

CROMATOGRAFÍA Y TÉCNICAS AFINES

SECYTA

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
CROMATOGRAFÍA
Y TÉCNICAS AFINES

29
BOLETIN DE LA SECYTA
VOLUMEN 29 NÚM. 2 (2008)
WWW.SECYTA.ORG



VERTEX Technics, S.L.



HPLC ULTRA RÁPIDA: RSLC

- **SEPARACIONES ULTRA RÁPIDAS**
Permite flujos de hasta 5mL/min y presiones de hasta 800 bares de forma simultánea
- **DETECTOR DIODO ARRAY**
Adquisición de datos a 100Hz durante todo el espectro tridimensional



BARCELONA 932 233 333 - MADRID 913 240 014 - BILBAO 944 471 999 - VIGO 986 200 366 - VALENCIA 961 352 191 S.A.T. 902 19 97 92

www.vertex.es

CROMATOGRAFÍA Y TÉCNICAS AFINES

Madrid, Diciembre de 2008 Vol. 29, núm. 2

ISSN 1132-1369

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

ÍNDICE

42	EDITORIAL
43	ENTREVISTA: Manuel Dabrio Bañuls, <i>de especialista a maestro</i>
	ARTÍCULOS
44	Aplicaciones ómicas de la electroforesis capilar <i>por Carlos León, Virginia García-Cañas y Alejandro Cifuentes</i>
59	Columnas monolíticas de base sílice: propiedades, preparación, modificaciones químicas y aplicaciones en cromatografía de líquidos <i>por Óscar Núñez</i>
	NOTICIAS DE LA SECyTA
78	VIII Reunión Científica de la SECyTA
80	Premios “José Antonio García Domínguez”
83	Homenaje a varios socios
85	VIII Asamblea General de la SECyTA
88	Nuevos socios
	INFORMACIONES
90	Congresos celebrados
91	Calendario de Actividades
	INFORMACIÓN BIBLIOGRÁFICA
92	Artículos de interés
	DE NUESTRAS EMPRESAS COLABORADORAS
96	Novedades técnicas
101	IMPRESOS DE SOLICITUD DE AYUDAS PARA CONGRESOS

Redacción: Lourdes Ramos (lramos@iqog.csic.es),
María Luz Sanz (mlsanz@iqog.csic.es)
Instituto de Química Orgánica General (CSIC).
Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid. Tel. 91 562 29 00
Fco. Javier Moreno (j.moreno@ifi.csic.es)
Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC)
Juan de la Cierva 3, 28006. Madrid. Tel. 91 562 29 00

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

Comité Editorial: I. Martínez Castro, A. Cifuentes, E. Ibáñez

Depósito legal: M-1902-1975

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

Diseño de portada: Pau de Riba

Los autores son responsables del contenido de sus artículos.

2009, CROMATOGRAFÍA ANTI-CRISIS

Queridos amigos y amigas,

Como sabéis, la SECyTA se hizo cargo de la organización de las XII Jornadas de Análisis Instrumental, que se celebraron dentro del marco de Expoquimia, en Barcelona, en los días 21-23 de octubre de 2008. Esta reunión ya tiene más de 30 años de historia y era la primera vez que nuestra organización se encargaba de las JAI, después del nuevo modelo de gestión de esta reunión acordado con la Feria de Barcelona. Creo que podemos estar satisfechos de los resultados obtenidos. Muchos asistentes, Expoquimia y representantes de otras sociedades químicas y de química analítica felicitaron a la SECyTA por el funcionamiento y el nivel alcanzado. Se trata de un éxito de todos. En esta ocasión, las JAI tuvieron amplia resonancia en los medios de comunicación, en parte por la participación de Kurt Wüthrich (premio Nobel de Química en el año 2002) y otros destacados científicos. También hay que subrayar el gran interés de Phillip Marriot, pionero en el desarrollo del GCxGC, por la reunión, a la que asistió todos los días.

Aprovechando el buen ambiente de la misma, en la cena de la reunión se organizó un homenaje a varios especialistas que han tenido una trayectoria destacada en cromatografía y espectrometría de masas. Dicho homenaje se realizó en colaboración con la Sociedad Española de Espectrometría de Masas (SEEM). En el caso de la SECyTA, el homenaje se centró en Jenaro Bermejo Mayoral, María Dolores Cabezudo, Manuel Dabrio Bañuls, Lluís Eek Valcells, Francesc Farré-Rius, Miquel Gassiot Matas, Carmen Polo Sanchez, Josep Rivera Aranda, José Antonio García-Dominguez, Luís Gascó Sánchez y M^a Josefa Molera, a los que se les entregó una medalla conmemorativa. La SEEM hizo entrega de una escultura a Josep Rivera Aranda. Creo que fue un acto emotivo en el que, por primera vez en más de 30 años de existencia (como GCTA y SECyTA), se rendía un homenaje a nuestros socios destacados. Se trata de un reconocimiento a la labor que éstos desarrollaron durante muchos años y que ha propiciado que los que hemos venido detrás hayamos podido continuar el trabajo iniciado en este campo cuyos resultados han sido tan fructíferos para todos. El homenaje se completó con la entrega de medallas por parte de los tres conferenciantes invitados asistentes, Kurt Wüthrich, Phillip Marriot y Detlef Günther. Todos ellos, especialmente el primero, me agradecieron afectuosamente que les hubiésemos escogido para la entrega de las medallas. En lo sucesivo continuaremos organizando este tipo de eventos para agradecer la labor realizada a los socios destacados.

Pues ahora, ya en el 2009, lo importante es que si hay crisis, ésta no afecte a la cromatografía. De hecho, no debemos olvidar que la cromatografía se desarrolló en España en tiempos mucho más duros, con menos recursos que los actuales y mucho más "críticos". Los socios que acabamos de homenajear constituyen un ejemplo de capacidad de vencer las dificultades ambientales y realizar una labor profesional brillante en este campo.

Pues bien, ya tenemos en marcha la 9^a reunión de la SECyTA (y 38^a reunión desde el inicio del GCTA), que se celebrará en San Sebastián, en los días 28-30 de octubre de 2009. Volvemos a una de las ciudades que en el pasado dejaron un recuerdo imborrable de éxito alcanzado en una reunión de nuestra sociedad. Esperemos que la del 2009 continúe manteniendo en alto esta memoria cromatográfica.

Otro tema que tenemos en marcha es el de la página web. Ésta ha sido reformada considerablemente. Todavía le faltan diversos ajustes pero espero que en breve ya dispongamos de una página renovada.

Con respecto al 2010 y nuestro compromiso de organización de la ISC2010, la Universidad de Valencia nos ha comunicado su interés de actuar como co-organizadora de la misma, lo cual constituye un buen apoyo para ir desarrollando y planificando todos los aspectos de este evento tan importante. De todos modos, nuestro reto inmediato es el 2009 y la reunión de San Sebastián, que se realizará en el Palacio Miramón, un recinto ideal para el intercambio de experiencias y conocimientos entre cromatografistas del mundo académico, de la investigación, empresas y casas comerciales.

Joan O. Grimalt
Presidente de la SECyTA

ENTREVISTA

Manuel Dabrio Bañuls, de especialista a maestro

Lola Cabezudo,
Catedrática de la Universidad de Castilla-La Mancha, jubilada

Siempre me ha interesado poner de relieve las cualidades de quienes las tienen y en el caso de los amigos contribuir, cuando se jubilan, a que las nuevas generaciones los conozcan mejor; en este boletín hay antecedentes de mis primeros ensayos de entrevistadora amateur sobre: Luis Gascó, María Josefa Molera, Concha Llaguno y, posteriormente, el recuerdo amistoso de José Antonio García Domínguez con motivo de su desaparición.

Hoy empiendo la tarea de charlar con Manolo sobre algunos de sus rasgos, no solo por amistad sino por responsabilidad, porque me temo que es demasiado modesto para llamar la atención sobre sí mismo, y les aseguro que vale la pena.

Sevillano a fondo, Licenciado en Ciencias Químicas por la Universidad de Sevilla, Doctor formado en el antiguo Instituto de la Grasa de Sevilla (CSIC), hizo su etapa post-doc en la Escuela Politécnica de París, de la que guarda un profundo recuerdo.

Los jóvenes aprenden en los centros de investigación extranjeros la ciencia propia de su especialidad, así como criterios para la elección y el desarrollo de los temas, y aprenden a vislumbrar la ruta de evolución personal que les conduce a investigador senior. Pues bien, Manolo supo al poco tiempo de llegar a la Politécnica, de boca del Director – Léon Jacqué- que “lo importante no era trabajar muy duro, sino inteligentemente” y los que le conocemos bien hemos visto cómo ésta ha sido su hoja de ruta durante toda su trayectoria científica.

De su investigación predoctoral, necesitada de una Química Analítica mucho más potente que la usual, surgió su interés por dominar la Cromatografía de Gases, lo que le llevó a ser un especialista de renombre, a los quince años de la concesión del Nobel a James y Martin. “El Dabrio”, el libro sobre Cromatografía de Gases escrito en colaboración y aparecido en 1971, ha sido sin lugar a dudas la herramienta indispensable en todos los laboratorios de química analítica de la época y la base de infinidad de aplicaciones en toda clase de cursos y cursillos.

También su investigación predoctoral, le condujo a contar en el futuro con métodos de cálculo mucho más modernos y eficaces y a plantear los ensayos con menos labor y la máxima garantía, de aquí su dedicación a las matemáticas, el diseño de experiencias, ... y los medios informáticos.

Cuando le pregunto a Manolo si ha seguido algún procedimiento especial para la captación de becarios y para su formación confiesa que no, pero que sí ha tenido especial empeño en que sus becarios primero, y luego sus colaboradores fueran autónomos. Se ríe al recordar que

siendo su director de Tesis muy absorbente, optó por convencerle de que siempre las buenas ideas eran suyas (de su director) aunque se le hubieran ocurrido a él. Y con éste entrenamiento, siempre procuró que sus becarios fueran responsables de sus propias ideas, fueran buenas o menos buenas.

En el International Symposium on Chromatography celebrado en Montreux en 1972 se dio la feliz circunstancia de que coincidieron prácticamente todos los expertos en Cromatografía de Gases, especialmente de Barcelona y Madrid, y allí surgió el proyecto de crear un grupo de especialistas de esta técnica y otras afines, cosa que Manolo impulsó en compañía de Miquel Gassiot, como Grupo Especializado de la Real Sociedad Española de Física y Química. Desde entonces, el grupo ha tenido una vida muy floreciente con la participación intensa de los equipos iniciales y de sus sucesores, con unas relaciones sólidas entre las Universidades, el Consejo Superior de Investigaciones Científicas, y las empresas, cuyo exponente más visible son las Jornadas de Análisis Instrumental (JAI).

Dabrio ha sido un gran organizador y como tal no estuvo al margen de la gestión de la investigación en el CSIC: fue el primer coordinador del área de Química, fue el creador de la primera base de datos sobre los medios y necesidades del Área de Química, conducente al diseño de un plan estratégico para 4 años acordado entre todas las unidades afectadas. Y en un ámbito más amplio: primer Director del Instituto de Química Orgánica elegido democráticamente, Vocal de la Comisión científica, Vicepresidente del CSIC, y últimamente Delegado del CSIC en la Comunidad Autónoma de Madrid, desde donde se ha podido ver su impronta en las Semanas de la Ciencia.

Por la época en que le tocó vivir a Manolo Dabrio y a los de su generación es de justicia destacar su colaboración a la venida de la democracia y al logro de la transición en las instituciones públicas de investigación. Su mentalidad de izquierdas le hizo colaborar activamente en la política del PSOE y pertenecer a la UGT. Decisión que no estuvo ajena al riesgo.

Cuando le pido a Manolo consejos para los jóvenes científicos de hoy, me indica: autodisciplina intelectual, aprender y saber y luego publicar, y que mantengan viva la capacidad de aprender; como él que no se siente envejecer a pesar de la jubilación. Se le ve tan él, como siempre, pero con tiempo para leer, oír música, especializarse en Historia Medieval, y jugar al golf.

Muchas gracias, maestro, por todo lo que nos has enseñado.

Aplicaciones ómicas de la electroforesis capilar

Carlos León, Virginia García-Cañas, Alejandro Cifuentes*
 Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC)
 Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid, España.

*Autor para correspondencia: Tel: 34-91-5618806; Fax: 34-91-5644853, e-mail: acifuentes@ifi.csic.es

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente se está utilizando cada vez más la terminación “ómica” para expresar el conjunto de tecnologías de alto rendimiento para la generación, procesado y utilización de la información científica relativa a la composición y funciones del genoma, transcriptoma, proteoma y metaboloma. Estas tecnologías han proporcionado una oportunidad sin precedentes para el estudio de los sistemas biológicos ya que permiten generar y agrupar la información a gran escala con el fin de obtener una visión más completa del sistema biológico en estudio. Desde el comienzo del proyecto Genoma Humano en la década de los 90 (National Academy Press, 1988), las técnicas “ómicas” han experimentado un creciente desarrollo motivado fundamentalmente por la necesidad de mejorar nuestro conocimiento sobre los organismos vivos.

A partir de una búsqueda bibliográfica con las palabras clave Genómica, Proteómica y Metabolómica (concretamente usando las expresiones: genomics, proteomics y metabolomics) en la base de datos Scopus (<http://www.scopus.com>) se pueden obtener varias conclusiones. En primer lugar se observa que los principales campos de investigación en los que se aplican estas técnicas son la biomedicina (hasta un 33% de los artículos de Genómica publicados), las técnicas agroalimentarias (hasta un 17% de los artículos de Metabolómica) y en menor medida otros campos como ciencias ambientales o ciencia de materiales. En segundo lugar, esta búsqueda bibliográfica da una idea de la creciente importancia de estas técnicas en los últimos años, en base al creciente número de artículos publicados anualmente, tal como se puede ver en la Tabla 1. Asimismo, de los números de la Tabla 1 se puede deducir que la Genómica sigue despertando el mayor interés entre la comunidad científica, como queda refrendado por el mayor número de artículos publicados sobre esta temática, seguido por la Proteómica y finalmente la Metabolómica.

El empleo de este conjunto de nuevas tecnologías se enfrenta a dificultades tales como la gran cantidad de datos obtenidos o la necesidad de integrarlos adecuadamente con el fin de obtener la información biológica más

relevante. Un buen ejemplo de la dificultad que entraña dicha integración entre plataformas lo constituye la combinación de los perfiles transcriptómicos con los obtenidos del análisis de proteínas o metabolitos. En este caso, dicha integración aún tiene que superar problemas relacionados con la selección de la información relevante, así como considerar las distintas escalas de tiempo a las que aparecen o actúan los transcritos, proteínas y metabolitos (Kussmann *et al.*, 2006). Recientemente, se ha propuesto la aplicación de la Biología de Sistemas para llevar a cabo dicha integración entre las diversas plataformas “ómicas” mediante un enfoque holístico, de tal manera que se considera el todo como un concepto global distinto a la suma de las partes. Un esquema de la relación de estas técnicas “ómicas” se puede ver en la Figura 1.

El avance de las técnicas “ómicas” no habría sido posible sin la integración de un buen número de disciplinas científicas, como la física, química, matemáticas, estadística, biología molecular y bioquímica (Suresh-Babu *et al.*, 2006). También, las innovaciones más recientes en las técnicas instrumentales de análisis, entre las que se encuentran técnicas de separación como la electroforesis capilar (CE), la cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC), la cromatografía de gases (GC), la resonancia magnética nuclear (RMN), técnicas de espectrometría de masas, sus diferentes acoplamientos, etc., han sido esenciales para el desarrollo de las técnicas “ómicas” (Issaq *et al.*, 2008). Además, el desarrollo de nuevas disciplinas como la bioinformática han sido fundamentales no sólo para el avance de dichas técnicas, sino también para la interpretación de los resultados (Zhang *et al.*, 2008). Todo esto, junto con el incremento del número de bases de datos on-line que recogen la información que se obtiene de los experimentos realizados mediante el empleo de estas tecnologías han sido aspectos importantes que están favoreciendo el progreso y la aplicación de las mismas al estudio de diversos organismos (Song *et al.*, 2008). Hay en la actualidad un gran número de bases de datos, que se asocian entre si para compartir la información disponible de proteínas, metabolitos o genes. Diversos institutos como el National Institute of Health (NIH), el European Molecular Biology Laboratory

Tabla 1. Número de artículos publicados anualmente usando Genómica, Proteómica y Metabolómica como palabras clave (genomics, proteomics y metabolomics). Búsqueda realizada en la base de datos Scopus (<http://www.scopus.com>, Julio 2008).

Palabra clave/Año	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Genómica	6422	7008	7404	7997	9188	10040	10651	10741
Proteómica	323	642	1708	2332	3290	4181	5038	5441
Metabolómica	3	10	40	71	122	304	409	527

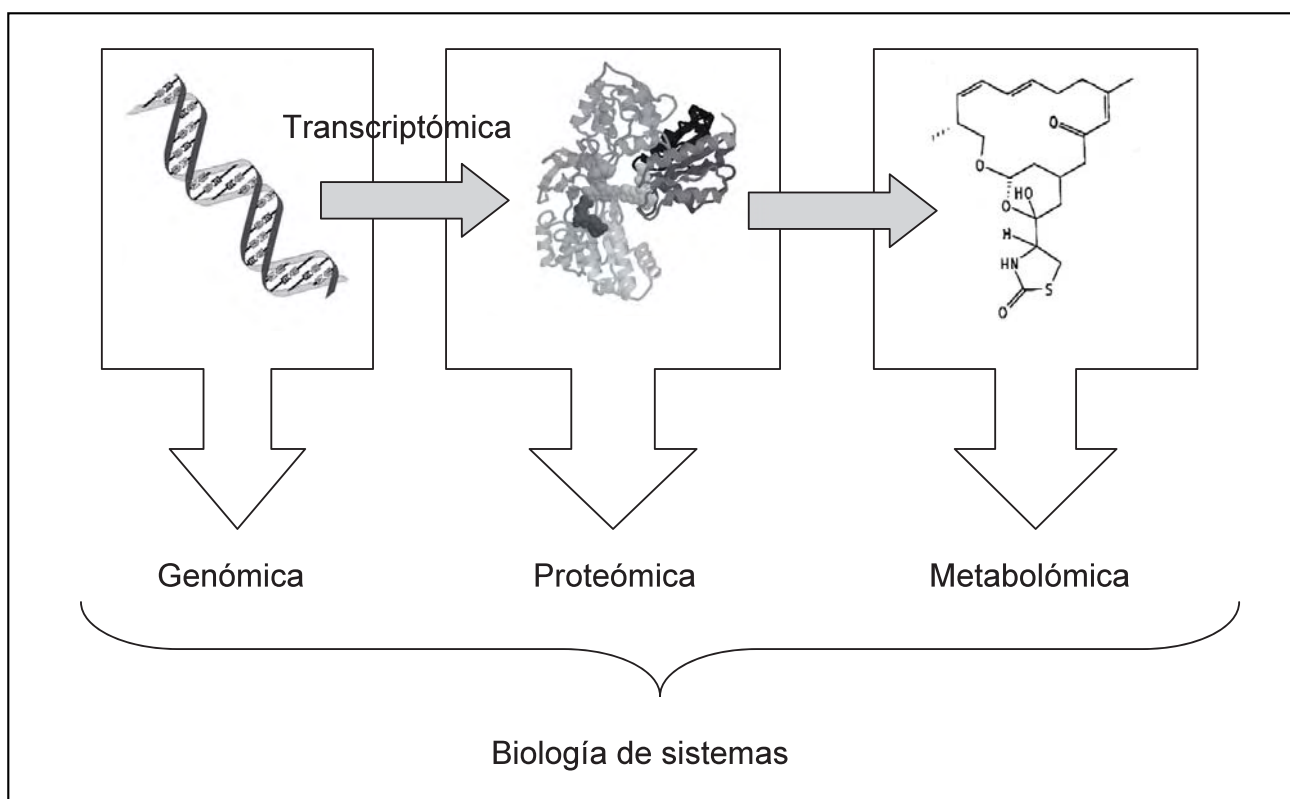


Figura 1. Esquema de la relación entre algunas de las técnicas ómicas.

