y al análisis por LC-MS/MS de un patrón de PFAS (0,5 ng/mL), ambos trabajando en modo MRM. Los resultados del estudio se muestran en la misma figura en forma de diagrama de barras. En ellos podemos observar que, si bien todos los PAHs son adsorbidos en todos los MPs ensayados, sólo una parte de los PFAS presentan adsorción sobre los mismos. La diferente adsorción de ambos tipos de compuestos hace pensar que no solo el tipo de MP, sino también las características del compuesto adsorbido, influyen en el grado de transferencia. Un análisis más profundo de este efecto permitió demostrar una rela-

ción directa entre hidrofobicidad del compuesto y grado de adsorción (datos no mostrados).

Caracterización de MPs compuestos por mezclas de plásticos

En la mayoría de los análisis de MPs, nos encontramos con mezclas complejas compuestas por múltiples plásticos. El acoplamiento de un sistema de pirólisis a un cromatógrafo de gases con detección por espectrometría de masas (Py-GC/MS) nos ofrece la posibilidad de detectar e identificar los componentes de mezclas complejas con elevada sensibilidad. La aplicación a continuación descrita ilustra esta posibilidad y muestra la utilidad del empleo de bases de datos con información específica de los polímeros de interés.

Para ello, se preparó una muestra mezclando polímeros de distinta naturaleza para simular una muestra de MPs. Los cuatro polímeros empleados fueron polipropileno (PP), polietileno (PE), poliestireno (PS) y

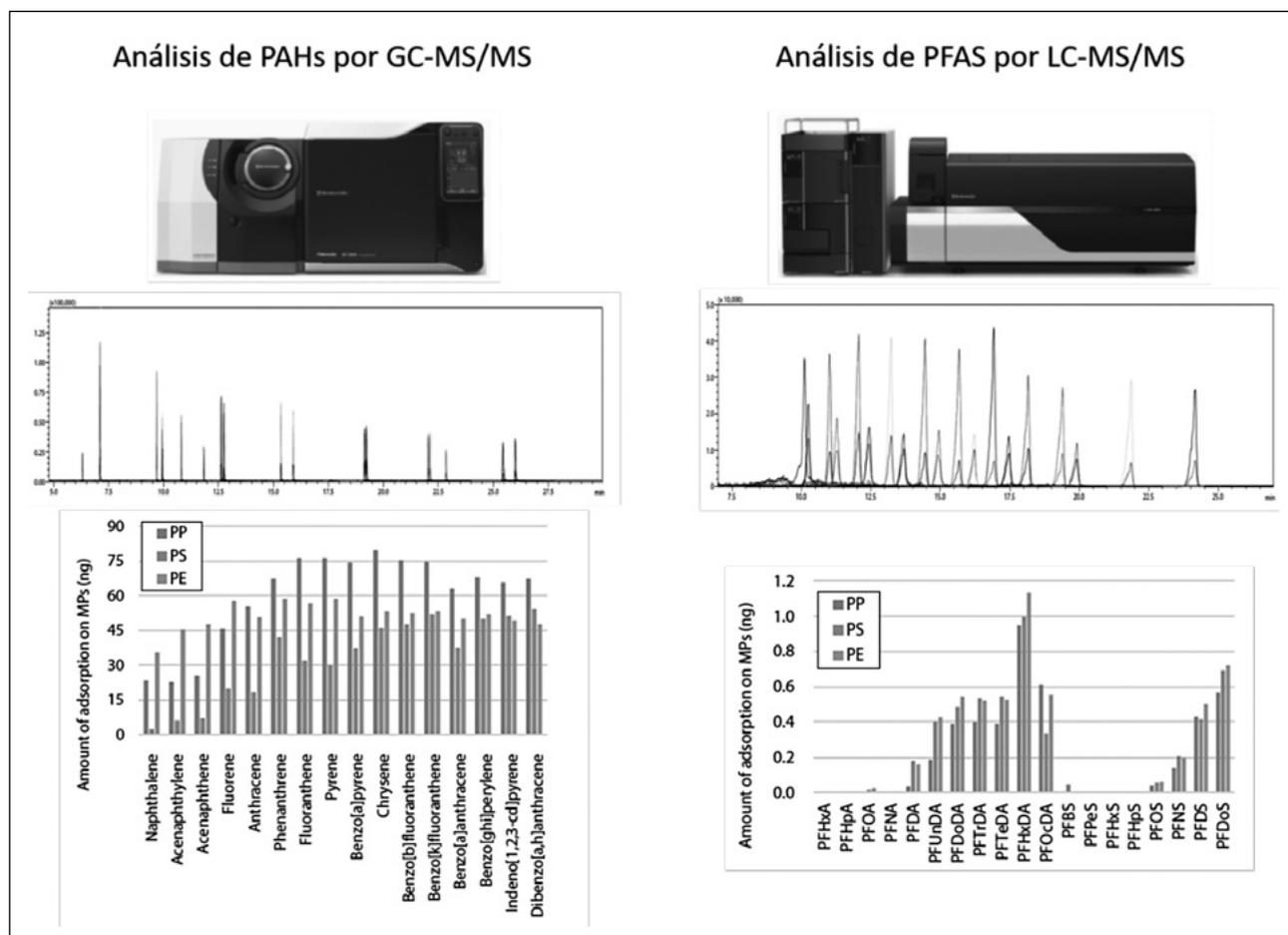


Figura 1. Resultados del análisis de PAHs (GC-MS/MS) y PFAS (LC-MS/MS) adsorbidos en diferentes MPs.

cloruro de polivinilo (PVC). Su análisis cualitativo se llevó a cabo con un instrumento Py-GC/MS de cuádrupolo sencillo (Shimadzu, QP-2020NX) y pirolizador (Frontier Laboratories EGA-Py-3030D). Se introdujeron 0,05 mg de cada polímero en el vaso muestreador del pirolizador para su análisis tras pirólisis a 600 °C. El resto de las condiciones experimentales se pueden encontrar en la nota de aplicación 2.

En la Figura 2 se puede observar el cromatograma resultante en su representación TIC (*total ion current*) tras adquisición en modo SCAN. La elución entrelazada de los productos de pirólisis de los distintos polímeros presentes en la mezcla da como resultado un cromatograma muy complejo que dificulta la identificación de sus componentes. Afortunadamente, la posibilidad de recurrir a la detección específica de masas de productos de pirólisis conocidos de cada polímero, nos permite evaluar la presencia de cada uno de estos polímeros en la mezcla. Para ello, se monitorizaron las señales SIM (*single ion monitoring*), es decir, masas específicas, de ciertos productos de pirólisis de los polímeros de la mezcla (Figura 2). Dicha información fue obtenida de las bases de datos creadas por Shimadzu y suministradas con el equipo. Con ello se pudo confirmar la presencia de cada uno de los polímeros empleados.