(EMBL) o el National Center for Biotechnology Information (NCBI) agrupan en sus portales varias de estas bases de datos. En la Tabla 2 se pueden ver algunas de las más utilizadas.

El objetivo del presente trabajo es proporcionar una visión global acerca de la aplicación de la CE como técnica "ómica". En las siguientes secciones de este artículo, se realizará una breve introducción a la técnica, y a continuación se discutirán algunas de sus aplicaciones "ómicas" más representativas en el campo de la Genómica, Transcriptómica, Proteómica y Metabolómica.

2. ELECTROFORESIS CAPILAR

La CE engloba un conjunto de técnicas de separación que se basan en la diferente movilidad electroforética de las sustancias en disolución bajo la acción de un campo eléctrico. La CE proporciona separaciones rápidas y eficaces con un consumo mínimo de reactivos y gran automatización. La continua evolución de sus distintos modos y esquemas de detección, ha permitido el análisis de una gran variedad de analitos que van desde pequeños iones hasta macromoléculas, células y organismos (García-Cañas *et al.*, 2007). En la Tabla 3 se recogen algunas de

Tabla 2. Bases de datos y sus aplicaciones.

Nombre	Enlace (http://)	Base de datos	Referencia
GOLD (Genomes online Database)	www.genomesonline.org	Genómica	(Kyrpides, 1999)
Genome Project (NCBI)	www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=genome	Genómica	
KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)	www.genome.jp/kegg	Genómica Metabolómica	(Kanehisa <i>et al.</i> , 2000)
HMDB (Human Metabolome DataBase)	www.hmdb.ca	Metabolómica	(Wishart <i>et al.</i> , 2007)
UniProtDK/SwissProt-TrEMBL	www.expasy.ch/sprot/	Genómica Proteómica	(Bairoch <i>et al.</i> , 1997)
GOA (Gene Ontology Annotation)	www.geneontology.org/	Genómica Proteómica	(Consortium., 2000)
METLIN	metlin.scripps.edu/	Metabolómica	
KNAPSAcK	kanaya.naist.jp/KNAPSAcK/	Metabolómica	
GenBank	www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/	Genómica	(Benson <i>et al.</i> , 2008)

las revisiones más recientes (de los dos últimos años) en las cuales se utiliza CE para el análisis de analitos muy diversos. Además, es interesante resaltar que la CE ha demostrado ser una herramienta fundamental en análisis genéticos, y, sobre todo, básica en la culminación de la secuenciación del genoma humano (Lander *et al.*, 2001; Venter *et al.*, 2001). Este es un ejemplo más de cómo la investigación en CE ha permitido la consecución de importantes avances científicos, y cómo éstos avances son una prueba del dinamismo de esta técnica analítica (Suresh-Babu *et al.*, 2006).

Los acoplamientos de CE con otras técnicas han sido fundamentales para el avance de las técnicas “ómicas”. Su acoplamiento con espectrometría de masas (CE-MS) es uno de los más destacados y presenta la ventaja de combinar la rapidez de análisis y elevada eficacia de CE con la determinación de la masa por MS para la caracterización de moléculas y elucidación de estructuras (Gaspar *et al.*, 2008). Otros acoplamientos se dan con equipos de extracción en fase sólida (SPE) (Tempels *et al.*, 2007) o con micro-bioreactores (Tahkoniemi *et al.*, 2006), muy útiles en el análisis en continuo de metabolitos, debido a la detección de alta resolución de un gran número de compuestos simultáneamente. A lo largo del tiempo han surgido innovaciones de la técnica, como por ejemplo la CE en dos dimensiones (2-D CE) para la separación de proteínas (Chen *et al.*, 2002) o los arrays de CE, herramientas útiles por ejemplo para la secuenciación del DNA (Huan *et al.*, 1992).

A continuación, se describirán los aspectos más relevantes en la utilización de la CE en cuatro de las disciplinas ómicas más importantes en los últimos años, como son la Genómica, Transcriptómica, Proteómica y Metabolómica.

3. ELECTROFORESIS CAPILAR EN GENÓMICA

El genoma contiene la información necesaria para responder, mediante adaptaciones biológicas a nivel molecular, a determinados cambios producidos en el entorno de un organismo. Descifrar y conocer esta información es uno de los objetivos fundamentales de la Genómica. La Genómica ha sido quizás la tecnología “ómica” que más ha progresado en los últimos años gracias a la apremiante necesidad de disponer de instrumentos que permitieran la rápida secuenciación del DNA. Este avance en el área de la Genómica ha permitido la consecución de hitos tan importantes como la secuenciación de genomas completos, entre los que se incluye el Genoma Humano (Lander *et al.*, 2001; Venter *et al.*, 2001).

Como ya se ha mencionado, la CE ha demostrado sobradamente ser una herramienta de gran utilidad en el análisis de ácidos nucleicos incluyendo el proyecto Genoma Humano (Kleparnik *et al.*, 2007, Lander *et al.*, 2001; Venter *et al.*, 2001). En este sentido, desde la primera demostración de la CE como una técnica más rápida, precisa y con menor requerimiento de muestra que la

Tabla 3. Revisiones de los últimos dos años relativas a diferentes aplicaciones de CE.

Autores	Analitos objeto de la revisión	Año	Referencia
Boyce et al	Aditivos y contaminantes orgánicos	2007	(Boyce, 2007)
Castro-Puyana et al	Antibióticos	2008	(Castro-Puyana <i>et al.</i> , 2008)
Castro-Puyana et al	Aminoácidos no proteicos	2007	(Castro-Puyana <i>et al.</i> , 2007)
Chen et al	Iones inorgánicos y orgánicos	2007	(Chen <i>et al.</i> , 2007)
Coufal et al	Iones pequeños	2007	(Coufal <i>et al.</i> , 2007)
Dabek-Zlotorzynska et al	Contaminantes	2008	(Dabek-Zlotorzynska <i>et al.</i> , 2008)
Dolnik	Proteínas	2008	(Dolnik, 2008)
Font et al	Contaminantes orgánicos en alimentos	2008	(Font <i>et al.</i> , 2008)
García-Campaña et al	Péptidos y proteínas	2007	(García-Campaña <i>et al.</i> , 2007)
García-Cañas et al	Contaminantes microbianos	2007	(García-Cañas <i>et al.</i> , 2007)
García-Cañas et al	Alimentos y bebidas	2008	(García-Cañas <i>et al.</i> , 2008)
Geiser et al	Medicamentos	2007	(Geiser <i>et al.</i> , 2007)
Hartinger et al	Medicamentos	2007	(Hartinger <i>et al.</i> , 2007)
Herrero et al	Péptidos y peptidómica	2008	(Herrero <i>et al.</i> , 2008)
Hau Fung Cheung et al	Micronutrientes	2007	(Hau Fung Cheung <i>et al.</i> , 2007)
Hua et al	DNA	2007	(Hua <i>et al.</i> , 2007)
Klampfl et al	Ácidos orgánicos	2007	(Klampfl, 2007)
Kasicka	Péptidos	2008	(Kasicka, 2008)
Kvasnicka	Compuestos bioactivos	2007	(Kvasnicka, 2007)
Poinsot et al	Aminoácidos	2008	(Poinsot <i>et al.</i> , 2008)
Timerbaev	Iones inorgánicos	2007	(Timerbaev, 2007)

electroforesis convencional en placa para la caracterización de secuencias genéticas, la técnica ha evolucionado considerablemente (Suresh-Babu *et al.*, 2006).

Generalmente, el modo de CE más empleado para las separaciones de DNA es la electroforesis capilar en gel

(CGE) ya que permite la separación de las moléculas de DNA por tamaño. Sin embargo, también se han desarrollado métodos que emplean la CE en zona libre (FSCE) (Vreeland *et al.*, 2001).

Aparte de la secuenciación del DNA, la CE se ha

empleado en aplicaciones dirigidas al estudio de la variabilidad genética (polimorfismos genéticos), a la detección de secuencias específicas de DNA (detección de microorganismos patógenos, alimentos transgénicos u OMGs, e identificación de especies) y al análisis del grado de metilación del DNA (estudios epigenéticos) (Sanchez *et al.*, 2007; Fernandez *et al.*, 2008; Sotgia *et al.*, 2008).

Los polimorfismos son variaciones de la secuencia genética en un mismo gen entre distintos individuos de una misma especie. Dentro de estos, los más abundantes, representando hasta el 90% de la variabilidad intraespecie, son los polimorfismos de nucleótido simple (SNPs), que son variaciones en un solo nucleótido. Se han publicado diversos artículos que tratan el análisis de polimorfismos mediante CGE. Normalmente, estos métodos de análisis consisten en una amplificación previa del DNA mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el posterior análisis de los fragmentos de DNA amplificados mediante CGE. Recientemente, el empleo de esta metodología analítica ha permitido llevar a cabo estudios tan diversos como la caracterización de SNPs del genoma de la vid (Fernandez *et al.*, 2008) o el genotipado de los genes implicados en la regulación del metabolismo de la glucosa en individuos con diabetes tipo II (Malodobra *et al.*, 2007). Esta metodología permite determinar la variabilidad entre muestras de DNA, sin embargo no proporciona información acerca de la identidad del par de bases que varía en la secuencia.

La aplicación de CE a la detección de secuencias específicas de DNA en muestras de origen alimentario, clínico, ambiental y forense también ha ganado gran importancia en los últimos años. La estrategia general consiste en extraer el DNA de las muestras, amplificar las secuencias de DNA de interés mediante técnicas moleculares, a continuación separar las secuencias amplificadas mediante CGE y detectarlas mediante fluorescencia inducida por láser (LIF) empleando intercalantes en el tampón de separación. La aplicabilidad de esta metodología se ha demostrado para el análisis de OMGs en alimentos (García-Cañas *et al.*, 2002). En la Figura 2 se puede observar como ejemplo el electroferograma obtenido mediante CGE-LIF de la detección simultánea de DNA de cinco variedades distintas de maíz transgénico.

Además de todas las aplicaciones mencionadas, el estudio de la interacción de determinadas secuencias de DNA con otras moléculas como, por ejemplo, proteínas y aptámeros (moléculas cortas de ácido nucleico sintéticas) es también interesante en diversas áreas de investigación entre las que se incluyen la biomedicina, la farmacogenó-

mica y la nutrigenómica. Recientemente, la CE ha permitido llevar a cabo estudios de este tipo con distintos objetivos, como por ejemplo encontrar potentes agentes antivíricos (Chou *et al.*, 2005) o la selección de aptámeros específicos para una molécula diana (Drabovich *et al.*, 2006).

Los avances más notables que ha experimentado la CE en el área de la Genómica se han encaminado hacia la miniaturización de los dispositivos mediante el desarrollo de microchips (Revermann *et al.*, 2008), la mejora de la sensibilidad mediante distintos sistemas de detección y el desarrollo de técnicas de preconcentración (Gotz *et al.*, 2007).

4. ELECTROFORESIS CAPILAR EN TRANSCRIPTÓMICA

La Transcriptómica es el estudio del transcriptoma, que puede definirse como el conjunto de moléculas de RNA mensajero (mRNA) generadas en el proceso de transcripción que se encuentran presentes en una célula en un determinado momento. El transcriptoma, por tanto, es un reflejo de los genes que están siendo expresados en las condiciones en las que se encuentra la célula en ese momento. A diferencia del genoma, que presenta un carácter más estático, el transcriptoma depende del momento y de las condiciones ambientales. La información contenida en el transcriptoma se puede emplear como una primera aproximación en el estudio de proteínas y metabolitos (Kussmann *et al.*, 2006).

El análisis del nivel de expresión génica se ha llevado a cabo tradicionalmente mediante la técnica Northern blot y más recientemente, mediante la técnica de análisis en serie de la expresión génica (Serial Analysis of Gene Expression, SAGE) y técnicas de PCR de transcripción inversa (Reverse Transcription Quantitative PCR, RT-PCR). Sin embargo, son los microarrays de expresión los que gozan de un mayor protagonismo en el área de la Transcriptómica actual. Los microarrays de expresión son colecciones de oligonucleótidos inmovilizados en un sustrato sólido en localizaciones conocidas y ordenadas. Dichas moléculas tienen la capacidad de reconocer específicamente los mRNA que se quieren detectar. Esta técnica permite el análisis múltiple y simultáneo de un gran número de moléculas de mRNA distintas, proporcionando así información muy valiosa del perfil de expresión de los genes en un determinado organismo, tejido o célula en diversos estados fisiológicos o bajo el efecto de diferentes tratamientos (Zhang *et al.*, 2008).

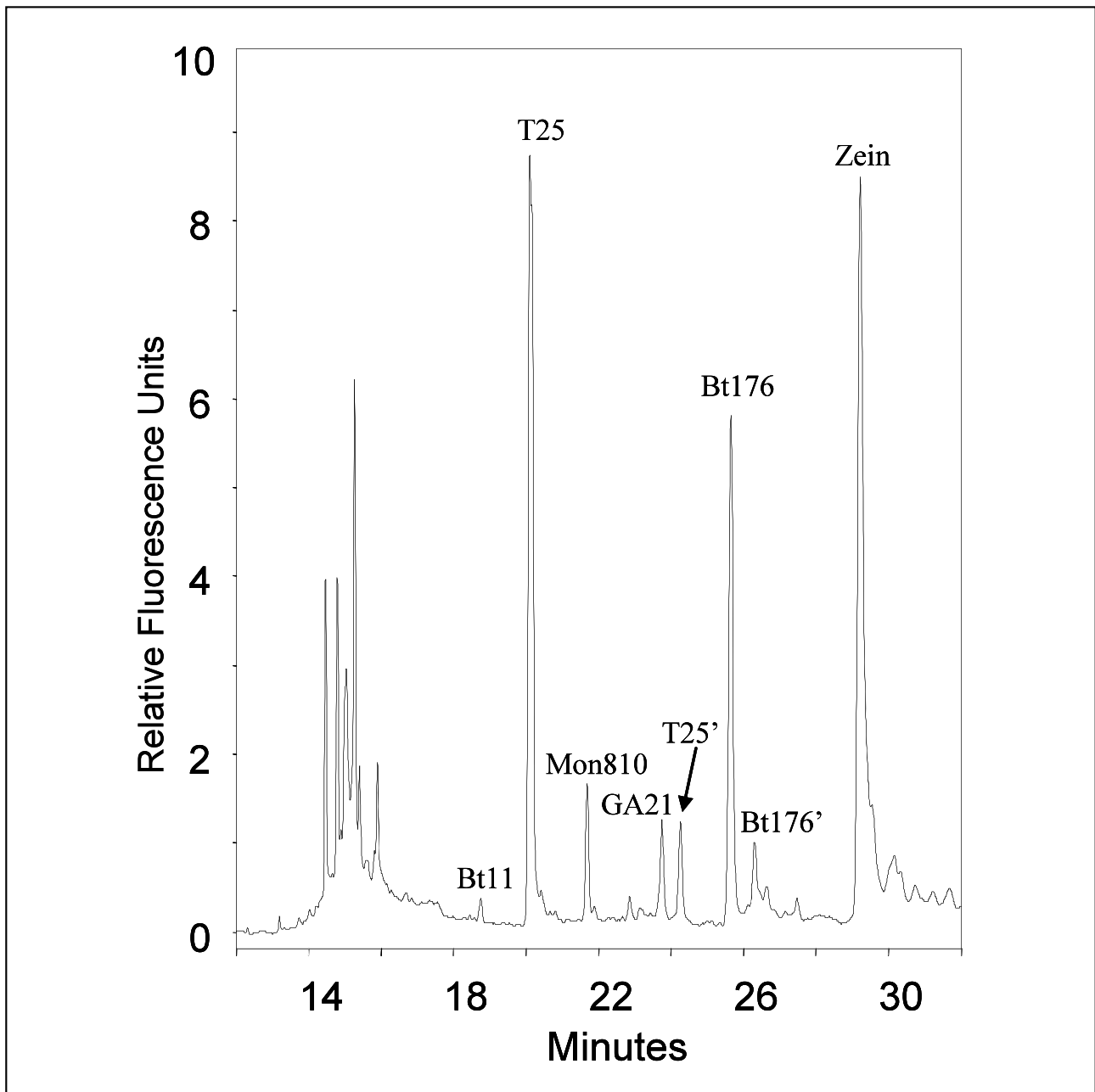


Figura 2. Electroferograma de la separación simultánea de DNA en cinco variedades distintas de maíz transgénico mediante CE-LIF. Redibujado a partir de García-Cañas *et al*, 2004.

Hay, sin embargo, algunos inconvenientes en el uso de microarrays de expresión. El primero es que se necesita una cantidad suficiente de muestra que permita obtener extractos de mRNA con el rendimiento y la calidad requeridos para llevar a cabo su hibridación en el microarray. Además, hay limitaciones técnicas que pueden afectar a la

eficacia de la hibridación, y por tanto, disminuir su capacidad para detectar variaciones en el nivel de expresión génico. Otro inconveniente es el alto coste de análisis, aunque realmente se puede considerar una técnica de gran rendimiento si consideramos el número de analitos (miles) que se pueden analizar simultáneamente en un solo análisis.

A pesar del protagonismo y popularidad que ha adquirido el microarray de expresión en el área de la Transcriptómica, se han desarrollado metodologías analíticas alternativas que no persiguen el análisis completo del Transcriptoma, sino que están dirigidas al análisis específico de un número más reducido de secuencias de RNA. En este sentido, se han desarrollado métodos de CE para el análisis de transcritos mutados en tumores (Thorson *et al.*, 2006) y tejidos biológicos dañados (Goldsmith *et al.*, 2007). El mayor inconveniente del método reside en que los fragmentos de mRNA deben ser secuenciados posteriormente para su identificación. Otra aplicación importante de la CE en este área es la determinación de la calidad de los extractos de mRNA para su posterior análisis empleando microarrays (Imbeaud *et al.*, 2005).

La detección de RNA viral es otra de las aplicaciones de la CE, que al igual que en las separaciones de DNA, utiliza el modo de CGE junto con soluciones poliméricas para separar los RNA de doble cadena en función de su tamaño (Shambaugh *et al.*, 2004).

Otra aplicación de la CE en este campo es el estudio de la interacción de aptámeros de RNA con proteínas (Gong *et al.*, 2008). En general, los métodos de CE que se han desarrollado para llevar a cabo estos análisis emplean la detección de LIF por su gran sensibilidad y selectividad. El empleo de aptámeros como ligandos en lugar de anticuerpos en electroforesis capilar de afinidad presenta una serie de ventajas tales como una mayor facilidad para el marcaje fluorescente (necesario para la detección de la fluorescencia) o un peso molecular más bajo, que facilita la separación del complejo molécula-aptámero (Ravelet *et al.*, 2006). En un trabajo reciente, se empleó un aptámero de RNA (de L-Arg) para llevar a cabo la separación quiral de arginina (Ruta *et al.*, 2006).

Como en el caso de la Genómica, los pocos estudios existentes de CE-MS en Transcriptómica se centran en el análisis de nucleósidos o nucleótidos. Un ejemplo de ello, es el empleo de CE-MS para la detección de nucleósidos en muestras de orina de pacientes con cáncer (Wang *et al.*, 2007).

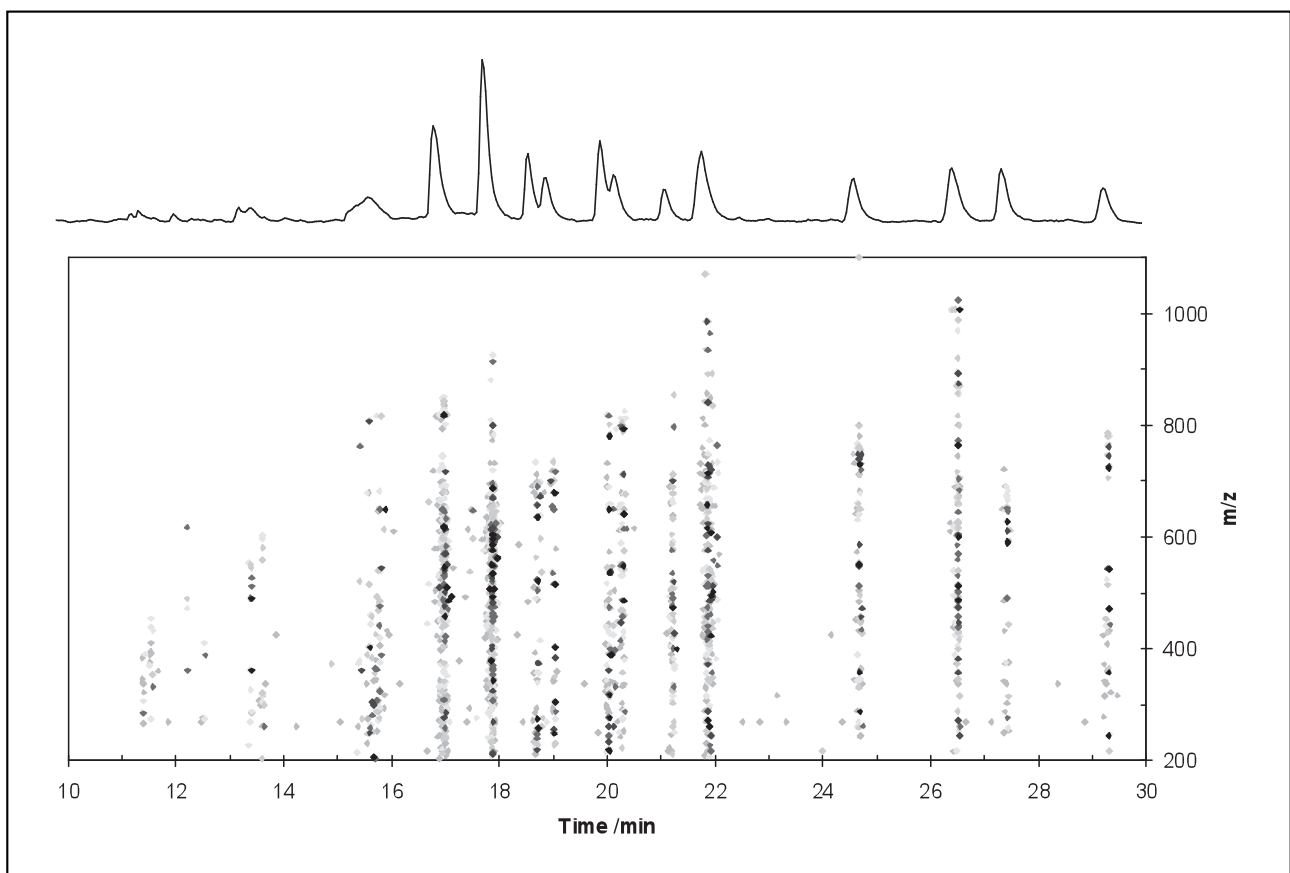


Figura 3. Mapa 2-D de un análisis CE-ESI-MS de citocromo C digerido con tripsina. Redibujado a partir de Erny *et al.*, 2007a.

5. ELECTROFORESIS CAPILAR EN PROTEÓMICA

La Proteómica trata el análisis de proteínas y péptidos, incluyendo sus funciones y modificaciones postraduccionales (PTMs). Esto permite estudiar las relaciones entre las proteínas con la activación de sus respectivos genes, permitiendo así establecer una conexión entre los cambios en la fisiología celular y la expresión del código genético. El comienzo de la Proteómica fue motivado fundamentalmente por el inicio de la secuenciación de genomas a gran escala, y por el desarrollo de técnicas avanzadas de separación y análisis de proteínas, como la electroforesis bidimensional y la espectrometría de masas, incluyendo las técnicas de ionización blandas.

Al igual que el transcriptoma, el proteoma es dinámico y depende del tipo celular, el momento y las condiciones ambientales, por lo que existe una gran variabilidad en los perfiles proteicos presentes en las células. Esta variabilidad es importante para entender la funcionalidad

de un determinado organismo. Por otro lado, al ser el número de proteínas muy superior al de genes, el número de datos obtenidos en estudios proteómicos es muy elevado, lo que aumenta su complejidad. Con el fin de simplificar la complejidad de estos datos, se han desarrollado distintas estrategias, como por ejemplo, la generación de mapas 2-D de digestiones de proteínas como el que se muestra en la Figura 3 (Erny *et al.*, 2007a) que permite visualizar más fácilmente la gran cantidad de información proporcionada por estas nuevas técnicas acopladas.

La Proteómica es de gran utilidad en estudios biomédicos debido a que gran parte de los medicamentos o son proteínas o ejercen su función a través de proteínas, y a que muchas enfermedades y sus tratamientos se manifiestan a nivel proteico (Kellner, 2000). Pero además, tiene otros campos de aplicación, como por ejemplo en el área de Ciencia y Tecnología de Alimentos, donde cuenta con un gran potencial en la investigación de la calidad y seguridad alimentaria, detección de fraudes, estudio de alimentos funcionales y compuestos bioactivos (Han *et al.*,

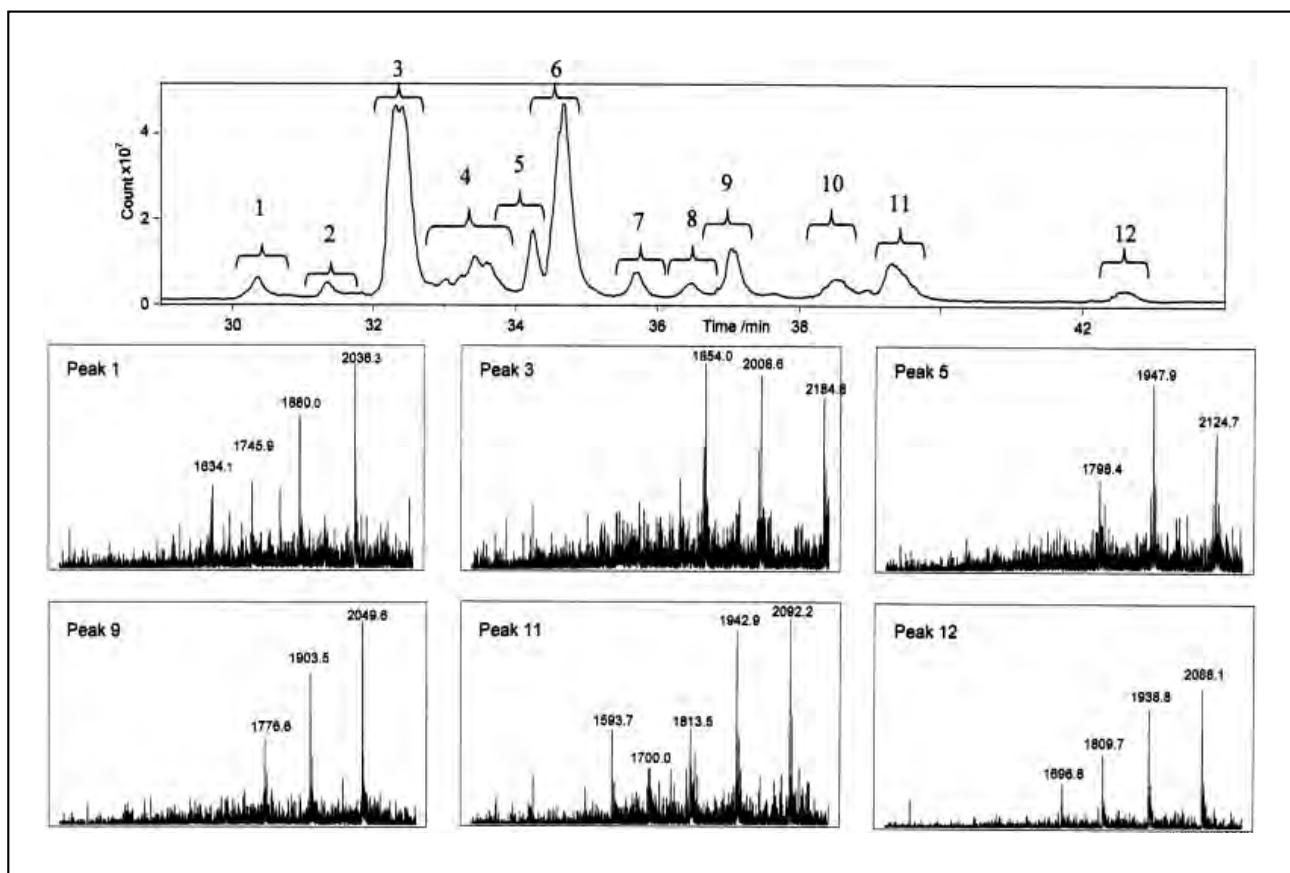


Figura 4. Electroferograma de iones totales y espectros de masas de los picos señalados de las zeínas extraídas de maíz convencional de la variedad Aristis. Redibujado a partir de Erny *et al.*, 2007b.

2008). En estos campos, los estudios proteómicos se dirigen hacia el estudio de las interacciones entre proteínas (Sun *et al.*, 2008), o la comparación de perfiles proteicos (Rodríguez-Nogales *et al.*, 2007).

Sin embargo, los estudios más recientes en Proteómica se han dirigido hacia la identificación de biomarcadores y de las PTMs. En esta área, la CE, y en concreto, el acoplamiento CE-MS, ha demostrado ser una técnica muy eficaz en análisis de proteínas (Haselberg *et al.*, 2007).

Los biomarcadores son indicadores biológicos de cambios a nivel molecular, bioquímico o celular, mediante los cuales se puede reconocer y evaluar un proceso biológico normal o alterado (Huck *et al.*, 2006). La identificación de biomarcadores proporciona una base para la distinción de estados alterados en un organismo. De esta

manera se favorece el rápido diagnóstico de enfermedades, el reconocimiento de nuevas dianas para su tratamiento o la clasificación de organismos en función de la presencia o ausencia del biomarcador en su perfil proteico (Hanash, 2003). Algunas aplicaciones biomédicas de la identificación de biomarcadores son los estudios en enfermedades como el cáncer de próstata (Theodorescu *et al.*, 2008), enfermedades coronarias (Zimmerli *et al.*, 2008) o en dos tipos de apendicitis a partir de muestras de plasma en pacientes antes y después de la operación (Johannesson *et al.*, 2007). La identificación de biomarcadores es útil en otros campos, no solo en medicina, sino también en estudios ambientales (Skelley *et al.*, 2007), toxicológicos (Tagliaro *et al.*, 2007) o el análisis de OMGs (Erny *et al.*, 2007b). En la Figura 4 se puede ver el electroferograma de iones totales, y los espectros de masas obtenidos en un estudio proteómico de zeínas de maíz convencional.

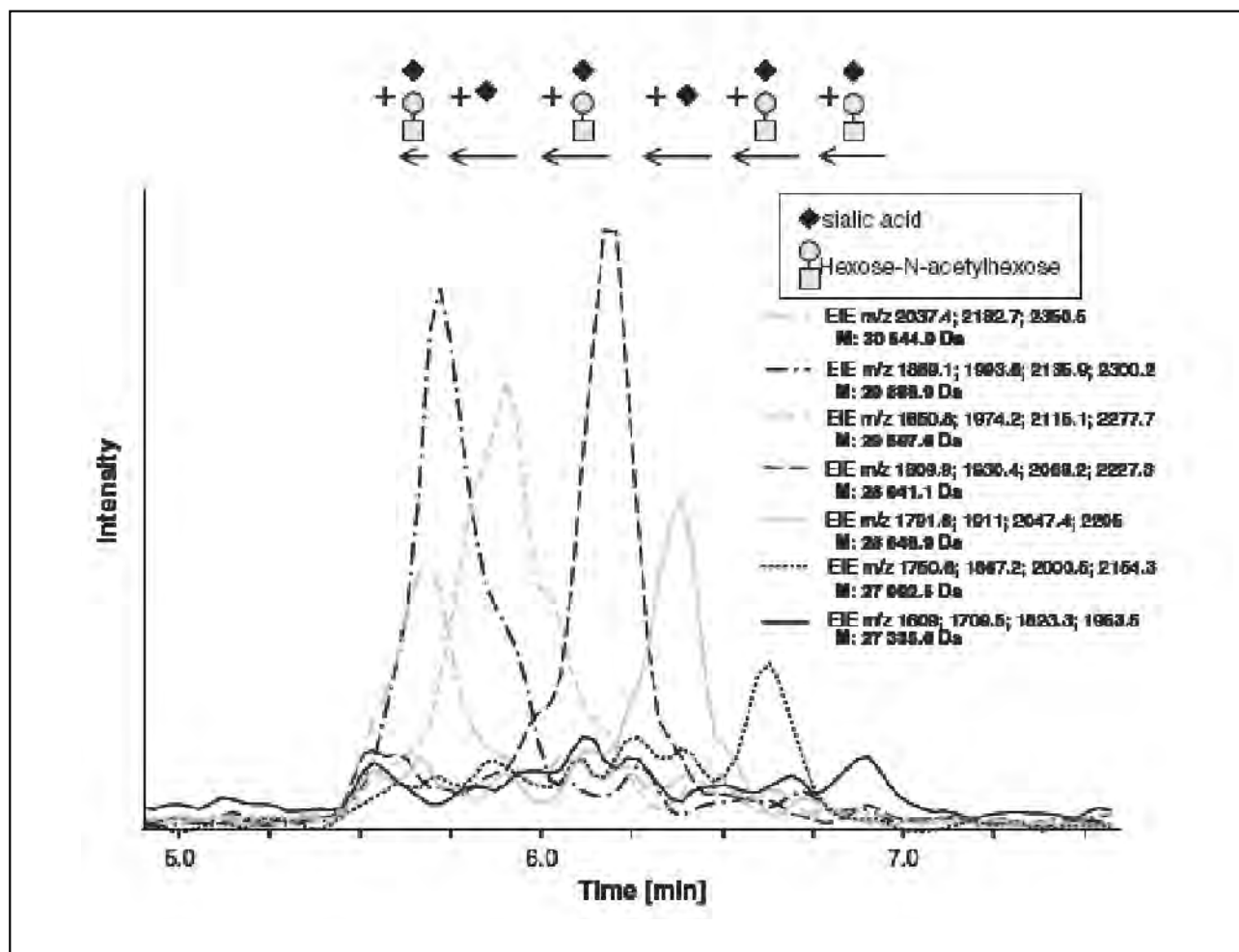


Figura 5. Electroferogramas de iones extraídos (EIE) de las formas glicosiladas de la eritropoyetina- β . Redibujado a partir de Balaguer *et al.*, 2006b.

Las PTMs son modificaciones químicas que se dan en las proteínas después de la traducción y que afectan a sus propiedades físico-químicas, a su estructura y actividad. Estas modificaciones son fundamentales para comprender el funcionamiento de las proteínas en fisiología celular, ya que muchas de las funciones o disfunciones de las proteínas ligadas a patologías dependen de sus PTMs, con lo que no están directamente codificadas por el genoma. Las modificaciones más comunes son la fosforilación y la glicosilación de proteínas, pero hay otras, como metilaciones, oxidaciones, alquilaciones o amidaciones. Las fosforilaciones son PTMs muy difíciles de estudiar ya que se dan muy rápidamente, con lo que la fracción de proteínas fosforiladas *in vivo* es pequeña. En la mayoría de los casos los estudios de fosforilación se realizan con MS. Recientemente se ha desarrollado un método para la determinación de la concentración relativa de dos estados de fosforilación distintos en proteínas de leche mediante electroforesis capilar en zona (Heck *et al.*, 2008). También se ha desarrollado un método para su detección en CE-MS, en el que se consigue aumentar la sensibilidad de la detección de fosfopéptidos con múltiples fosforilaciones (Ballard *et al.*, 2007).