Análisis de aditivos contenidos en MPs

El análisis de trazas de aditivos contenidos en polímeros, y por tanto en MPs, está cobrando cada vez más importancia. El control de calidad, la investigación y desarrollo de nuevos materiales poliméricos y el cumplimiento de las fuertes regulaciones en sustancias químicas, son algunas de las razones de esta creciente demanda. En la actualidad, la técnica de análisis con mayor aceptación para este tipo de determinaciones es la pirólisis acoplada a GC/MS y asistida por bibliotecas de espectros específicas para estas aplicaciones. Las bibliotecas genéricas tipo NIST o WILLEY, han demostrado ser insuficientes en muchos casos. Las bibliotecas específicas como la Polymers Additives Library (Shimadzu) o F-Search Library (Frontier Laboratories) tienen en cuenta procesos de transformación química que sufren los aditivos por el calentamiento después de su adición al polímero o por las transformaciones propias de la pirólisis a la que son sometidos para su análisis. El resultado son identificaciones positivas mucho más exactas que con las bibliotecas genéricas.

En este ejemplo, se muestra el análisis de un caucho vulcanizado de identidad desconocida. Aproximadamente 0,5 mg de trozos de caucho de 0,5 mm de

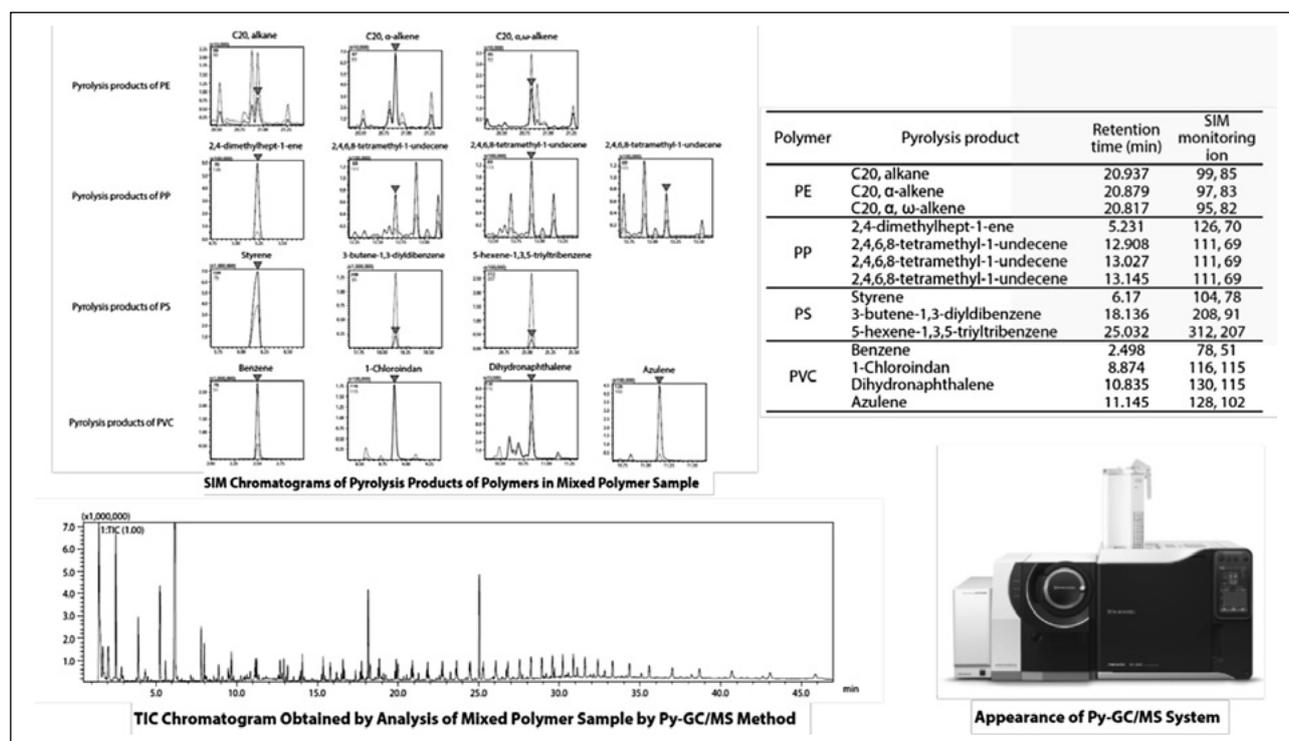


Figura 2. Análisis por Py-GC/MS de una mezcla conocida de polímeros. Cromatogramas TIC (scan entre m/z 29 y 700) y SIM (de productos de pirólisis conocidos).

NOTAS TÉCNICAS

diámetro, se tomaron como muestra para someterla a pirólisis. Las condiciones experimentales se pueden encontrar en la nota de aplicación 3.

Los espectros de masas de los grupos de picos obtenidos en el pirograma se cruzaron con la biblioteca F-Search Polymer. Los resultados revelaron un 96 % de similitud espectral con SBR (Styrene-butadiene rubber). De esta manera se identificó el material base de la muestra.

Adicionalmente, se hizo un análisis por desorción térmica en el propio pirolizador. En esta ocasión la temperatura a la que fue sometida la muestra fue de 340 °C, muy inferior a la de pirólisis. En la Figura 3 podemos ver el cromatograma TIC obtenido. En estas condiciones, se buscaron los aditivos desprendidos del polímero empleando las bibliotecas NIST y Polymer Additives.

Para la mayoría de los aditivos, los resultados de búsqueda en la biblioteca NIST coincidieron con los resultados extraídos de la biblioteca específica Polymer Additives. Sin embargo, los compuestos A, B, C y D (ver Figura 3) mostraron índices de similitud muy bajos con la biblioteca genérica y, por tanto, resultados no definitivos. Para estos últimos compuestos, se hizo imprescindible la biblioteca específica Polymer Additives, que permitió identificar los compuestos con alta similitud de espectro y coincidencia de índices de retención, parámetro también incluido en esta biblioteca. Algunos de los analitos identificados resultaron ser subproductos o derivados de aditivos, y por ello es de

esperar que estos compuestos únicamente estén presentes en bibliotecas específicas que contemplen los compuestos originales y sus posibles transformaciones.

Conclusiones

Las técnicas cromatográficas se presentan como una interesante y potente alternativa para el análisis de MPs. La variedad de sistemas de introducción de muestra, así como de analizadores de espectrometría de masas, permiten abordar el estudio de los MPs de interés y de los compuestos presentes en ellos, tales como aditivos del propio plástico y/o contaminantes adsorbidos. El desarrollo de métodos de análisis y de herramientas para la fácil identificación de dichas especies, supone un gran avance en la aplicación de las técnicas cromatográficas a la problemática de los MPs. Shimadzu ofrece un paquete completo de instrumentos y bases de datos para abordar de la manera lo más sencilla posible cada uno de los tipos de análisis que hoy en día se necesitan para los estudios de MPs.

Bibliografía

1. Shimadzu Application News N° M293. Analysis of Toxic Chemical Substances Adsorbed on Microplastics.
2. Shimadzu Technical Report. Detailed Analysis of an Unknown Polymer Using the Py-GC/MS System with Polymer Additives and F-Search Polymer Libraries.
3. Shimadzu Application News N° M298. Analysis of Mixed Polymer Sample as Microplastics using Pyrolysis GC/MS.

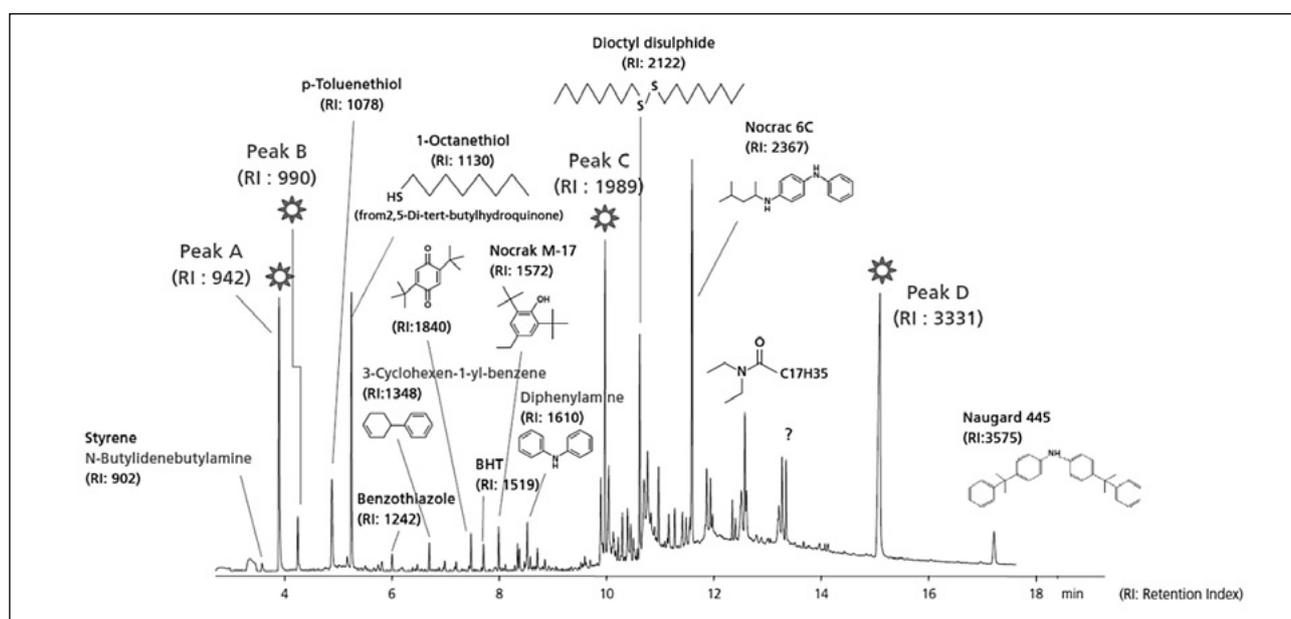


Figura 3. Cromatograma TIC resultante de la desorción térmica de un caucho vulcanizado de origen desconocido.



DETERMINACIÓN DE PESTICIDAS EN PRODUCTOS DE TOMATE MEDIANTE GCxGC-TOFMS

Tomas Kovalczuk, Sebastiano Panto, Nick Jones, Juergen Wendt. LECO European Application & Technology Center, Berlin (Germany)

El tomate es el segundo cultivo vegetal más importante junto a la patata y su producción mundial es actualmente de alrededor de 130 millones de toneladas. Los cinco mayores productores de tomate son China, UE, India, Estados Unidos y Turquía, representando el 70 % de la producción mundial. La mayoría de los tomates frescos se procesan inmediatamente para dar lugar a productos como zumo, puré y pasta, ketchup o salsas o se enlatan enteros. Dado que la presencia de residuos de plaguicidas en estos productos puede causar efectos adversos para la salud, la identificación y cuantificación de plaguicidas es una tarea importante en el contexto de las autoridades de control de alimentos.

Experimental

Los extractos de tomate fueron fortificados a varios niveles de concentración entre 2,5 y 50 ng/mL, es decir, 0,0025–0,05 µg/kg, con una mezcla de 165 residuos de pesticidas. Para la introducción de la muestra se utilizó un sistema de inyección en frío Gerstel CIS4 operando en modo sin división de flujo.

Para los análisis se empleó un sistema LECO PEGASUS® BT 4D GCxGC-TOFMS equipado con un modulador térmico criogénico de dos etapas y un horno secundario (Tabla 1). La ampliación a GCxGC, con una segunda dimensión de separación complementaria, proporciona una distinción adicional entre las muestras debido al aumento de la capacidad de pico y el descenso de los límites de detección. Estos beneficios permiten la separación efectiva de los plaguicidas de las interferencias de matriz a menudo asociadas con los productos vegetales. Esto se combina con la capacidad de alcanzar los límites de detección requeridos

gracias a la sensibilidad proporcionada por el LECO PEGASUS® BT.

Resultados y discusión

Los datos adquiridos fueron procesados con el software ChromaTOF®, que utiliza de forma automatizada el paquete NonTarget Deconvolution® para la búsqueda e identificación mediante comparación con librería de los picos de pesticidas y contaminantes involucrados. En la figura 1a se muestra el gráfico de contorno del cromatograma bidimensional de un extracto de tomate fortificado (50 ng mL⁻¹) con señalizadores de pico. Más de 2.100 picos fueron encontrados con una similitud mayor o igual a 800 (i.e. 80 %).

El gráfico de contorno también ilustra la aplicación de un período de modulación variable; como resultado, la segunda dimensión muestra períodos de 4 y 5 segundos. El alargamiento del período de modulación en la 2.ª dimensión, así como un incremento del tiempo del pulso caliente, facilita la optimización del método de análisis por GCxGC.

Tabla 1. Parámetros experimentales del método de GCxGC-TOFMS.

GC	Agilent 7890
Inyección	Gerstel CIS4 inyector; 1 µL inyección fría sin división de flujo (SL); 40 °C (6 s), 10 °C s ⁻¹ hasta 275 °C (28 min); SL período: 2 min
Columnas	1D: HP-5MS UI, 30 m × 0,25 mm i.d. × 0,25 µm espesor (Agilent) 2D: Rxi-17Silms, 1,5 m × 0,15 mm i.d. × 0,15 µm espesor (Restek)
Carrier Gas	He @ 1,2 mL min ⁻¹ hasta 46 min, 5mL/min hasta 2,5 mL (19.8 min)
Programa del horno	75 °C (2,05 min), rampa 5 °C min ⁻¹ hasta 320 °C (15 min)
Horno secundario	+5 °C (relativa a la temperatura del horno principal)
Modulador	+15 °C (relativa a la temperatura del horno secundario)
Período modulación	4 s (0-862 s), 5s (862-final)
Línea transferencia	340 °C
MS	LECO PEGASUS® BT 4D
Temp. fuente iones	250 °C
Rango masas	40-600 m/z
Velocidad de adquisición	250 espectros/s

NOTAS TÉCNICAS

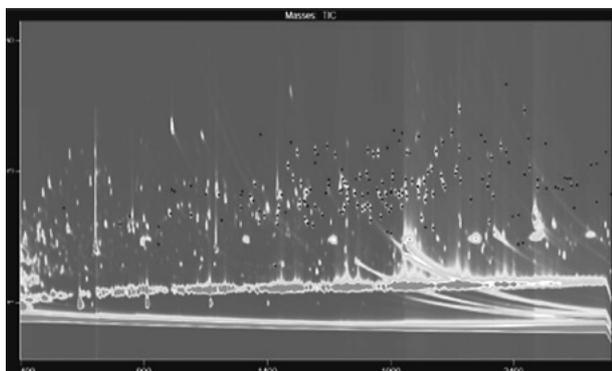


Figura 1a. Gráfico de contorno de un extracto de tomate fortificado con 50 ng/mL de mix de pesticidas.