Otras PTMs de gran interés son las glicosilaciones. Estas se forman por uniones covalentes entre mono u oligosacáridos a las proteínas. Debido a su buena reproducibilidad y sensibilidad, la CE-LIF es una de las técnicas más potentes que se pueden usar para el estudio de las glicosilaciones. Así, utilizando CE-LIF se puede llegar a límites de detección de hasta 10-18 moles en muestras de oligosacáridos (Kamoda *et al.*, 2006). Un ejemplo son las formas glicosiladas de la eritropoyetina. Balaguer y col desarrollaron un método para separar estas glicoproteínas y caracterizar su masa exacta, mediante CE-TOF-MS, utilizando capilares recubiertos y manteniendo el flujo electroosmótico cercano a cero (Balaguer *et al.*, 2006b). En otro trabajo del mismo grupo se detectó también la masa exacta de la eritropoyetina, determinando a su vez 44 glicoproteínas distintas y 135 isoformas de eritropoyetina humana (Balaguer *et al.*, 2006a). En la Figura 5 se puede ver un ejemplo de electroferograma mostrando distintas formas glicosiladas de eritropoyetina.

6. ELECTROFORESIS CAPILAR EN METABOLÓMICA

Los metabolitos son las “huellas dactilares” que dejan los procesos químicos ocurridos en las células. Son moléculas de bajo peso molecular (<1500 Da) que intervienen bien como productos finales, o como intermediarios en las distintas rutas metabólicas de un organismo. Ejemplos

de estos son aminoácidos, nucleótidos, vitaminas o ácidos orgánicos. La Metabolómica se encarga del estudio sistemático del metaboloma, es decir del conjunto de todos los metabolitos presentes en un organismo, con el objetivo de comprender la fisiología celular. Tal como el proteoma y el transcriptoma, el metaboloma es también dinámico. Aunque esta tecnología “ómica” es la más reciente de las cuatro aquí mencionadas, la importancia de esta técnica va en aumento como puede verse por el número de artículos publicados en la Tabla 1.

En Enero de 2007, se publicó la primera versión del mapa metabólico humano, que contenía cerca de 2200 metabolitos, presentes en 115 rutas metabólicas distintas, así como más de 2000 enzimas. Además, en esta base de datos (“Human Metabolome DataBase”, HMDB, <http://www.hmdb.ca>) se relacionan estos metabolitos con más de 800 enfermedades metabólicas distintas (Wishart *et al.*, 2007). Sin embargo, la HMDB está aun por completar pues siguen apareciendo metabolitos en distintas rutas celulares. Igual sucede con el metabolismo de otros organismos, en especial el de las plantas, con más de 50000 metabolitos identificados, cuyos resultados se publican en bases de datos similares, por ejemplo en la Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (<http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>). Como ya se ha mencionado anteriormente, algunas de estas bases de datos se han recogido en la Tabla 2.

La dificultad del análisis de metabolitos radica en que son moléculas muy distintas entre sí, como por ejemplo iones inorgánicos pequeños, aminoácidos, flavonoides o lípidos. Estas moléculas tienen propiedades físico-químicas muy variadas, lo que hace prácticamente imposible la extracción conjunta de todos los metabolitos simultáneamente, así como su análisis y detección. Por eso no se utiliza una sola técnica para su identificación, sino que se emplean varias de ellas (Baggett *et al.*, 2002).

La metodología aplicada en los análisis Metabolómicos consta generalmente de cuatro etapas bien diferenciadas. En primer lugar la extracción de la muestra. Esta extracción debe abarcar el mayor número de metabolitos posible, por lo que debe basarse en métodos de extracción global. Una vez optimizada la extracción, debe considerarse la etapa de análisis/detección, cuyo objetivo es el de encontrar el mayor número de metabolitos posible. Los métodos de análisis más utilizados en metabolómica son la RMN y la espectrometría de masas (MS). Estos métodos se pueden usar de forma aislada, o más comúnmente, sobretodo en el caso de MS, acoplados a técnicas de separación, como cromatografía de gases (GC-MS), cromatografía de líquidos (HPLC-MS) o como

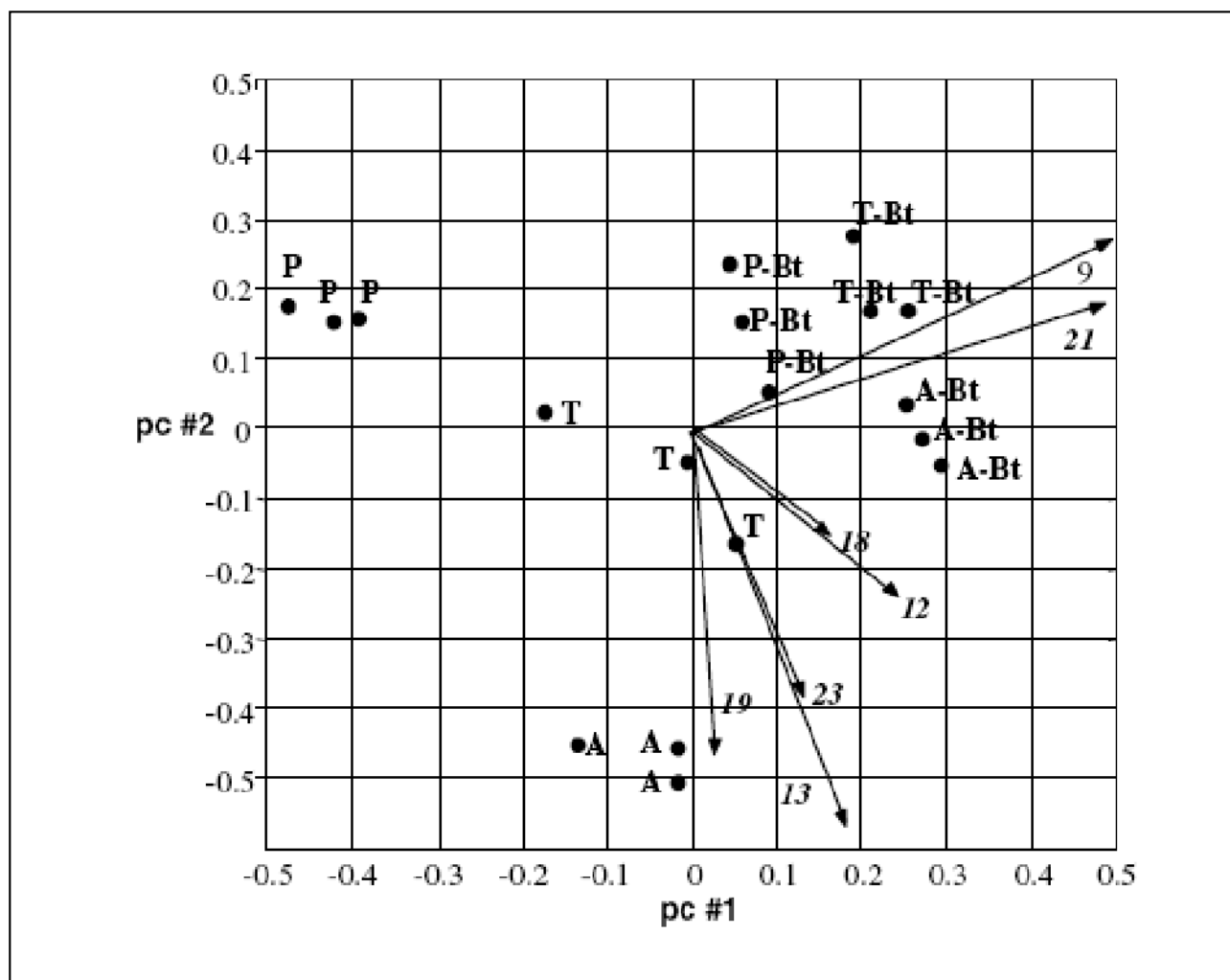


Figura 6. Análisis de componentes principales (PCA) de 18 muestras de maíz representadas en el plano definido por los dos primeros componentes principales, explicando el 70% de la variabilidad. Los vectores 9, 12, 13, 18, 19, 21 y 23, representan las contribuciones de 7 variables en los dos primeros componentes. Redibujado a partir de Levandi *et al.*, 2008.

CE-MS. La separación no sólo aporta la ventaja de facilitar la detección, sino también la identificación de estos metabolitos, al aportar un nuevo criterio para su elucidación (el dato de la elución o migración de los analitos en la columna).

El tercer paso es el tratamiento estadístico de los resultados, para lo cual es necesario llevar a cabo un tratamiento previo de los datos (corrección de la línea de base, alineamiento y normalización), ya que el número de datos obtenidos en un análisis de tipo Metabolómico suele ser muy grande. Para ello se realizan análisis multivariantes, como por ejemplo el análisis de componentes principales (PCA), el análisis discriminante (PLS-DA) o

el modelado blando independiente de analogía de clases (SIMCA, Soria, 2006) que permiten agrupar y simplificar estos datos. Un ejemplo de un análisis por PCA se puede ver en la Figura 6.

Finalmente, el último paso de un análisis Metabolómico consiste en la identificación de los metabolitos encontrados, valiéndose para esto de la información obtenida en la separación, análisis y tratamiento de los datos anteriores. Para ello se utilizan las bases de datos ya mencionadas.

La Metabolómica se aplica principalmente en el análisis de perfiles metabólicos en distintos campos como la

toxicología (Robertson, 2005), biomedicina (Huck *et al.*, 2005) o nutrigenómica (Zhang *et al.*, 2008; Wishart, 2008). La nutrigenómica es un nuevo campo de estudio que conecta la Genómica, Proteómica y Metabolómica con la nutrición humana, y que trata de relacionar la ingesta de determinados nutrientes con la fisiología celular con el fin de mejorar nuestra alimentación y salud (Ordovas *et al.*, 2004). También la búsqueda de biomarcadores es una aplicación importante de la Metabolómica. En este sentido, se puede encontrar más información en el trabajo de revisión de Monton y Soga en el que tratan las últimas aplicaciones de CE-MS en Metabolómica (Monton *et al.*, 2007; García-Perez *et al.*, 2008).

Dada la versatilidad de la CE, esta técnica ha permitido el análisis de una gran variedad de metabolitos de naturaleza muy distinta, por ejemplo metabolitos derivados de bases púricas y pirimidínicas (Britz-McKibbin *et al.*, 2003), metabolitos catiónicos (Baidoo *et al.*, 2008) o

incluso aminoácidos (Soga *et al.*, 2004). Por ejemplo la cisteína y homocisteína son dos aminoácidos que pueden actuar como biomarcadores de enfermedades como la cistinuria. Utilizando CE-LIF se puede determinar con muy buena sensibilidad estos aminoácidos derivatizados en muestras de suero y orina (Lochman *et al.*, 2003).

Debido a la importancia de las aplicaciones biomédicas, el metabolismo humano es uno de los más estudiados. Una de las ventajas del tratamiento Metabolómico al estudio de las enfermedades es que los análisis de metabolitos se pueden realizar en su mayoría en fluidos humanos accesibles (orina, sangre, etc.) facilitando así la obtención de las muestras. Por ejemplo, el metabolismo de la tirosina es fácil de investigar ya que sus metabolitos se secretan por la orina. Mediante CE con detección amperométrica, Huang y col pudieron detectar siete metabolitos de la tirosina implicados en la función hepática (Huang *et al.*, 2006).

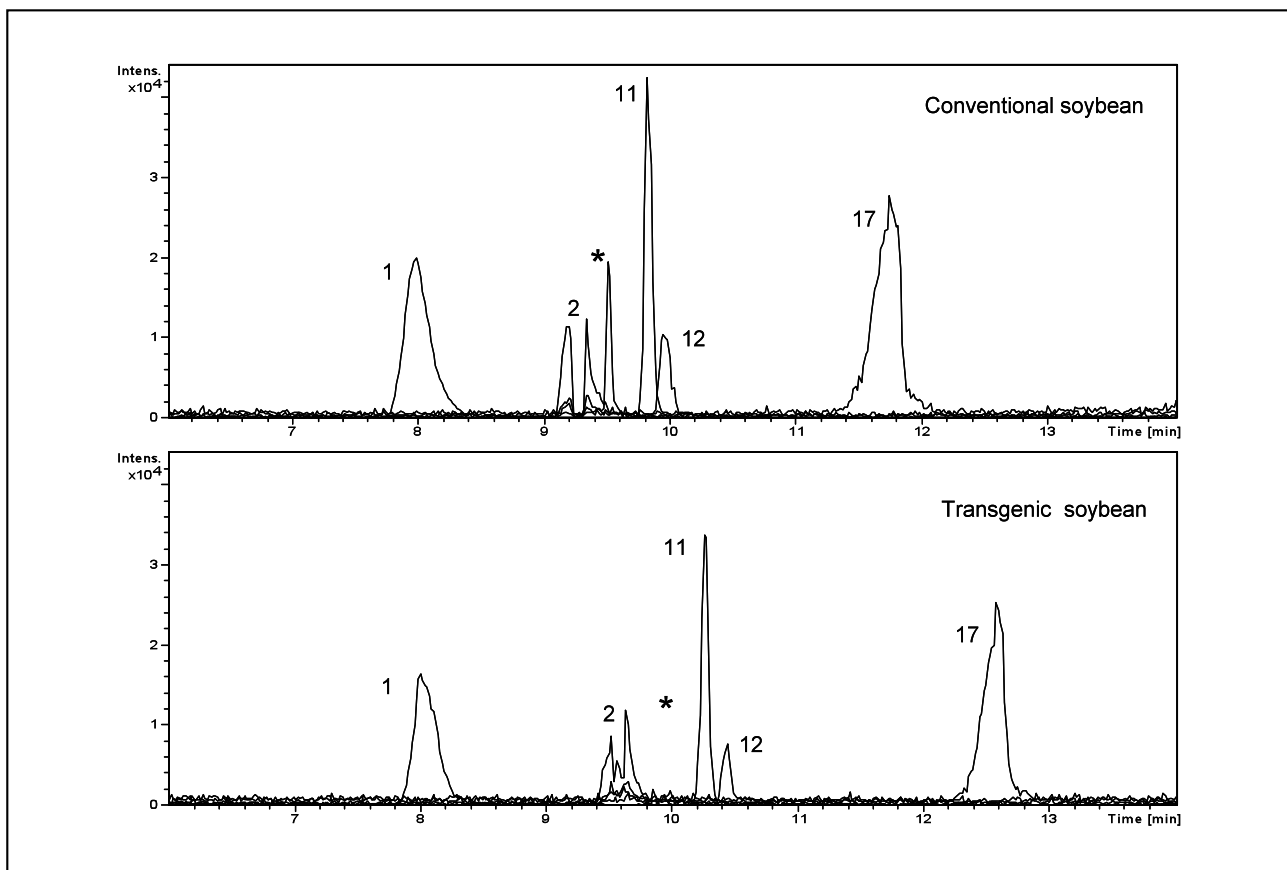


Figura 7. Electroferograma de iones extraídos de metabolitos de una muestra de soja transgénica y otra no transgénica en CE-ESI-TOF. El compuesto marcado con un asterisco corresponde a 4-hidroxi-L-treonina. Redibujado de García-Villalba *et al.*, 2008.

También se ha usado CE-MS para el estudio del metabolismo de plantas con importantes aplicaciones medicinales y/o nutricionales. Por ejemplo, los metabolitos de plantas medicinales son interesantes para poder investigar los posibles compuestos bioactivos responsables de su uso para combatir una enfermedad. *Genista tenera* es una planta que se utiliza en medicaciones para diabéticos. En un estudio reciente se analizaron los metabolitos secundarios de esta planta, y se encontraron entre ellos varios tipos de flavonoides distintos (Edwards *et al.*, 2006). Last y col han realizado recientemente una recopilación de los estudios metabolómicos en plantas utilizando CE y otras técnicas (Last *et al.*, 2007).

Otra aplicación de la metabolómica en el campo de la seguridad alimentaria es la determinación de perfiles metabólicos en alimentos que contienen OMGs, y la comparación de estos con sus respectivos alimentos convencionales. De esta forma se puede determinar si la variación genética ha afectado o no a algún otro aspecto del metabolismo celular. Recientemente se utilizó CE-LIF para el análisis quiral de aminoácidos en maíz transgénico (Bt11) y convencional y se demostró que esta técnica es útil para la detección de posibles biomarcadores en los alimentos transgénicos (Herrero *et al.*, 2007). También se ha utilizado CE-MS en varios estudios para el análisis de metabolitos en variedades transgénicas de maíz (Levandi *et al.*, 2008), arroz (Takahashi *et al.*, 2006), soja (García-Villalba *et al.*, 2008) o patatas (Bianco *et al.*, 2003). Los tres primeros estudios mencionados encontraron variaciones en los perfiles de metabolitos de los alimentos con OMGs respecto de los convencionales. En el caso de la soja se pudo identificar la disminución en 4-hidroxi-L-treonina como posible biomarcador de alimentos transgénicos, como se puede ver en la Figura 7.

7. CONCLUSIONES

La CE ha demostrado ser una herramienta analítica de gran utilidad para el desarrollo de las técnicas "ómicas". Aunque hay otras técnicas que permiten también la obtención de gran cantidad de datos, por ejemplo los microarrays de DNA, RMN o cromatografía acopladas a espectrometría de masas (GC-MS, HPLC-MS), la electroforesis capilar presenta ciertas ventajas, como pueden ser la gran variedad de sistemas de detección que puede utilizar, la posibilidad de detectar una gran diversidad de analitos de muy distinta naturaleza, la rapidez del análisis, sus elevadas eficacias o el mínimo requerimiento de reactivos y muestra.

El significativo desarrollo instrumental que ha experimentado la CE, unido a su gran variedad de aplicaciones son indicativos de que la técnica puede alcanzar importantes logros en el campo de las técnicas "ómicas" en los próximos años. En concreto los microchips de CE, los arrays o los acoplamientos con otras técnicas como espectrometría de masas son algunas de las innovaciones que hacen que las perspectivas de esta técnica en el campo de las aplicaciones "ómicas" sean tan interesantes.