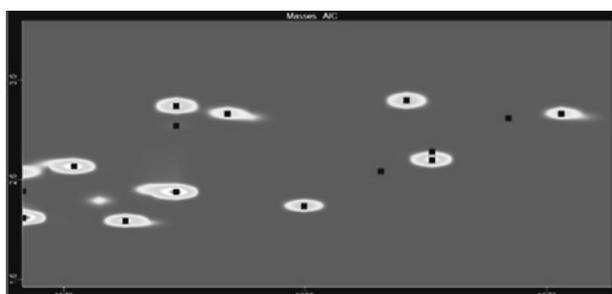


Figura 1b. Ejemplo del poder de resolución mejorado de GCxGC.

Un ejemplo del poder de resolución de GCxGC se muestra en la figura 1b. Resalta el poder de separación en el eje "Y" del gráfico de contorno. En una separación monodimensional, pesticidas como δ -Lindane, Paraoxon metil y Disulfoton coeluirían; sin embargo, estos compuestos aparecen completamente resueltos por la separación en la segunda dimensión.

La calibración y cuantificación con TOFMS son similares a las que se llevarían a cabo en espectrómetros de masas cuadrupolares o de sector magnético, registrando iones seleccionados. El PEGASUS® BT siempre proporciona datos a rango de masa completo que pueden ser procesados en modo de análisis no dirigido (NonTarget Deconvolution® (NTD®)) o análisis dirigido (Target Analyte Find® (TAF®)) para propósitos cuantitativos. La detección de compuestos target como punto inicial del establecimiento de una curva de calibrado debe seguir las directrices de la normativa SANTE/11813/2017 para instrumentos TOFMS de resolución nominal (http://www.eurl-pesticides.eu/docs/public/tmp1_article.asp?CntID=727) (figura 2).

Para el establecimiento de las curvas de calibrado (figura 3), se analizaron extractos de tomate fortificados con pesticidas en un rango de concentración de 5 a 50 ng mL⁻¹ (ppb). Todos los analitos se cuantificaron mediante calibración externa, usando como pa-

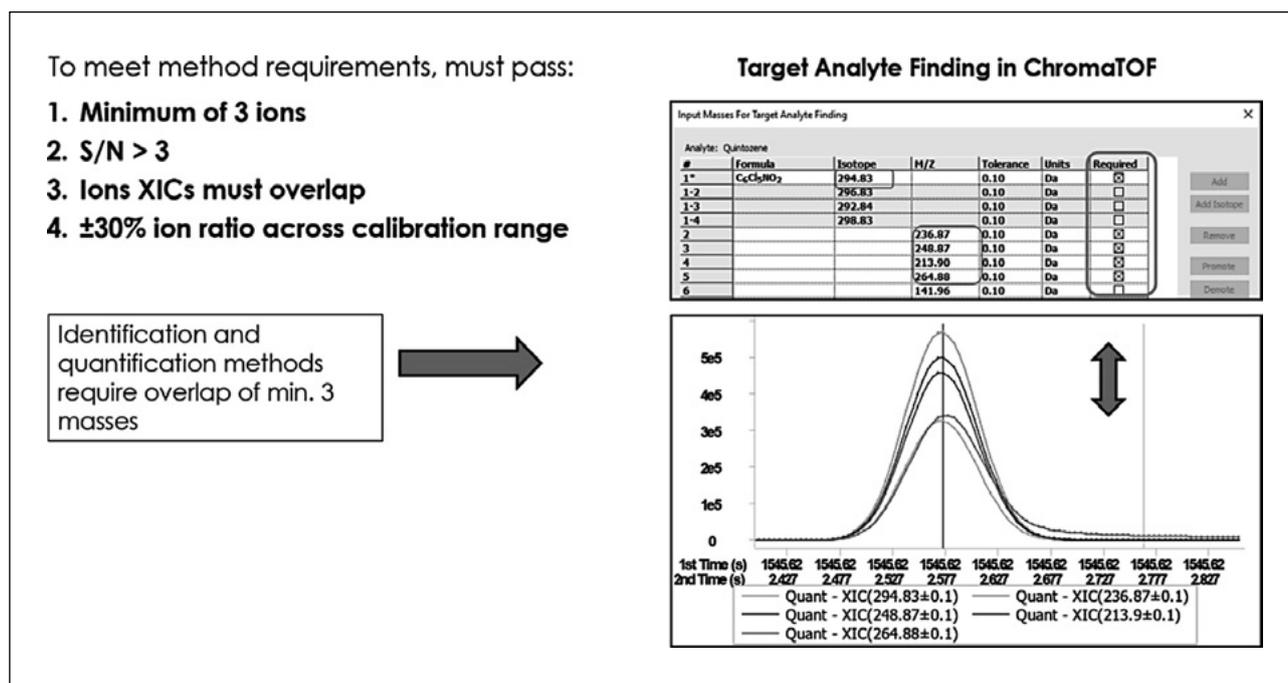


Figura 2. Normas SANTE para la identificación y cuantificación de analitos target.

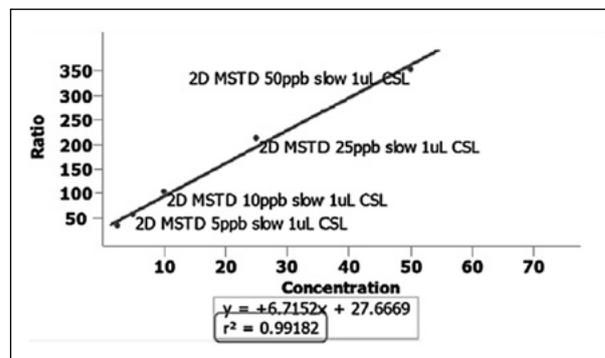
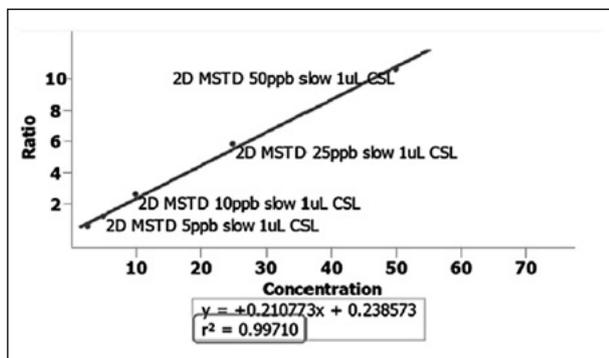


Figura 3. Cuantificación de todos los analitos mediante calibración externa con hexaclorobenceno como patrón interno.

trón interno hexaclorobenceno, y dando lugar a curvas de calibrado lineales con excelentes coeficientes de correlación (R^2).

Conclusiones

GC×GC-TOFMS. La cromatografía bidimensional completa (GC×GC) mejoró la separación general de todos los pesticidas individuales, evitando coeluciones con otros pesticidas targets o con compuestos interferentes de la matriz.

CUANTIFICACIÓN. Se desarrolló un trabajo de cuantificación para la determinación de una lista de pesticidas en extractos de tomate por medio del sistema PEGASUS® BT (GC×GC-TOFMS) de LECO. Todos los pesticidas han sido correctamente calibrados usando

do una curva de calibración externa mediante patrones con ajuste matricial, obteniéndose curvas de calibración lineales con excelentes coeficientes de correlación (R^2).

SENSIBILIDAD. Desde el punto de vista de la sensibilidad, se ha probado que el instrumento es capaz de detectar y cuantificar a niveles bajos de ppb (ej. 2,5 ppb) con una inyección fría de 1 μ L en modo sin división de flujo para la mayoría de los compuestos. El nivel inferior de calibración para la mayoría de los compuestos es fácilmente de 1 ppb.



scion
INSTRUMENTS

SIMULTANEOUS ANALYSIS OF COMBINATION DRUGS BY HPLC-DAD

Introduction

Both prescription drugs and over the counter medications contain a single active pharmaceutical ingredient

(API), the biologically active substance that treats illnesses. Often, more than one API is used in combination to treat symptoms. The demand for accurate qualitative and quantitative methods for the analysis of combination drugs is increasing in a variety of industries. During manufacturing of pharmaceuticals, the level of active ingredient must be accurately controlled. Long term users of combination drugs must also be monitored to ensure the individual is not at risk of overdose and/or long term side effects associated with chronic exposure to the APIs. Most importantly, the analysis of combination drugs is vital for any toxicology laboratory, especially when the target analytes are common in overdose cases.

NOTAS TÉCNICAS

SCION Instruments has developed a HPLC-DAD method for the simultaneous determination of two common over the counter medications: Ibuprofen and Paracetamol. Both Ibuprofen and Paracetamol are commonly used to treat the common cold or minor aches and pains. The Diode Array Detector enables the identification of these two APIs in a single injection by selecting the specific wavelengths for the two target compounds, as well as by using the absorbance spectra for further confirmation. Targeting the compounds by setting of specific wavelengths ensures maximum absorbance and, therefore, the enhancement of identification.

Experimental

A SCION HPLC with Diode Array Detector was used for the analysis of Ibuprofen and Paracetamol, as shown in Figure 1.



Figure 1. SCION HPLC-DAD.

CompassCDS software was used for the control of the whole analysis including method acquisition, data interpretation and reporting of results. Calibration standards containing both Ibuprofen and Paracetamol were prepared at the following concentrations: 10, 50, 100, 200 and 400 mg/L in methanol. Over the counter Ibuprofen and Paracetamol were purchased and prepared as follows: one tablet of each were dissolved in 100 mL of the mobile phase (phosphoric acid buffer/ methanol (30:70, %)) before being sonicated and diluted with another 100 mL of mobile

phase. The sample was then centrifuged for 10 minutes at 3000 rpm, before being filtered through a 0.2 μm filter and transferred to a HPLC autosampler vial. For blood sample, a previous liquid-liquid extraction was performed prior to analysis. Analytical conditions for this analysis can be found in Table 1.

Table 1. Analytical conditions of HPLC-DAD.

Conditions	
Column	C18 5 μm \times 4.6 mm \times 150 mm
Column Temperature	25°C
Mobile Phase	A: Phosphoric Acid Buffer, B: Methanol
Gradient	0-6 minutes: 30 % A, 70 % B 6-15 minutes: 10 % A, 90 % B
Flow Rate	1 mL/min
Detection Wavelength	220-400 nm (Ibup: 237 nm, Parac: 254 nm)
Injection Volume	20 μL

Results

The linearity of the HPLC system was tested using analytical standards of Ibuprofen and Paracetamol over the 10-400 mg/L concentration range. The specific wavelengths of both Ibuprofen and Paracetamol were set at the Diode Array Detector. Figure 2 shows the calibration curves of both target analytes at the maximum absorbance wavelengths.

The SCION HPLC exhibited excellent linearity over the concentration range of 10-400 mg/L for both target compounds, each with a R^2 value of 0.9994. Following the injection of calibration curves, the sample containing the Ibuprofen and Paracetamol tablet extract was analysed. Figure 3 shows the stacked chromatograms of both target compounds at their specific wavelengths.

Ibuprofen shows the maximum sensitivity at the wavelength of 237 nm, whereas Paracetamol has an absorbance maximum at 254 nm. Using the multi-wavelength capability of the Diode Array Detector, it was possible to detect both target compounds in a single injection, in less than 12 minutes. The concentration of both target compounds was determined using the respective calibration curves. The quantitative value for Ibuprofen was 34.11 mg/L whilst the Paracetamol content was found to be 39.24 mg/L.

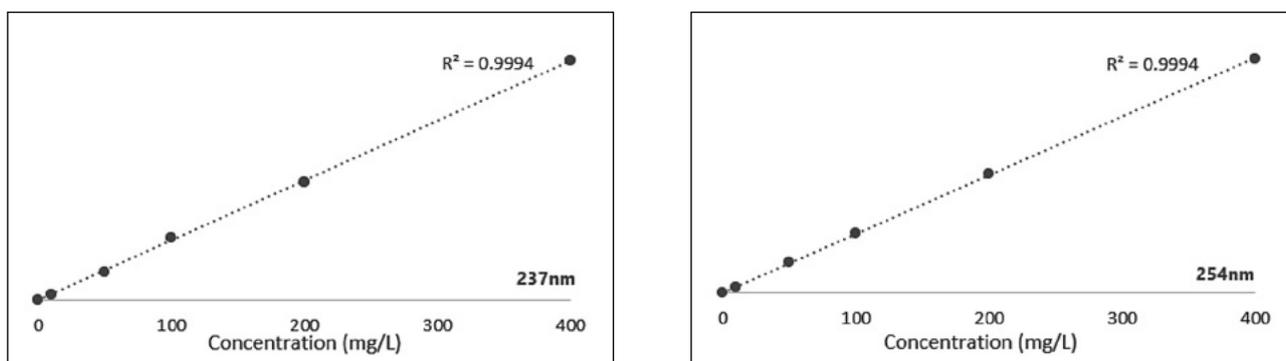


Figure 2. Calibration curves of Ibuprofen at 237 nm and Paracetamol at 254 nm.