8. AGRADECIMIENTOS

C.L agradece a la C.A.M. por un contrato de formación de personal investigador. V.G. agradece al CSIC por un contrato Postdoctoral I3P.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baggett, B.R.; Cooper, J.D.; Hogan, E.T.; Carper, J.; Paiva, N.L.; Smith, J.T. (2002). *Electrophoresis*, 23 (11), 1642-1651.
- Baidoo, E.E.K.; Benke, P.I.; Neuss, C.; Pelzing, M.; Kruppa, G.; Leary, J.A.; Keasling, J.D. (2008). *Analytical Chemistry*, 80 (9), 3112-3122.
- Bairoch, A.; Apweiler, R. (1997). *Journal of Molecular Medicine*, 75, 312-316.
- Balaguer, E.; Neuss, C. (2006a). *Chromatographia*, 64 (5-6), 351-357.
- Balaguer, E.; Neuss, C. (2006b). *Analytical Chemistry*, 78 (15), 5384-5393.
- Ballard, J.N.M.; Lajoie, G.A.; Yeung, K.K.C. (2007). *Journal of Chromatography A*, 1156 (1-2 SPEC. ISS.), 101-110.
- Benson, D.A.; Karsch-Mizrachi, I.; Lipman, D.J.; Ostell, J.; Wheeler, D.L. (2008). *Nucleic Acids Research*, 36, D25-30.
- Bianco, G.; Schmitt-Kopplin, P.; Crescenzi, A.; Comes, S.; Kettrup, A.; Cataldi, T.R.I. (2003). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 375 (6), 799-804.
- Boyce, M.C. (2007). *Electrophoresis*, 28 (22), 4046-4062.
- Britz-McKibbin, P.; Nishioka, T.; Terabe, S. (2003). *Analytical Sciences*, 19 (1), 99-104.
- Castro-Puyana, M.; Crego, A.L.; Marina, M.L.; Garcia-Ruiz, C. (2007). *Electrophoresis*, 28 (22), 4031-4045.
- Castro-Puyana, M.; Crego, A.L.; Marina, M.L. (2008). *Electrophoresis*, 29 (1), 274-293.
- Chen, R.; Cheng, H.; Wu, W.; Ai, X.; Huang, W.; Wang, Z.; Cheng, J. (2007). *Electrophoresis*, 28 (19), 3347-3361.

- Chen, X.; Wu, H.; Mao, C.; Whitesides, G.M. (2002). *Analytical Chemistry*, 74 (8), 1772-1778.
- Chou, S.H.; Chin, K.H.; Wang, A.H.J. (2005). *Trends in Biochemical Sciences*, 30 (5), 231-234.
- Consortium., T.G.O. (2000). *Nature Genetics.*, 25, 25-29.
- Coufal, P.; Pacakova, V.; Stulik, K. (2007). *Electrophoresis*, 28 (19), 3379-3389.
- Dabek-Zlotorzynska, E.; Celo, V.; Yassine, M.M. (2008). *Electrophoresis*, 29 (1), 310-323.
- Dolnik, V. (2008). *Electrophoresis*, 29 (1), 143-156.
- Drabovich, A.P.; Berezovski, M.; Okhonin, V.; Krylov, S.N. (2006). *Analytical Chemistry*, 78 (9), 3171-3178.
- Edwards, E.L.; Rodrigues, J.A.; Ferreira, J.; Goodall, D.M.; Rauter, A.P.; Justino, J.; Thomas-Oates, J. (2006). *Electrophoresis*, 27 (11), 2164-2170.
- Erny, G.L.; Cifuentes, A. (2007a). *Electrophoresis*, 28 (9), 1335-1344.
- Erny, G.L.; Marina, M.L.; Cifuentes, A. (2007b). *Electrophoresis*, 28 (22), 4192-4201.
- Fernandez, M.P.; Nuñez, Y.; Ponz, F.; Hernaiz, S.; Gallego, F.J.; Ibañez, J. (2008). *Molecular Breeding*, 1-11.
- Font, G.; Ruiz, M.J.; Fernandez, M.; Pico, Y. (2008). *Electrophoresis*, 29 (10), 2059-2078.
- García-Campaña, A.M.; Taverna, M.; Fabre, H. (2007). *Electrophoresis*, 28 (1-2), 208-232.
- García-Cañas, V.; Gonzalez, R.; Cifuentes, A. (2002). *Journal of Separation Science*, 25 (9), 577-583.
- García-Cañas, V.; Cifuentes, A. (2007). *Electrophoresis*, 28 (22), 4013-4030.
- García-Cañas, V.; Cifuentes, A. (2008). *Electrophoresis*, 29 (1), 294-309.
- García-Perez, I.; Vallejo, M.; García, A.; Legido-Quigley, C.; Barbas, C. (2008). *Journal of Chromatography A*, 1204, 130-139.
- García-Villalba, R.; León, C.; Dinelli, G.; Segura-Carretero, A.; Fernandez-Gutierrez, A.; García-Cañas, V.; Cifuentes, A. (2008). *Journal of Chromatography A*, 1195, 164-173.
- Gaspar, A.; Englmann, M.; Fekete, A.; Harir, M.; Schmitt-Kopplin, P. (2008). *Electrophoresis*, 29 (1), 66-79.
- Geiser, L.; Veuthey, J.L. (2007). *Electrophoresis*, 28 (1-2), 45-57.
- Goldsmith, J.G.; Ntuen, E.C.; Goldsmith, E.C. (2007). *Analytical Biochemistry*, 360 (1), 23-29.
- Gong, M.; Nikcevic, I.; Wehmeyer, K.R.; Limbach, P.A.; Heineman, W.R. (2008). *Electrophoresis*, 29 (7), 1415-1422.
- Gotz, S.; Karst, U. (2007). *Sensors and Actuators B: Chemical*, 123 (1), 622-627.
- Han, J.Z.; Wang, Y.B. (2008). *Trends in Food Science and Technology*, 19 (1), 26-30.
- Hanash, S. (2003). *Nature*, 422 (6928), 226-232.
- Hartinger, C.G.; Keppler, B.K. (2007). *Electrophoresis*, 28 (19), 3436-3446.
- Haselberg, R.; de Jong, G.J.; Somsen, G.W. (2007). *Journal of Chromatography A*, 1159 (1-2), 81-109.
- Hau Fung Cheung, R.; Marriott, P.J.; Small, D.M. (2007). *Electrophoresis*, 28 (19), 3390-3413.
- Heck, J.M.L.; Olieman, C.; Schennink, A.; van Valenberg, H.J.F.; Visser, M.H.P.W.; Meuldijk, R.C.R.; van Hooijdonk, A.C.M. (2008). *International Dairy Journal*, 18 (5), 548-555.
- Herrero, M.; Ibañez, E.; Martín-Alvarez, P.J.; Cifuentes, A. (2007). *Analytical Chemistry*, 79 (13), 5071-5077.
- Herrero, M.; Ibañez, E.; Cifuentes, A. (2008). *Electrophoresis*, 29 (10), 2148-2160.
- Hua, N.P.; Naganuma, T. (2007). *Electrophoresis*, 28 (3), 366-372.
- Huang, X.C.; Quesada, M.A.; Mathies, R.A. (1992). *Analytical Chemistry*, 64 (18), 2149-2154.
- Huang, Y.; Jiang, X.; Wang, W.; Duan, J.; Chen, G. (2006). *Talanta*, 70 (5), 1157-1163.
- Huck, C.W.; Stecher, G.; Scherz, H.; Bonn, G. (2005). *Electrophoresis*, 26 (7-8), 1319-1333.
- Huck, C.W.; Bakry, R.; Bonn, G.K. (2006). *Electrophoresis*, 27 (1), 111-125.
- Imbeaud, S.; Gaudens, E.; Boulanger, V.; Barlet, X.; Zaborski, P., et al. (2005). *Nucleic Acids Research*, 33 (6), 1-12.
- Issaq, H.; Abbott, E.; Veenstra, T.D. (2008) *Journal of Separation Science*, 31., 1936-1947.
- Johannesson, N.; Olsson, L.; Backstrom, D.; Wetterhall, M.; Danielsson, R.; Bergquist, J. (2007). *Electrophoresis*, 28 (9), 1435-1443.
- Kamoda, S.; Kakehi, K. (2006). *Electrophoresis*, 27 (12), 2495-2504.
- Kanehisa, M.; Goto, S. (2000). *Nucleic Acids Research*, 28, 27-30.
- Kasicka, V. (2008). *Electrophoresis*, 29 (1), 179-206.
- Kellner, R. (2000). *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 366 (6-7), 517-524.
- Klampfl, C.W. (2007). *Electrophoresis*, 28 (19), 3362-3378.
- Kleparnik, K.; Bocek, P. (2007). *Chemical Reviews*, 107 (11), 5279-5317.
- Kussmann, M.; Raymond, F.; Affolter, M. (2006). *Journal of Biotechnology*, 124 (4), 758-787.
- Kvasnicka, F. (2007). *Electrophoresis*, 28 (20), 3581-3589.
- Kyrpides, N. (1999). *Bioinformatics*, 15, 773-774.
- Lander, E.S.; Linton, L.M.; Birren, B.; Nusbaum, C.; Zody, M.C., et al. (2001). *Nature*, 409 (6822), 860-921.

- Last, R.L.; Jones, A.D.; Shachar-Hill, Y. (2007). *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8 (2), 167-174.
- Levandi, T.; Leon, C.; Garcia-Cañas, V.; Kaljurand, M.; Cifuentes, A. (2008). *Analytical Chemistry in press*.
- Lochman, P.; Adam, T.; Friedecky, D.; Hlidkova, E.; Skopkova, Z. (2003). *Electrophoresis*, 24 (7-8), 1200-1207.
- Malodobra, M.; Lebioda, A.; Majda, F.; Skoczynska, A.; Dobosz, T. (2007). *Diabetologia Doswiadczalna i Kliniczna*, 7 (5), 220-224.
- Monton, M.R.N.; Soga, T. (2007). *Journal of Chromatography A*, 1168 (1-2), 237-246.
- National Academy Press, (1988).
- Ordovas, J.M.; Corella, D. (2004). *Nutritional genomics. Annual Review of Genomics and Human Genetics*. 5: 71-118.
- Poinsot, V.; Rodat, A.; Gavard, P.; Feurer, B.; Couderc, F. (2008). *Electrophoresis*, 29 (1), 207-223.
- Ravelet, C.; Grosset, C.; Peyrin, E. (2006). *Journal of Chromatography A*, 1117 (1), 1-10.
- Revermann, T.; Gotz, S.; Kunnemeyer, J.; Karst, U. (2008). *Analyst*, 133 (2), 167-174.
- Robertson, D.G. (2005). *Toxicological Sciences*, 85 (2), 809-822.
- Rodríguez-Nogales, J.M.; Vivar-Quintana, A.M.; Revilla, I. (2007). *Journal of Dairy Science*, 90 (7), 3187-3196.
- Ruta, J.; Ravelet, C.; Grosset, C.; Fize, J.; Ravel, A.; Villet, A.; Peyrin, E. (2006). *Analytical Chemistry*, 78 (9), 3032-3039.
- Sánchez, L.; Gonzalez, R.; Crego, A.L.; Cifuentes, A. (2007). *Journal of Separation Science*, 30 (4), 579-585.
- Shambaugh, C.L.; Bodmer, J.L.; Hsu, D.; Ranucci, C.S. (2004). *Journal of Chromatography A*, 1051 (1-2), 161-170.
- Skelley, A.M.; Aubrey, A.D.; Willis, P.A.; Amashukeli, X.; Ehrenfreund, P., et al. (2007). *Journal of Geophysical Research G: Biogeosciences*, 112 (4).
- Soga, T.; Kakazu, Y.; Robert, M.; Tomita, M.; Nishioka, T. (2004). *Electrophoresis*, 25 (13), 1964-1972.
- Song, E.J.; Babar, S.M.E.; Oh, E.; Hasan, M.N.; Hong, H.M.; Yoo, Y.S. (2008). *Electrophoresis*, 29 (1), 129-142.
- Soria, A.C. (2006). *Boletín Secyta*, 27 (1), 8-17.
- Sotgia, S.; Carru, C.; Franconi, F.; Fiori, P.B.; Manca, S., et al. (2008). *Journal of Chromatography A*, 1185 (1), 145-150.
- Sun, Y.; Cressman, S.; Fang, N.; Cullis, P.R.; Chen, D.D.Y. (2008). *Analytical Chemistry*, 80 (9), 3105-3111.
- Suresh-Babu, C.V.; Song, E.J.; Babar, S.M.E.; Wi, M.H.; Yoo, Y.S. (2006). *Electrophoresis*, 27 (1), 97-110.
- Tagliaro, F.; Bortolotti, F.; Pascali, J.P. (2007). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 388 (7), 1359-1364.
- Tahkonen, H.; Helmja, K.; Menert, A.; Kaljurand, M. (2006). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41 (5), 1585-1591.
- Takahashi, H.; Hayashi, M.; Goto, F.; Sato, S.; Soga, T., et al. (2006). *Annals of Botany*, 98 (4), 819-825.
- Tempels, F.W.A.; Underberg, W.J.M.; Somsen, G.W.; de Jong, G.J. (2007). *Electrophoresis*, 28 (9), 1319-1326.
- Theodorescu, D.; Schiffer, E.; Bauer, H.W.; Douwes, F.; Eichhorn, F., et al. (2008). *Proteomics - Clinical Applications*, 2 (4), 556-570.
- Thorson, J.A.; Weigelin, H.C.; Ruiz, R.E.; Howard, J.K.; Lucas, D.R. (2006). *Modern Pathology*, 19 (5), 641-647.
- Timerbaev, A.R. (2007). *Electrophoresis*, 28 (19), 3420-3435.
- Venter, J.C.; Adams, M.D.; Myers, E.W.; Li, P.W.; Mural, R.J., et al. (2001). *Science*, 291 (5507), 1304-1351.
- Vreeland, W.N.; Desruisseaux, C.; Karger, A.E.; Drouin, G.; Slater, G.W.; Barron, A.E. (2001). *Analytical Chemistry*, 73 (8), 1795-1803.
- Wang, S.; Zhao, X.; Mao, Y.; Cheng, Y. (2007). *Journal of Chromatography A*, 1147 (2), 254-260.
- Wishart, D.S.; Tzur, D.; Knox, C.; Eisner, R.; Guo, A.C., et al. (2007). *Nucleic Acids Research*, 35 (SUPPL. 1).
- Wishart, D.S. (2008) *Trends in Food Science & Technology*, 19, 482-493.
- Zhang, X.; Yap, Y.; Wei, D.; Chen, G.; Chen, F. (2008). *Biotechnology Advances*, 26 (2), 169-176.
- Zimmerli, L.U.; Schiffer, E.; Zurbig, P.; Good, D.M.; Kellmann, M., et al. (2008). *Molecular and Cellular Proteomics*, 7 (2), 290-298.

* * * * *

Columnas monolíticas de base sílice: propiedades, preparación, modificaciones químicas y aplicaciones en cromatografía de líquidos.

Óscar Núñez

Departamento de Química Analítica. Facultad de Química. Universidad de Barcelona.

Martí i Franquès, 1-11, 08028, Barcelona.

Tel. 93 402 1286 - Fax. 93 402 1233

e-mail: oscar.nunez@ub.edu

1. INTRODUCCIÓN

La cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC) se ha convertido hoy en día en una de las técnicas más populares para el análisis cualitativo y/o cuantitativo de un gran número de compuestos. El desarrollo de columnas para HPLC está, por lo tanto, evolucionando de manera muy significativa en los últimos años. Dentro de la gran diversidad de columnas utilizadas en HPLC nos encontramos con las cada vez más conocidas columnas monolíticas. La tecnología de monolitos empezó a ser utilizada en columnas para HPLC entre finales de los años 80 y mediados de los 90^(1,2). Para entender cómo son estos materiales monolíticos nos los podemos imaginar como una única "partícula" porosa que ocupa completamente el volumen de la columna sin que haya ninguno de los espacios inter-particulares típicos de las columnas de partículas empaquetadas convencionales. De esta manera se obliga a que la fase móvil circule completamente por la fase estacionaria proporcionando unas propiedades inmejorables a este tipo de columnas.

En la actualidad, las columnas monolíticas empiezan a ser una muy buena alternativa a las columnas de partículas empaquetadas convencionales para separaciones de alta eficacia en HPLC⁽³⁻⁶⁾. Gracias al pequeño tamaño de sus esqueletos de sílice y a sus amplios macroporos (*through-pores*) se alcanzan mayores eficacias de separación que con columnas de partículas empaquetadas a una similar presión de trabajo⁽⁷⁾. Con respecto a estas columnas se han descrito numerosas aplicaciones en varias modalidades cromatográficas, incluyendo la cromatografía de gases (GC), HPLC, y la electrocromatografía capilar (CEC), en diversos artículos de revisión^(6,8-14) y en algunos capítulos de libro^(15,16), así como algunas aplicaciones de los monolitos para ser utilizados en métodos de preconcentración y de extracción en fase sólida⁽¹⁷⁾. Recientemente, el Profesor Guiochon (Universidad de Tennessee, USA) publicó un extenso artículo de revisión sobre columnas monolíticas en HPLC⁽¹⁸⁾.

Las columnas monolíticas se dividen en dos grandes tipos: (i) las columnas monolíticas poliméricas, que consisten en la obtención de polímeros orgánicos mediante polimerización in-situ de los monómeros orgánicos adecuados^(5,8,10,11,16-20), y (ii) las columnas monolíticas de base sílice, preparadas a partir de un proceso de sol-gel dentro de la columna^(2,21-29). Este artículo de revisión se centrará en la preparación de columnas monolíticas de base sílice (tanto convencionales como capilares) desde un punto de vista de la preparación del esqueleto de sílice así como de las modificaciones químicas posteriores para obtener columnas de diferente naturaleza. Hoy en día se han descrito una gran variedad de procedimientos de modificación del esqueleto de sílice de las columnas monolíticas con el objetivo de dotar dichas columnas de la funcionalidad adecuada para obtener fases estacionarias óptimas para separaciones quirales, de intercambio iónico, por cromatografía de interacción hidrofílica (HILIC) y para cromatografía en fase invertida, así como la posibilidad de obtener fases estacionarias mixtas. El objetivo de este artículo de revisión es describir los procedimientos de preparación y de modificación de estas columnas de base sílice, incluyendo aquellos basados en métodos de polimerización que tienen como objetivo la unión de cadenas poliméricas sobre la superficie del esqueleto de sílice tal y como está descrito para el caso de partículas⁽³⁰⁻³²⁾. También se resumirán las propiedades y características más importantes de estas columnas así como algunas de las aplicaciones descritas en la literatura.

2. PROPIEDADES Y CARACTERÍSTICAS.

Como se ha comentado en la introducción, las columnas monolíticas consisten en una pieza de un material poroso continuo y herméticamente sellado contra la pared de un tubo (o capilar), de manera que la fase móvil está obligada a pasar a través de todo el lecho de la columna, sin que haya ningún tipo de espacio intersticial libre. Este material poroso se caracteriza, por lo general,

mediante una distribución de tamaño de poros bimodal. El modo de tamaño más largo de esta distribución bimodal corresponde a los llamados macroporos (o *throughpores*) (Figura 1a). Estos poros están interconectados formando canales a través de los cuales fluye prácticamente toda la fase móvil. El tamaño medio de estos canales controla la permeabilidad de la columna y, por tanto, la pre-

sión a la que la fase móvil debe ser bombeada para mantenerla a una determinada velocidad o flujo. A diferencia de la mayoría de columnas poliméricas que no presentan un modo de pequeño tamaño en su distribución de tamaños de poro^(33,34), las columnas monolíticas de sílice sí que lo presentan y corresponde a los mesoporos (Figura 1b). Éstos se encuentran en protuberancias del sólido poroso

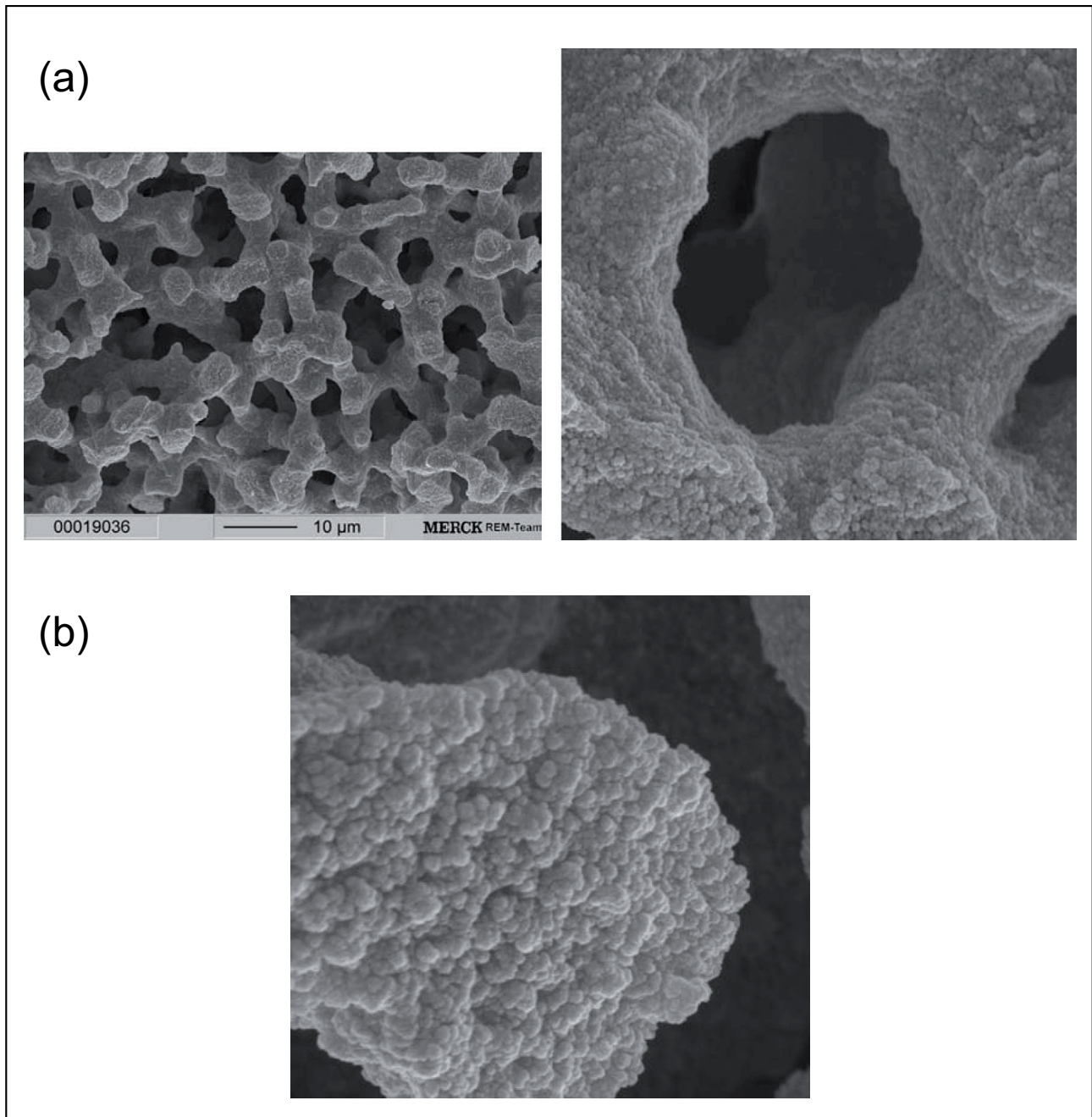


Figura 1. (a) Imagen SEM de la estructura porosa de una columna monolítica de sílice (izquierda) y vista aumentada de la entrada a un macroporo o *throughpore* (derecha). (b) Imagen SEM de la estructura de un mesoporo en el esqueleto de una columna monolítica de sílice. Reproducido de la ref. [6] con permiso de Wiley.

que se localizan entre los canales formados por los macroporos. De la porosidad de estos mesoporos dependerá en gran parte la cantidad de fase estacionaria enlazada en el esqueleto de sílice y, en consecuencia, el factor de retención de los analitos. Será necesario llegar siempre a un compromiso de porosidad pues también afectará a la presión final de trabajo.

Con respecto a las propiedades estructurales de las columnas monolíticas de sílice, una gran ventaja es que mediante el control de la composición de la mezcla de reacción inicial (concentración de silanos y de poli(etilenglicol) (PEG)) se puede controlar de manera independiente y hasta cierto punto el tamaño del esqueleto de sílice y de los macroporos. Así es posible producir monolitos con una relación de *tamaño de macroporo/tamaño de esqueleto* mucho más grande que los equivalentes encontrados en columnas de partículas empaquetadas. Este punto será discutido con más profundidad al tratar la preparación de los monolitos en el siguiente apartado.

Si se quieren obtener columnas que produzcan una elevada eficacia de separación en un tiempo relativamente corto es necesario reducir el tamaño de los macroporos y del esqueleto de sílice. El tamaño de este dominio en una columna monolítica (la suma del tamaño del esqueleto más la del macroporo) equivale al tamaño de las partículas en las columnas de partículas empaquetadas a la hora de calcular la eficacia. Motokawa y col., prepararon columnas monolíticas de sílice con varios tamaños de esqueleto (entre 1-2 μm) y de macroporos (entre 2 y 8 μm) en capilares de sílice fundida (de entre 50 a 200 μm de diámetro interno)⁽³⁵⁾. Tal como se esperaba, las columnas con un dominio más pequeño presentaban eficacias superiores, aunque con presiones también superiores. Utilizando una fase móvil de acetonitrilo: agua (80:20 v/v) a una velocidad lineal de 1 mm/s estas columnas monolíticas de sílice preparadas en capilares producen eficacias con una altura mínima de plato teórico de 8-12 μm .

El tamaño de los macroporos en los monolitos de sílice preparados en capilares puede ser bastante superior al tamaño del esqueleto, con lo que se puede obtener una relación "tamaño de poro/tamaño de esqueleto" de entre 1,5 y 4⁽³⁾. En el caso de columnas de partículas empaquetadas esta relación se encuentra entre 0,25 y 0,4⁽²¹⁾, y entre 1,2 y 1,5 para columnas monolíticas de sílice preparadas en molde, debido a la contracción producida en el proceso de fabricación⁽³⁶⁾, lo que afectará a la porosidad de estas columnas. En general, la porosidad de las columnas monolíticas de sílice es mucho mayor que para las columnas de partículas empaquetadas⁽³⁾. Como se ha comentado anteriormente y se describirá con más profun-

didad en el siguiente capítulo, también se puede controlar el tamaño de los mesoporos en la estructura de sílice cambiando el pH y la temperatura de la mezcla de reacción después de la preparación del monolito, con lo que se pueden obtener mesoporos de 10 a 25 nm^(19,37), y en algunos casos extremos de hasta 400 nm⁽³⁸⁾, aumentando de esta manera la porosidad interna. Sin embargo, las mayores diferencias se pueden encontrar en la porosidad externa, la cual se encuentra en torno a un 40% para columnas de partículas empaquetadas, entre un 65-70% para los monolitos de sílice preparados en molde y hasta un 80% para los monolitos de sílice preparados en capilares⁽²⁸⁾, lo cual lleva a obtener columnas con superiores permeabilidades, siendo ésta una de las mayores ventajas de las columnas monolíticas, ya que nos permitirá trabajar a elevadas presiones.

Las columnas monolíticas de sílice comerciales con una porosidad externa entorno a un 60% y superiores macroporos producen una permeabilidad que viene a ser el doble que la obtenida para una columna de partículas empaquetadas de 5 μm , y una eficacia un 20-30% superior⁽³⁵⁾.

En resumen, las columnas monolíticas de sílice se caracterizan por presentar mayores porosidades que las columnas de partículas empaquetadas, con una mayor eficacia en columna, superiores permeabilidades y, en consecuencia, permiten trabajar a mayores flujos de fase móvil (mayores presiones). Sin embargo, no todo son ventajas, pues una mayor porosidad implica que hay una menor cantidad de sílice en la columna, lo que llevará a una menor cantidad de fase estacionaria después de realizar la correspondiente modificación química (que es la que le proporcionará funcionalidad a la columna). Esto se traducirá en menores factores de retención de los analitos y una disminución en su capacidad de separación. En la actualidad, los esfuerzos se centran en preparar columnas monolíticas con mayor fase estacionaria enlazada manteniendo las mismas propiedades de eficacia y permeabilidad. Esto será discutido con mayor profundidad en el capítulo 4.

3. PREPARACIÓN DEL MONOLITO DE SÍLICE.

Las columnas monolíticas de base sílice se preparan mediante un proceso de sol-gel, en el que se produce la hidrólisis de un compuesto de tipo silano o de una mezcla de este tipo de compuestos (como por ejemplo, tetralcoxisilanos, tetrametoxisilano o metiltrimetoxisilano), en presencia de un compuesto inerte (poli(etilenglicol) o ciertos disolventes) que se denomina porógeno. Así, la

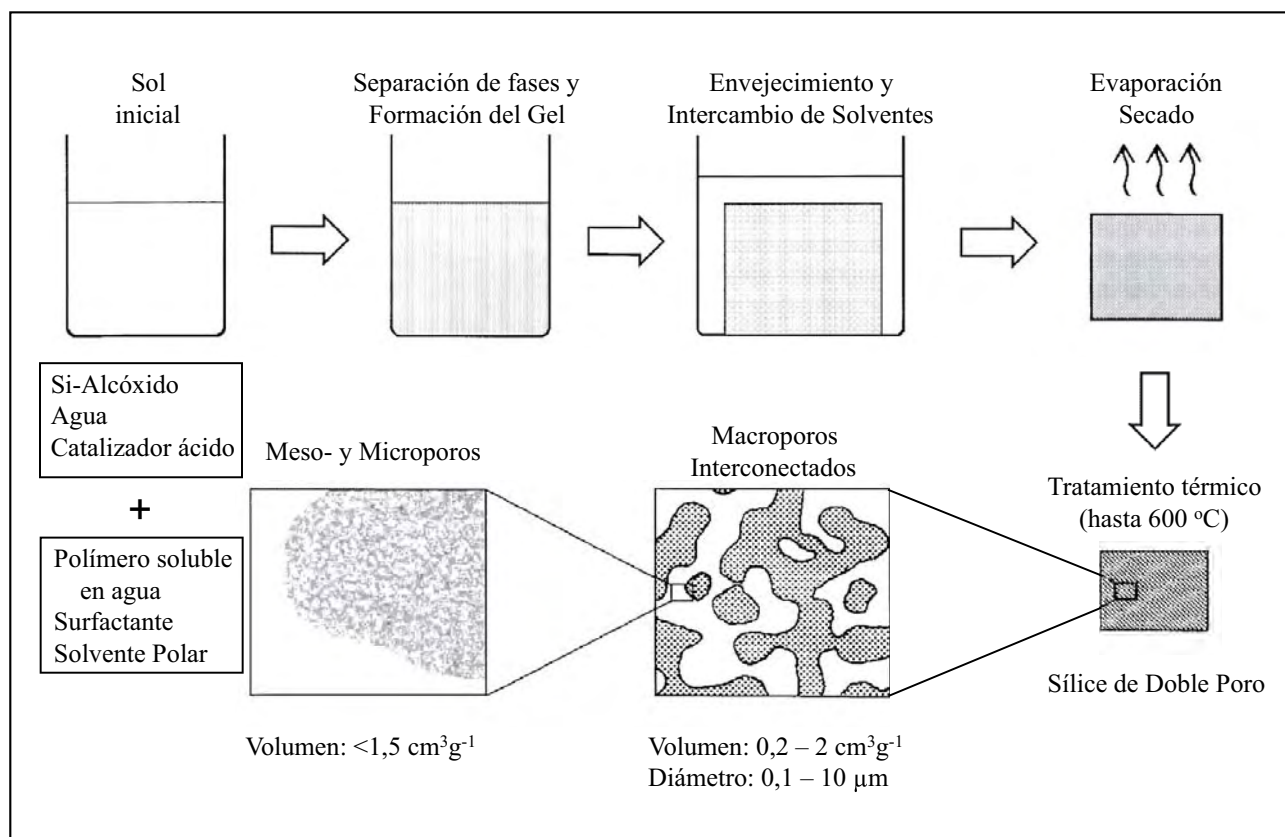


Figura 2. Esquema del procedimiento de preparación de un monolito de base sílice. Reproducido de la ref. [25] con permiso de Springer.

transición química de una solución de alcoxisilanos a un gel de sílice se produce generalmente mediante dos tipos de reacción; hidrólisis y policondensación, partiendo de grupos $\text{Si}(\text{OR})_4$ para acabar formando enlaces Si-O-Si que constituirán los correspondientes oligómeros y polímeros de base sílice. En la Figura 2 se presenta un esquema del procedimiento utilizado para la preparación de estos monolitos. En esta reacción de policondensación, que es exotérmica, el producto se vuelve insoluble y termina precipitando. Dependiendo de las condiciones experimentales precipitará como partículas o como una masa monolítica con amplios poros intersticiales donde se localizarán los porógenos u otros aditivos que se hayan añadido en la mezcla inicial. Así, en esta primera etapa del proceso sol-gel se produce una separación de fases que dará lugar a dos estructuras o dominios co-continuos claramente diferenciados. Un primer dominio rico en sílice (que dará lugar al correspondiente esqueleto de sílice) y un dominio rico en disolventes (que tras su eliminación dará lugar a los macroporos)⁽⁸⁾. La concentración de los reactivos y porógenos de la disolución inicial controla la

distribución de tamaños de estos macroporos. El gel obtenido es entonces envejecido mediante un gradiente de temperatura que favorece la formación gradual de microporos (red de mesoporos en el esqueleto de sílice) a un pH moderadamente alcalino, razón por la cual se añade urea o bien una disolución amoniacal como aditivo en la mezcla inicial. Para finalizar, el gel se seca a elevada temperatura con lo que se obtiene finalmente la correspondiente columna monolítica de base sílice.

Los principales reactivos alcoxisilanos utilizados son el tetrametoxisilano (TMOS) o el tetraetoxisilano (TEOS), mientras que los aditivos que inducen la separación de fases son polímeros y surfactantes solubles en agua. Por ejemplo, el PEG es uno de los más utilizados y permite controlar el tamaño y el volumen de los macroporos en el gel debido a que los grupos glicol forman enlaces de hidrógeno muy fuertes con los grupos silanol del polímero de sílice a media que éste se va formando. De esta manera es fácil controlar la relación entre el tamaño de los macroporos y el tamaño del esqueleto de sílice del

monolito a partir de la relación PGE/sílice (reactivos alcoxisilanos) de la mezcla inicial de reacción. El volumen de estos macroporos formados en el esqueleto de sílice también dependerá de la fracción de volumen de disolventes utilizada en la mezcla inicial de reacción. Esto representa una gran ventaja en el desarrollo de columnas monolíticas de base sílice ya que el tamaño y el volumen de los macroporos puede ser controlado independientemente mediante el uso de PEG u otros compuestos análogos como aditivo. Por otro lado, el monolito formado, que consta de un esqueleto de sílice con una red de macroporos, a su vez contiene microporos, el tamaño de los cuales puede ser controlado mediante el tratamiento con disoluciones amoniacaes o urea, como se ha comentado anteriormente, para formar los llamados mesoporos del esqueleto.

Los primeros monolitos de base sílice fueron descritos por Nakanishi y Soga y se prepararon a partir de mezclas de disoluciones de TEOS y TMOS que contenían inicialmente poli(estireno sulfonato de sodio), usando diferentes lotes con pesos moleculares (MW) entre 30 y 600 kDa⁽³⁹⁾. Este polímero fue posteriormente reemplazado por ácido poliacrílico (HPAA, MW cercano a 90.000), y ácido nítrico como catalizador para la hidrólisis⁽⁴⁰⁾, y finalmente por óxido de polietileno (PEO)^(2,23). En estas primeras publicaciones se dan numerosos detalles que giran en torno a la influencia de diferentes parámetros como son la concentración y peso molecular del polímero utilizado, la composición del disolvente, etc., en la morfología del gel obtenido y en los tamaños medios de los diferentes dominios de la columna monolítica.

En general, las columnas monolíticas de base sílice se pueden preparar tanto en un molde (por ejemplo un tubo de vidrio de 6-9 mm de diámetro interno) para generar una columna en forma de barra (columnas monolíticas convencionales), o en capilares de sílice fundida^(8,23,28,41), dando lugar a las columnas monolíticas capilares. La preparación de estas columnas en un molde suele ir acompañada de una contracción espontánea de toda la estructura, lo que conlleva que el producto resultante presente diámetros en torno a 4,6 ó 7 mm cuando se utilizan moldes de 6 a 9 mm de diámetro interno, respectivamente. Esta contracción también se produce durante los procesos de envejecimiento y secado de la columna, con lo que el resultado final es que la columna tiende a separarse de la pared del molde. Dicha columna, por tanto, no puede ser utilizada como una columna de HPLC directamente en el molde en el que ha sido preparada, y se hace necesario "encapsular" la barra de monolito en un tubo de PTFE o bien cubrirlo con una resina de PEEK, para su posterior uso en HPLC. Estas columnas recubiertas con PEEK

pueden soportar presiones de hasta 200 kg/cm². Hoy en día, este tipo de columnas monolíticas de base sílice son comercializadas por Merck en longitudes de entre 1 y 10 cm con el nombre genérico de Chromolith⁽⁴²⁾.