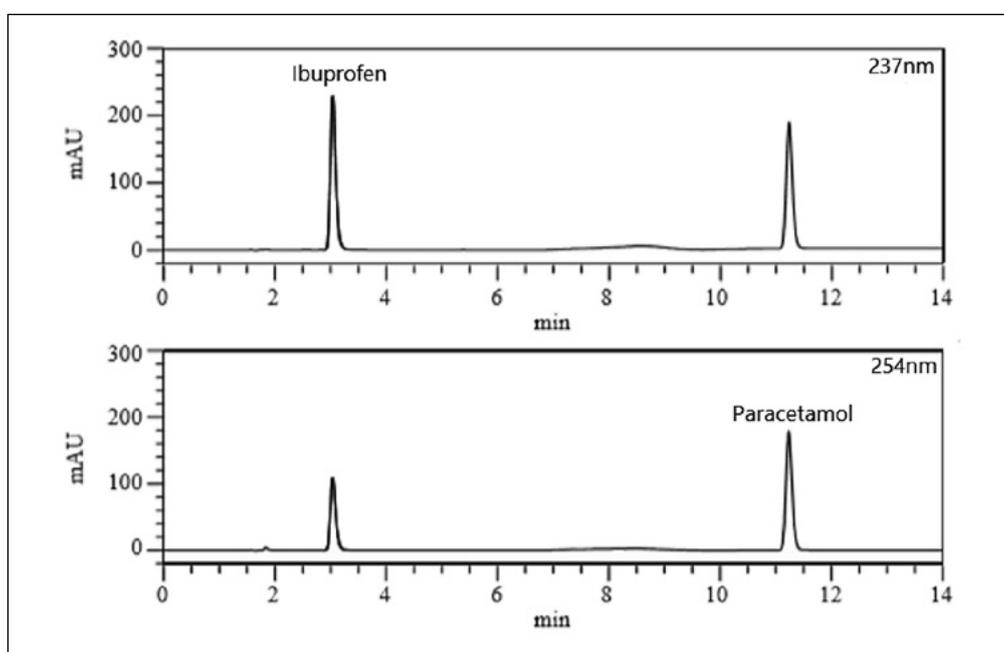


Figure 3. Stacked chromatograms of target compounds at their specific absorbance wavelengths.

For further identification and confidence in results, the absorbance spectra of the target compounds were also compared with a spectral library. Figure 4 shows the absorbance spectra of both Ibuprofen and Paracetamol.

CompassCDS software was used for the spectral library comparisons, in which an in house reference library was used. Figure 4 shows the overlay of the absorbance spectra generated during both the sample analysis and the reference standard, in which both Ibuprofen and Paracetamol exhibited a 100 % match, thus confirming the positive identification of both target compounds.

Repeatability of the system was evaluated with six consecutive injections of the 10 mg/L calibration standard. Figure 5 shows the overlaid chromatograms for both Ibuprofen and Paracetamol.

Excellent repeatability of the 10 mg/L analytical standard was observed over six consecutive injections; with a RSD of 0.27 % for Ibuprofen at 237 nm and 0.18 % for Paracetamol at 254 nm. Retention times were also stable and reproducible with RSD values of 0.06 % and 0.04 %, respectively. The excellent repeatability and linearity observed demonstrate the robustness of the SCION HPLC system.

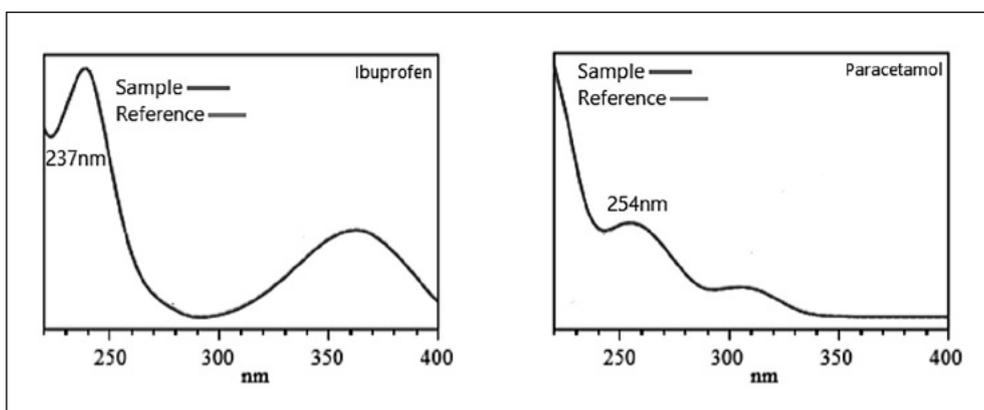


Figure 4. Absorbance spectra comparison of both Ibuprofen and Paracetamol.

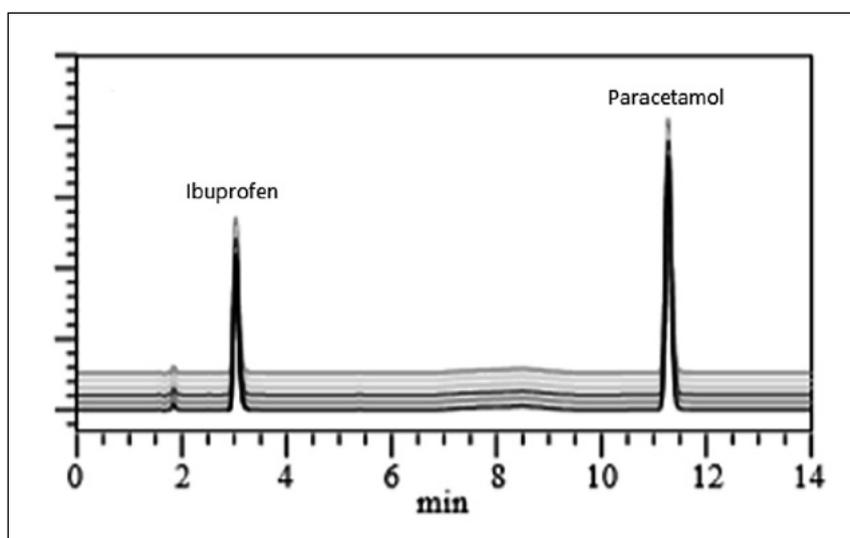


Figure 5. Overlay of 10 mg/L analytical standard chromatograms (n = 6).

Conclusion

SCION Instruments has developed a fast and accurate method for the simultaneous identification and quantitation of combination drugs by HPLC-DAD. This method is critical to numerous industries including pharmaceutical and for toxicology laboratories. With a single injection and using the multi-wavelength capabilities of the Diode Array Detector, it was possible to clearly separate Ibuprofen and Paracetamol, two commonly used over the counter medications, in less than

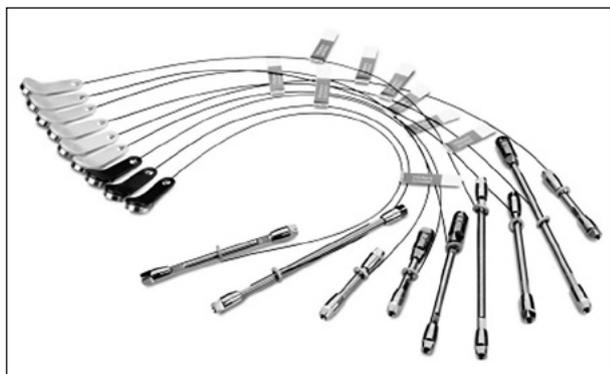
12 minutes. Compound identification was further confirmed through spectral absorbance comparisons using CompassCDS. Excellent linearity and repeatability of the SCION HPLC-DAD was demonstrated, respectively, by the high R^2 and low RSD values obtained.