En la literatura se describe la preparación de columnas monolíticas capilares de base sílice utilizando la tecnología sol-gel en capilares de sílice fundida de diámetros internos entre 50 y 530 μm para su uso tanto en HPLC como en CEC^(5,8,35,43-46). En estos casos el esqueleto de sílice necesita ser unido covalentemente a la pared del capilar para obtener un monolito con buenas propiedades, lo cual se suele conseguir mediante un tratamiento previo con NaOH y utilizando capilares de diámetro interno pequeño. En el caso de capilares de mayor diámetro, el uso de una mezcla de TMOS y metiltrimetoxisilano (MTMS) en vez de tan solo TMOS minimiza la contracción del gel de sílice durante su formación. Las columnas monolíticas capilares se preparan siguiendo el mismo procedimiento que para las columnas monolíticas de barra o convencionales^(2,4,23,43,47). El profesor Nakanishi y col., describen un método de preparación de los mesoporos en el esqueleto de sílice donde su tamaño puede ser controlado mediante el envejecimiento del monolito en una disolución de amoniaco generado a partir de la hidrólisis de urea⁽³⁷⁾. La adición de urea como aditivo en la mezcla inicial de reacción hace que este proceso sea muy fácil, ya que los mesoporos se pueden preparar simplemente calentando los capilares repletos de la mezcla de reacción a 120 °C.

A continuación se describirá con más detalle el procedimiento de preparación del esqueleto de sílice en las columnas monolíticas capilares. Este procedimiento es, más o menos, equivalente al utilizado para las columnas monolíticas de barra o convencionales. En primer lugar se realiza una etapa de activación del capilar de sílice fundida (de 2 a 3 metros de capilar) en la que éste es tratado con una disolución 1 M de NaOH a 40 °C durante 3 h. Después del correspondiente lavado con agua, el capilar se trata con una disolución 1 M de HCl, también a 40 °C y durante 1 h, y finalmente se limpia con agua y con acetona. Una vez activados los capilares estos están listos para ser llenados con la mezcla de reacción. Una mezcla de reacción típica se puede preparar de la siguiente manera: se añaden 40 mL de TMOS a 100 mL de una disolución 0,01 M de ácido acético que contiene 12,4 g de PEG (MW 10,000) y 9 g de urea. Esta disolución se agita a 0 °C durante media hora. La disolución homogénea resultante se filtra utilizando filtros de PTFE de 0,45 μm y se introduce dentro del capilar, permitiendo la reacción a 30 ó 40 °C hasta que se produzca la separación de fases. El gel resultante se envejece en el mismo capilar durante unas

20-24 h a la misma temperatura. A continuación, se aumenta la temperatura de forma gradual (durante unas 10-20 h en función de la longitud de la columna) y se mantiene a 120 °C durante 3 h para formar los mesoporos mediante la acción del amoníaco generado por hidrólisis de la urea. Finalmente, las columnas se limpian con agua y metanol. Este proceso de limpieza se ha de realizar de manera muy exhaustiva y se suele llevar a cabo durante varios días. La última etapa es un tratamiento térmico de la columna a 330 °C durante 25 h en el que se producirá la pirólisis de todos los restos orgánicos que queden en la columna. La principal ventaja de la preparación de columnas monolíticas capilares utilizando este procedimiento es que éstas pueden ser utilizadas sin ningún tipo de fritado. No obstante, es necesario descartar unos 10 cm de los extremos del capilar debido a la contracción que se produce en el esqueleto de sílice durante su fabricación. Así, a partir de unos 3 m de capilar de sílice fundida, se puede obtener una columna monolítica capilar de base sílice de 2,80 m, y a partir de aquí se puede cortar en las longitudes que sean necesarias en función de la aplicación.

Recientemente, Hara y col., han descrito un procedimiento de preparación de columnas monolíticas capilares de base sílice que presenta algunas modificaciones (consideradas como las columnas monolíticas de “segunda generación”), dando lugar a columnas que se caracterizan por contener dominios de menor tamaño y una estructura de macroporos mucho más homogénea y, en consecuencia, presentan una mayor eficacia que las denominadas columnas monolíticas de “primera generación”⁽⁴⁸⁾. El procedimiento para la preparación de estas nuevas columnas es muy similar al descrito anteriormente, aunque se varió la temperatura (25 °C en vez de 30-40 °C) y el contenido de compuestos silano en la mezcla inicial de reacción. Para ello incrementaron el contenido de TMOS con respecto al descrito anteriormente hasta 1,8 veces, obteniendo los mejores resultados cuando el contenido de TMOS era 1,4 veces el descrito para las columnas de “primera generación”⁽³⁵⁾. Estas columnas monolíticas capilares de sílice de “segunda generación” desarrolladas por Hara y col., han mostrado propiedades similares o mejores que las obtenidas con columnas de partículas empaquetadas de 2-3 µm en cuanto a eficacia a una determinada presión de trabajo, gracias a su mayor uniformidad en la estructura de macroporos del esqueleto de sílice.

En la actualidad, el grupo del Profesor Tanaka intenta mejorar el procedimiento de preparación de estas columnas monolíticas con el objetivo de aumentar la reproducibilidad en la preparación y obtener columnas de mayor longitud con las mismas prestaciones. Recientemente,

han conseguido fabricar columnas capilares de hasta 4,4 m de longitud capaces de conseguir hasta 500.000 platos teóricos a una velocidad lineal de 1-2 mm/s (fase móvil de acetonitrilo-agua 80:20 v/v). Así, les ha sido posible preparar columnas con una altura de plato mínima de $8,5 \pm 0,5$ µm y una elevada permeabilidad⁽⁴⁹⁾. La unión de varias de estas columnas hasta conseguir una longitud de 12,40 m ha permitido generar hasta un millón de platos teóricos para algunos hidrocarburos aromáticos con factores de retención de hasta 2,4. El grupo del Profesor Tanaka se prepara para desarrollar lo que denominan las columnas monolíticas de sílice de “tercera generación”, capaces de conseguir muy elevadas eficacias y con una gran reproducibilidad en su preparación.

4. MODIFICACIONES QUÍMICAS Y APLICACIONES.

Una vez la columna monolítica de sílice ha sido preparada, ésta puede ser modificada químicamente para dotarla de la funcionalidad adecuada según el tipo de fase estacionaria que se quiera obtener (quirales, de intercambio iónico, HILIC o fase invertida, por ejemplo). En este apartado se tratarán algunos métodos descritos en la literatura para obtener dichas fases estacionarias, así como algunos ejemplos de aplicación de estas columnas. Cabe decir que la mayoría de las aplicaciones descritas se han realizado usando las columnas Chromolith distribuidas por Merck. Esto no es de extrañar debido a que ciertos pasos en la preparación de los monolitos de sílice (como el secado y el encapsulado de las columnas formadas en molde) es complicado de conseguir en laboratorios académicos y Merck tiene procedimientos patentados para este propósito que funcionan con bastante éxito⁽⁵⁰⁻⁵³⁾.

La modificación química del monolito de sílice se puede llevar a cabo siguiendo un procedimiento monomérico o polimérico. En el primer caso, la modificación se realiza mediante reacción directa entre la sílice y un reactivo con el grupo funcional deseado, o bien a través de la introducción previa de un agente que actúa como espaciador y a continuación la reacción con un ligando que introducirá la funcionalidad adecuada. Pero también se pueden utilizar métodos de polimerización para funcionalizar los monolitos de sílice. En estos casos siempre es necesario primero introducir un agente espaciador o de anclaje que facilite la unión del polímero sobre la sílice. A continuación se explicarán algunos procedimientos de modificación química descritos en la literatura para columnas monolíticas de sílice y se compararán algunas de sus propiedades con respecto a columnas de partículas empaquetadas.

4.1. Cromatografía en fase invertida.

La mayoría de las publicaciones que versan sobre el uso de columnas monolíticas de sílice para cromatografía en fase invertida realizan la modificación química de dichas columnas utilizando octadecildimetil-N,N-dietilaminosilano (ODS-DEA)⁽⁵⁴⁾ para obtener los llamados monolitos de sílice ODS^(4,35,43,46,48,55-58). La modificación se consigue simplemente haciendo pasar por la columna una disolución al 20% de ODS-DEA en tolueno durante 3 h y a 60 °C, seguido de lavados con tolueno y THF. El procedimiento se suele repetir un par de veces.

Por lo general, cuando estas modificaciones se realizan en columnas capilares, las permeabilidades son superiores que en columnas convencionales, debido a su mayor porosidad, lo que implica que la cantidad de sílice presente en el interior de la columna es muy pequeña y, en consecuencia, también lo es la cantidad de fase estacionaria. Por ejemplo, la cantidad de fase estacionaria en una columna monolítica capilar preparada a partir de TMOS y estimada en relación a los factores de retención (*k*) de una mezcla de alquilbencenos es 0,02-0,03⁽²⁸⁾ o bien 0,04-0,05 para las columnas de segunda generación⁽⁴⁸⁾, comparada con 0,06 para una columna monolítica de barra o convencional y 0,19 para columnas de partículas empaquetadas⁽²³⁾. Así que, en general, cabe esperar obtener menores factores de retención para los analitos en las columnas monolíticas capilares de base sílice que en las columnas monolíticas de sílice convencionales o bien en las de partículas empaquetadas⁽²⁸⁾.

Normalmente se prefieren elevadas retenciones si al mismo tiempo se mantiene una elevada eficacia, ya que permitirá aumentar la capacidad de separación de la columna. Sin embargo, en las columnas monolíticas de sílice con elevada porosidad no se suelen obtener elevadas retenciones debido a su menor relación de fases (volumen de la fase estacionaria dividido por el volumen de la fase móvil en la columna). Una vía de aumentar la relación de fases es aumentando la cantidad de sílice dentro de las columnas capilares como está descrito para las columnas de segunda generación del grupo del Profesor Tanaka⁽⁴⁸⁾. La segunda vía es aumentando la cantidad de fase estacionaria unida al soporte de sílice, lo que se puede conseguir utilizando reacciones de polimerización. Estas modificaciones mediante reacciones de polimerización pueden aumentar la relación de fases dentro de la columna monolítica a través de la unión de cadenas poliméricas con un mayor número de grupos funcionales de manera equivalente a como se ha descrito en el caso de partículas^(31,32). En un trabajo reciente se desarrolló una columna capilar monolítica de sílice con una elevada

retención y eficacia mediante la polimerización de octadecil metacrilato usando α,α' -azobis-isobutironitrilo (AIBN) como iniciador de radicales libres⁽⁵⁹⁾. El primer paso en este método de modificación química consiste en una reacción de la columna con 3-metacriloxipropiltrimetoxisilano (MOP) con el objetivo de anclar en el esqueleto de sílice un monómero con un doble enlace que permitirá la polimerización sobre él del octadecil metacrilato (ODM). Esto se consigue pasando a través de la columna una mezcla de MOP:piridina 1:1 (v/v) durante 48 h y manteniendo la temperatura a 80 °C, seguido de lavados con metanol. La columna se limpia durante 3 h con tolueno y se carga con la mezcla de reacción (250 μ L del monómero ODM + 250 μ L de una disolución de 38.6 mg/mL de AIBN en tolueno), dejándola polimerizar durante 3 h a 80 °C. Una vez realizada la polimerización, la columna se limpia con tolueno (un mínimo de 24 h) y con metanol. Realizando la polimerización a una elevada concentración de monómero y de iniciador se pueden obtener columnas con una elevada retención (*k* para el amilbenceno de hasta 4.2 comparado con 1.7 para una columna modificada con ODS y utilizando como fase móvil metanol:agua 80:20 v/v), y manteniendo una elevada eficacia (*H*) para el uracil de 10 μ m. Por tanto, se consigue aumentar la relación de fases y, en consecuencia, la retención de la columna, manteniendo una eficacia similar a la de una columna modificada con ODS.

En una publicación más reciente, se estudió la selectividad de estas columnas ODM para diversos compuestos polares y no polares⁽⁶⁰⁾. En general, la columna monolítica de sílice modificada por polimerización del ODM parece presentar una mayor preferencia por compuestos con carácter aromático, y estructuras planas y rígidas (estructuras más compactas), cuando se comparan con la misma columna modificada con ODS. A modo de ejemplo, la Figura 3 muestra la separación de los isómeros $\leq\beta$ y $\geq\alpha$ tocoferol usando una columna monolítica capilar de ODM de 25 cm (200 μ m de diámetro interno). La separación de isómeros del tocoferol es complicada de obtener con columnas convencionales de C18^(61,62). Tal como puede observarse, se obtiene una separación aceptable utilizando una fase móvil de metanol:agua 95:5 v/v mientras que dichos isómeros no pueden ser separados con una columna monolítica capilar de ODS de la misma longitud, ni aún usando una columna de hasta 440 cm.

4.2. Separaciones quirales.

Muchos compuestos, como ciertas drogas, aditivos alimentarios, etc., presentan actividad quiral, lo que hace que las separaciones quirales se hayan convertido en un campo muy importante en cromatografía de líquidos. En

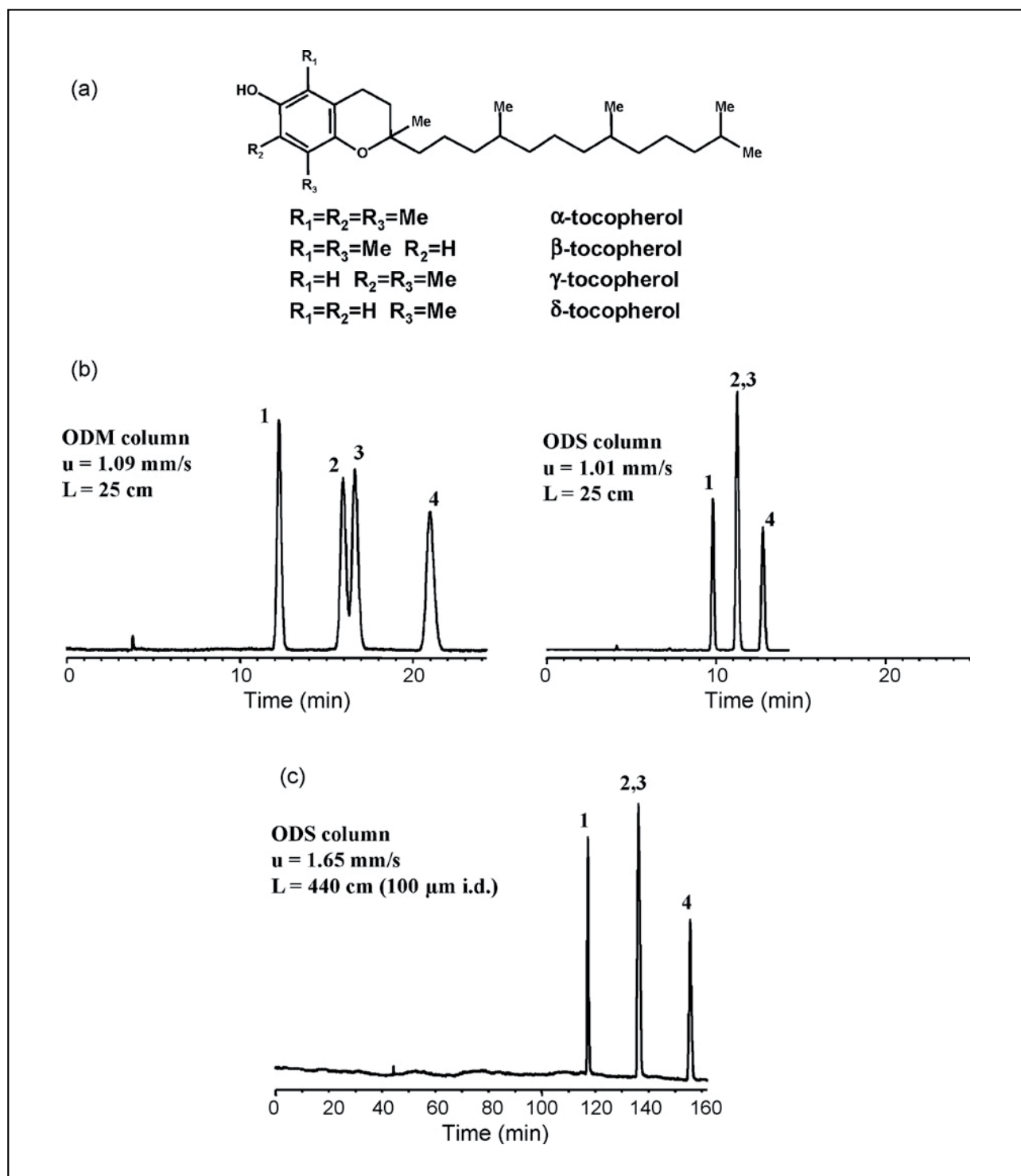


Figura 3. (a) Estructuras químicas de los isómeros del tocoferol. (b) Separación de tocoferoles con columnas ODM y ODS (25 cm x 200 μ m I.D.) usando metanol:agua 95:5 (v/v) como fase móvil. Tiourea se usó como marcador de to. Detección realizada a 295 nm y 30 oC. (c) Separación de tocoferoles usando una columna monolítica capilar de sílice de elevada longitud modificada con ODS (440 cm x 100 μ m I.D.). Resto de condiciones como en (b). Identificación de picos: 1, δ tocoferol; 2, β tocoferol; 3, γ tocoferol; 4, α tocoferol. Reproducido de la ref. [60] con permiso de Eselvier.

la literatura existen diversas aplicaciones que describen la utilización de columnas monolíticas de sílice para separaciones quirales, tanto utilizando columnas capilares (en μ -HPLC y cromatografía de líquidos capilar) ⁽⁶³⁻⁶⁸⁾, como las columnas Chromolith de Merck modificadas adecuadamente ⁽⁶⁹⁻⁷¹⁾.

Los derivados polisacáridos son, por ejemplo, muy utilizados para obtener fases estacionarias quirales para separaciones enantioméricas en HPLC. Chandvetadze y col., describen la modificación de una columna monolítica capilar de sílice híbrida (preparada a partir de una mezcla de TMOS y MTMS) mediante el uso de modificadores quira-

les como los derivados 3,5-dimetil y 3,5-diclorofenilcarbamato de la celulosa, o bien el derivado 3,5-dimetilfenilcarbamato de la amilosa ⁽⁶⁶⁻⁶⁸⁾. El método de modificación es muy sencillo y tan sólo consiste en llenar la columna con una disolución del derivado polisacárido en acetona y tras la eliminación del disolvente a temperatura ambiente mantener la columna a 40 °C durante 2 h en un horno con vacío. Estas columnas (de 20 cm x 100 μ m I.D.) permiten la separación de una gran variedad de compuestos quirales (ver ejemplos en Figura 4) con unas eficacias comparables a las obtenidas para columnas de partículas empaquetadas de 5 μ m y 4,6 mm de diámetro interno, pero con menores tiempos de análisis en la columna monolítica.