NOVEDADES TÉCNICAS

Waters™

LAS NUEVAS COLUMNAS ACQUITY PREMIER DE WATERS ESTABLECEN UN NUEVO ESTANDAR DE RENDIMIENTO PARA LOS ANÁLISIS CROMATOGRÁFICOS

El pasado mes de octubre Waters Corporation lanzó las Columnas ACQUITY™ PREMIER, una nueva familia de columnas de sub-2-micras que incluyen la tecnología MaxPeak™ HPS (Superficie de alto rendimiento - High Performance Surface). Las columnas son para uso en sistemas UHPLC de cualquier marca y pueden mejorar considerablemente la calidad de los datos al mitigar la pérdida de analitos de la muestra debida a interacciones analito-superficie. Diseñadas para los laboratorios analíticos que buscan ejercer un mayor control sobre sus separaciones cromatográficas, las columnas mejoran el rendimiento, la reproducibilidad de ensayo a ensayo y la confianza general en los resultados analíticos.



Las columnas ACQUITY PREMIER de Waters son ideales tanto para moléculas pequeñas como para aplicaciones biofarmacéuticas. Están disponibles en varios tamaños y se fabrican con tecnologías de partícula sub-2 micras de confianza: tecnología híbrida con puentes de etileno (BEH), para una mayor estabilidad de la columna, tecnología híbrida con carga superficial (CSH), la mejor elección para análisis con espectrometría de masas, y tecnología de partículas de sílice de alta resistencia (HSS) para una mejor retención para el análisis de compuestos polares difíciles.

Según Erin Chambers, Vice Presidente de la división de consumibles de Waters Corporation: "La pér-

didada de analitos debida a adsorciones no específicas es un problema significativo que merece más atención a causa del coste que supone el trabajo perdido y la pérdida de productividad. En la mayoría de casos, los científicos ni siquiera saben qué se está perdiendo. Hay soluciones, pero conllevan otros problemas. Así que retamos a nuestros ingenieros a dar con una solución innovadora para eliminar uno de los mayores impedimentos para conseguir resultados de calidad. Nuestras columnas ACQUITY PREMIER corrigen un problema que lleva mucho tiempo asociado a los análisis cromatográficos y permiten a los científicos a crear mejores métodos analíticos, tanto a nivel cuantitativo como a nivel cualitativo, para aplicaciones de investigación, desarrollo o de control de calidad."

A la altura del desafío

Las columnas ACQUITY PREMIER de Waters™ están fabricadas con la tecnología MaxPeak HPS, una tecnología de superficie híbrida orgánica/inorgánica que forma una capa protectora en la superficie entre la muestra y el acero inoxidable de la columna. Esta tecnología tiene varios beneficios, entre ellos:

- Aumento de la sensibilidad para analitos que se adhieren a superficies metálicas con niveles de concentración bajos, que con otro tipo de columna no se verían o detectarían.
- Mejor forma de pico y capacidad de pico que permiten realizar una identificación de analitos y una interpretación de los datos más precisa
- Mayor reproducibilidad para separaciones propensas a pérdidas debidas a adsorción, lo que implica menos reanálisis o necesidad de resolver problemas, a la vez que aumenta la confianza en los resultados.

Del reto a la oportunidad

El lanzamiento de las columnas ACQUITY PREMIER arroja luz sobre un problema conocido entre los científicos: la adsorción de los analitos de las muestras en las paredes interiores metálicas de las columnas. Esto supone un problema significativo cuando se analizan analitos que se unen fácilmente a superficies metálicas, desde ácidos orgánicos y organofosfatos a oligonucleótidos, péptidos, glicanos y fosfolípidos. Muchas empresas tienen que invertir días y decenas de miles de euros de un producto precioso (p.ej. oligonucleó-

NOVEDADES TÉCNICAS

tidos) solo para acondicionar una columna LC antes de un análisis para minimizar las pérdidas de analitos por absorción.

Las columnas ACQUITY PREMIER de Waters son ideales tanto para aplicaciones de molécula pequeña como biofarmacéuticas y se fabrican con tecnologías de partícula sub-2-micras de confianza: tecnología híbrida con puentes de etileno (BEH), para una mayor

estabilidad de la columna, tecnología híbrida con carga superficial (CSH), la mejor elección para análisis con espectrometría de masas, y tecnología de partículas de sílice de alta resistencia (HSS) para una mejor retención para el análisis de compuestos polares difíciles.

Para más información visite nuestra página web www.waters.com



COLUMNAS KROMAPHASE IONIC

La cromatografía iónica es uno de los métodos más usados en el análisis de trazas de aniones y cationes. Es una técnica básica e imprescindible para el análisis de aguas y muestras medioambientales.

La cromatografía iónica se basa en el uso de columnas rellenas con resinas de intercambio iónico. Las resinas del interior de la columna interactúan con las muestras iónicas y los iones presentes se separan como consecuencia de las diferentes interacciones que tienen lugar.

Scharlab presenta su nueva línea de columnas **KromaPhase Ionic**, una línea de columnas para separaciones aniónica y catiónica.

Las columnas **KromaPhase Ionic** son aptas para intercambio de aniones con y sin supresión. La gama de columnas iónicas **Scharlau** están fabricadas con resinas de poliestireno divinil benceno de alta calidad con diferentes funcionalidades para ofrecer resultados fiables y precisos, así como una larga vida útil.



Descargue el folleto aquí:



F-IONES20

Scharlab, S.L.

Gato Pérez, 33. Pol. Ind. Mas d'en Cisa.

08181 Sentmenat, Barcelona, Spain

Tel.: +34 93 745 64 00 - Fax: +34 93 715 27 65

e-mail: consultas@scharlab.com

NORMAS DE PUBLICACIÓN

La revista *Cromatografía y Técnicas Afines (CTA)* (ISSN 1132-1369) es el boletín de la Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines (SECyTA) cuya función es la de ser un medio de comunicación entre sus miembros, los profesionales que trabajan en cromatografía y técnicas relacionadas y las empresas del sector.

CTA CONSTA DE LAS SIGUIENTES SECCIONES:

1. Editorial.
2. Artículos científicos.
3. Noticias de la SECyTA (información relacionada con próximas actividades y reuniones de la SECyTA, y con cualquier tema que afecte a los socios de la misma).
4. Informaciones (congresos, reuniones, cursos, nuevas tesis doctorales y otros acontecimientos de interés).
5. Información bibliográfica (reseña de artículos científicos y libros).
6. Novedades y notas técnicas (sección de información de los nuevos productos y/o aplicaciones de las empresas colaboradoras con la SECyTA).
7. Correspondencia (preguntas y respuestas sobre problemas concretos de los lectores de *CTA*).

ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

CTA publica artículos relacionados con técnicas analíticas (de separación, de identificación, etc.), bien sobre investigaciones en las propias técnicas o sobre aplicaciones de las mismas. Los autores de los artículos recibirán una compensación económica (**300 euros**) por cada artículo publicado en *CTA*.

Normas generales de publicación

Para publicar artículos en *CTA* **no** es necesario ser socio de la SECyTA.

El idioma de la revista y, por tanto de escritura de los artículos, es el castellano, aunque se admiten también artículos en inglés.

Los artículos pueden ser de los siguientes tipos:

- Trabajos originales de investigación.
- Revisiones bibliográficas.
- Artículos de divulgación.
- Series monográficas.

Los trabajos deberán estar escritos a doble espacio, con un tamaño de fuente de 10 ó 12 pt y cada página deberá ir numerada. El tamaño de los trabajos

estará comprendido entre 10 y 30 hojas (DIN A4) incluidas tablas, figuras y bibliografía y deberán enviarse por e-mail a cualquiera de las siguientes direcciones:

mlsanz@iqog.csic.es, ana.ruizcsic.es,
acsoria@iqog.csic.es, mario@iqog.csic.es

Los trabajos de investigación no deberán haberse publicado previamente. Antes de su publicación todos los trabajos serán revisados por especialistas en el tema, quienes juzgarán la conveniencia de su publicación o propondrán a los autores las modificaciones oportunas.

Título: Deberá ser conciso y reflejar el contenido del trabajo. A continuación se citará el nombre de los autores con la dirección completa de cada uno de ellos, incluyéndose también el correo electrónico y teléfono del autor al que deberá remitirse la correspondencia.

Resumen: De 100 a 150 palabras reflejando de forma clara y concisa el propósito y los resultados más relevantes del artículo.

Texto principal: los trabajos originales de investigación seguirán el formato tradicional, incluyendo **Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones y Bibliografía.**

Bibliografía: Las referencias bibliográficas aparecerán en el texto entre paréntesis con el apellido de los autores y el año (e.g. Bianco y Edwards, 2008). Si son más de dos autores, se citará el apellido del primero seguido por “y col.,” y el año de publicación (e.g. García-Pérez y col., 2007). Si se citan varias referencias juntas se separarán por punto y coma (e.g. Smith y col., 1980; Brit y col., 1985). Al final del artículo las referencias serán ordenadas por orden alfabético con el siguiente formato:

- 1) Hirota, T., Ohki, K., Kawagishi, R., Kajimoto, Y., Mizuno, S. *Hypertens. Res.* 2007 (30), 489-496.
- 2) Venter, J. C. “The Emission of Sulfur to the Remote Atmosphere” en *The Biogeochemical Cycling of Sulfur and Nitrogen* (Eds. J. N. Galloway y col.). D. Reidel Publishing Co., Dordrech, Holland (1985), p. 346.

Tablas: Se enviarán con un breve encabezamiento y numeradas según el orden de aparición en el texto.

Figuras: Se enviarán en un archivo diferente, separadas y numeradas por orden de aparición en el texto. Las leyendas deberán incluirse al final del artículo a continuación de la bibliografía.

NUEVAS TESIS DOCTORALES

En esta sección se incluyen resúmenes en español de las Tesis Doctorales que se han defendido en los últimos 12 meses. La extensión no debe ser superior a 300 palabras incluyendo título de la tesis, lugar y fecha de defensa y directores de la misma. Sería conveniente incluir una foto del doctor.

El número de resúmenes estará condicionado al espacio disponible para esta sección dentro del Boletín.

INFORMACIÓN BIBLIOGRÁFICA-ARTÍCULOS DE INTERÉS

En esta sección se incluye una revisión de tres artículos recientes y de diferentes autores sobre un tema de interés dentro del ámbito de la cromatografía y técnicas afines. Estas contribuciones serán remuneradas con **75 euros**.

NOTAS TÉCNICAS

Las empresas colaboradoras de la SECyTA pueden contribuir en esta sección con información técnica (nuevos desarrollos, aplicaciones, etc.) en el campo de la cromatografía y técnicas afines. Deberán remitirse a la redacción de *CTA* con anterioridad a los días **1 de mayo** (para el primer número) y **1 de noviembre** (para el segundo).

NOVEDADES TÉCNICAS

Las empresas colaboradoras de la SECyTA disponen en cada número de una página gratuita para informar sobre las novedades de sus productos. La extensión máxima de los originales será 3 DIN A4 mecanografiados a doble espacio, pudiéndose incluir algunos gráficos y fotografías en blanco y negro (no más de tres). Los plazos de envío serán los indicados en las Notas técnicas.

PUBLICIDAD

Cualquier empresa puede publicar anuncios de sus productos, teniendo las empresas colaboradoras de la SECyTA descuentos sobre las tarifas generales.

La adjudicación de los espacios disponibles destinados a publicidad se realizará por riguroso orden de petición.

OTRAS SECCIONES

CTA agradecerá toda la información que reciba de sus lectores sobre asuntos de interés general dentro del campo de la cromatografía y técnicas afines (cursos, conferencias, congresos, ofertas de trabajo, informes sobre el trabajo de grupos españoles y extranjeros, reseñas de libros o cualquier tipo de colaboración).

A su vez, *CTA* publicará, en la medida de lo posible, respuestas de especialistas a todas aquellas cuestiones concretas que formulen los lectores en relación con sus problemas en el laboratorio o con asuntos relacionados en general con la cromatografía y técnicas afines.

Para cualquier cuestión relacionada con *CTA* pueden ponerse en contacto con:

Dra. Ana Cristina Soria Monzón

Instituto de Química Orgánica General, CSIC.
Juan de la Cierva, 3. 28006 Madrid.
Tel.: +34 912 587 559
acsoria@iqog.csic.es

Dra. Ana Isabel Ruiz Matute

Instituto de Química Orgánica General, CSIC.
Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid.
Tel.: +34 912 587 559
ana.ruiz@csic.es

Dra. Mariluz Sanz Murias

Instituto de Química Orgánica General, CSIC.
Juan de la Cierva, 3. 28006 Madrid.
Tel.: +34 912 587 559
mlsanz@iqog.csic.es

Dr. Mario Fernández Martín

Instituto de Química Orgánica General, CSIC.
Juan de la Cierva, 3. 28006 Madrid.
Tel.: +34 912 587 559
mario@iqog.csic.es



SCIEX 7500 System

Powered by SCIEX OS Software



GO **BEYOND.**

GO BEYOND the current limits of sensitivity, productivity targets, ruggedness and robustness challenges. **GO BEYOND** with the SCIEX Triple Quad™ 7500 LC-MS/MS System – QTRAP® Ready.

SCIEX
The Power of Precision