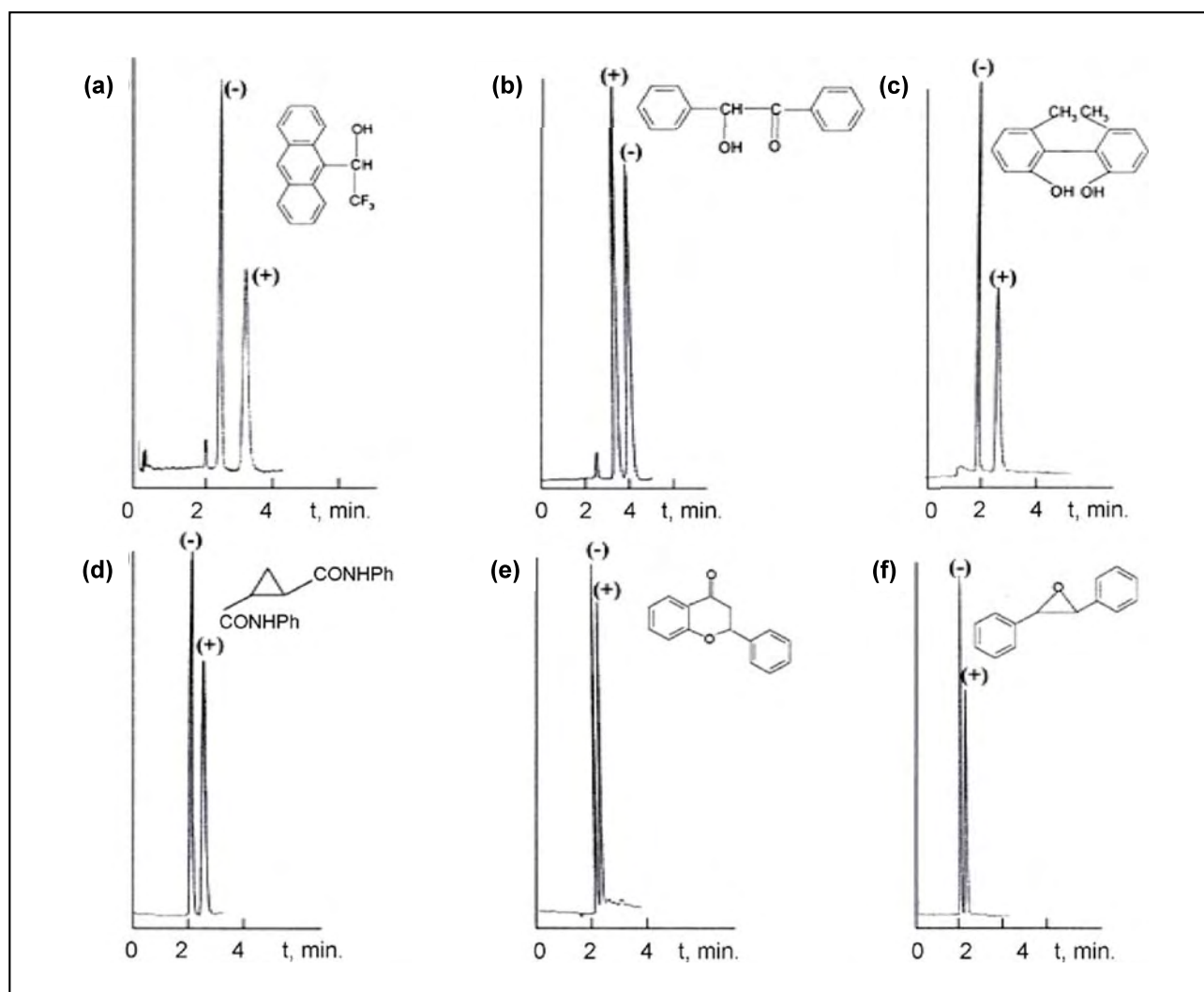


Figura 4. Separaciones enantioméricas de (a) 2,2,2-trifluoro-1-(9-anthryl)etanol, (b) benzoin, (c) 2,2'-dihydroxy-6,6'-dimethylbiphenil, (d) *trans*-cyclopropanedicarboxylic acid dianilide, (e) flavonone, y (f) *trans*-stilbene oxide, en una columna monolítica capilar de sílice (20 μ x 100 μ m I.D.) modificada con una disolución 50 mg/L del derivado 3,5-dimetilfenilcarbamato de la celulosa en acetona. Fase móvil: *n*-hexano:2-propanol 90:10 (v/v). Reproducido de la ref. [66] con permiso de Wiley.

Otras modificaciones químicas descritas en los últimos años para obtener fases estacionarias quirales con columnas monolíticas de sílice incluyen la utilización de proteínas como avidina⁽⁶⁴⁾, glicoproteínas⁽⁷²⁾, o albúmina de suero humano⁽⁷³⁾, o el uso de β -ciclodextrinas⁽⁷¹⁾. Así, mediante la inmovilización de albúmina de suero humano (HSA) en una columna monolítica de sílice se obtienen mayores retenciones con resoluciones y eficacias comparables a las conseguidas con una columna equivalente de partículas empaquetadas, con la ventaja de presentar menores presiones de trabajo⁽⁷³⁾.

4.3. Cromatografía de intercambio iónico.

En los últimos años ha aumentado el interés en la utilización de columnas monolíticas de sílice modificadas

para realizar separaciones de intercambio iónico tanto en HPLC como en CEC^(14,74,75). Una manera muy sencilla de conseguir esta modificación es mediante la utilización de compuestos surfactantes, tanto de tipo catiónico o aniónico, como anfotéricos⁽⁷⁶⁻⁸²⁾. Por ejemplo, Ríordáin y col., tienen descrita una modificación de una columna monolítica capilar de sílice de fase invertida (Onyx C₁₈, 150 mm x 0,1 mm) utilizando el surfactante N-dodecil-N, N(dimetilamonio) undecanoato (DDMAU)⁽⁸²⁾. Simplemente pasando a través de la columna una disolución 2 mM de DDMAU a un flujo de 1 μ L/min durante 3 h se consigue una columna de intercambio aniónico estable durante todo el estudio realizado por los autores, sin señales de sangrado de columna, y capaz de conseguir unas eficacias de separación de 56.200 platos por metro para el ión yoduro.

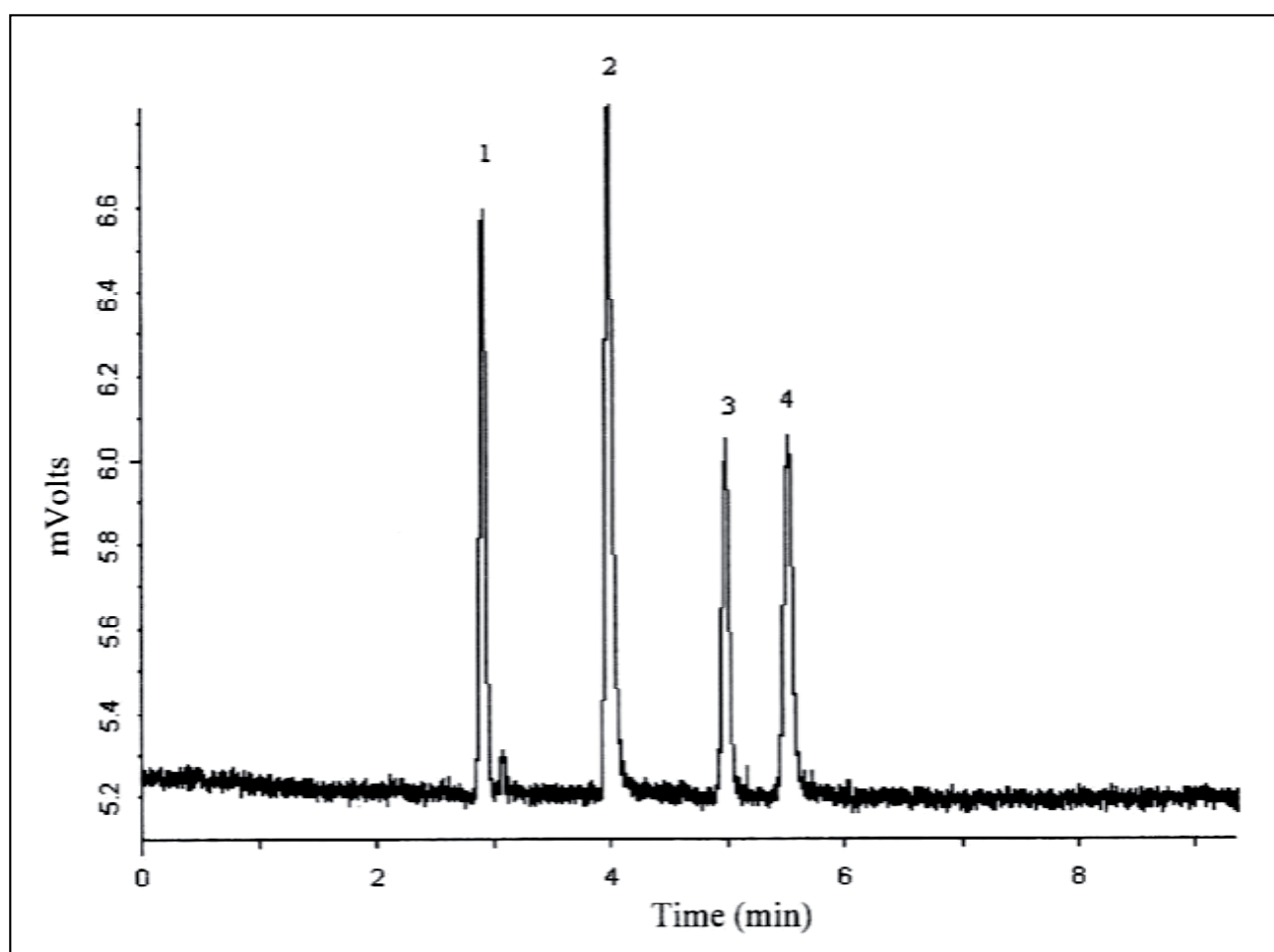
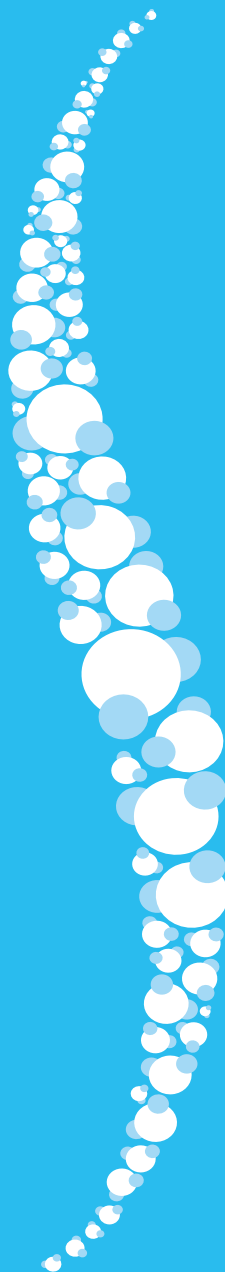


Figura 5. Separación de nucleótidos μ -HPLC utilizando una columna monolítica capilar de sílice de intercambio aniónico (MOP-DMAPAA-Q, 33 cm x 100 μ m I.D.). Fase móvil: tampón de fosfatos 50 mM, pH 2,8. Velocidad lineal: $u=1,8$ mm/s. Detección UV a 254 nm. Identificación de picos: 1, 5'-CMP; 2, 5'-AMP; 3, 5'-UMP y 4, 5'-GMP. Reproducido de la ref. [83] con permiso de Springer.



EN AGUA DE LABORATORIO,

Adopte un razonamiento integral.

El nuevo sistema Milli-Q Integral de Millipore reúne en un único equipo la secuencia completa de purificación de agua para suministrar, a partir de agua de red, tanto agua purificada como agua ultrapura hasta en tres puntos distintos de uso en el laboratorio.

Al asociar la tecnología exclusiva Elix, a base de resinas autorregenerables, a la fiabilidad Milli-Q, ofrecemos una solución que le permite realizar progresos sustanciales en su labor de investigación, asegurándole la disponibilidad y la calidad de agua necesarias, con costes mínimos.

Gracias a su nuevo concepto de dispensado, ergonómico y flexible, con una selección de filtros finales adaptados a los requisitos de sus aplicaciones, la eficacia de su laboratorio se verá multiplicada.

ADVANCING LIFE SCIENCE TOGETHER™

Research. Development. Production.

Manténgase informado sobre nuestros nuevos productos en: www.millipore.com/lab_water
Contacte en todo momento con un especialista de Millipore llamando al 901 516 645.

CELL BIOLOGY
CELL SIGNALING
DRUG DISCOVERY
IMMUNODETECTION
LAB WATER
PROTEIN BIOMARKERS
STEM CELL RESEARCH



Hasta tres puntos de uso

Todas las calidades
de agua

Recientemente también se han descrito modificaciones mediante procesos de polimerización para obtener columnas monolíticas de sílice de intercambio iónico. Así, Jaafar y col., modifican una columna capilar híbrida (preparada a partir de una mezcla de TMOS y MTMS) mediante copolimerización de *N*-[3-(dimethylamino)propyl]acrylamide methyl chloride-quaternary salt (DMPAA-Q) con MOP anclado previamente en el esqueleto de sílice, y obteniendo así una columna de intercambio aniónico fuerte⁽⁸³⁾. El procedimiento de polimerización in-situ es muy sencillo. Tras el anclaje del MOP (descrito anteriormente)⁽⁵⁹⁾, la columna se llena con la mezcla de monómero y de iniciador (persulfato de amonio) y se deja reaccionar durante 2 h a 60 °C controlando la temperatura en un baño de agua. Al finalizar, la columna se limpia con agua y finalmente con metanol durante al menos 2-3 días. La Figura 5 muestra a modo de ejemplo la separación cromatográfica de cuatro nucleótidos, consiguiéndose una buena eficacia de separación ($H=9.5 \mu\text{m}$) para los cuatro compuestos. Además, una de las ventajas de este tipo de columnas monolíticas capila-

res es que tanto pueden ser utilizadas en μ -HPLC como en CEC.

4.4. Cromatografía de interacción hidrofílica (HILIC).

Recientemente se han empezado a utilizar columnas monolíticas de sílice modificadas para realizar separaciones por cromatografía de interacción hidrofílica (HILIC), si bien el número de publicaciones hasta el día de hoy es bastante inferior a los casos anteriores. El grupo del Profesor Tanaka está desarrollando este tipo de columnas capilares a partir de modificaciones utilizando procedimientos de polimerización. Así, han descrito la preparación de columnas HILIC mediante polimerización de acrilamida⁽⁸⁴⁾ o ácido acrílico^(85,86) en columnas monolíticas capilares previamente tratadas con *N*-(3-trimetoxisilpropil)metacrilamida como componente para el anclaje del polímero. La polimerización se realiza utilizando persulfato de amonio como iniciador, y dejando polimerizar a 80 °C durante 1 h (en el caso de la acrilamida) y 2 h (en

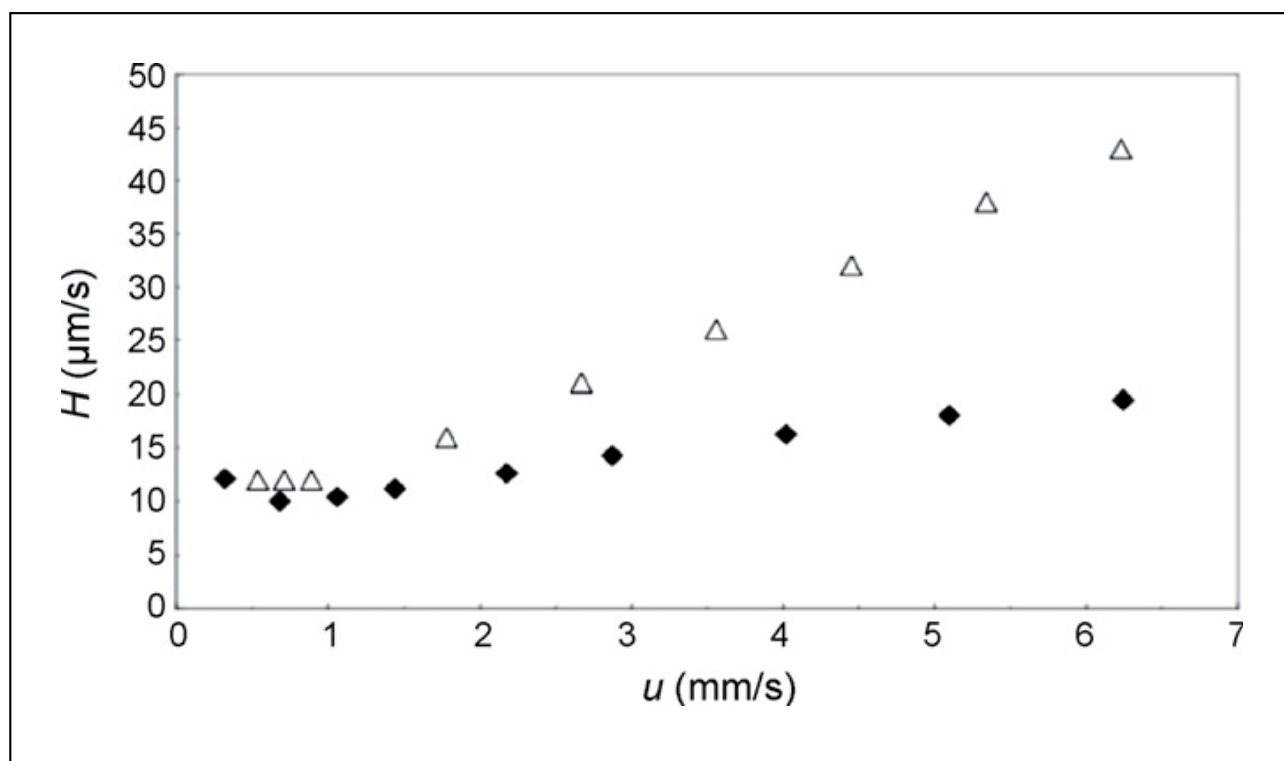


Figura 6. Curvas de van Deemter obtenidas para eluciones en modo HILIC. (◆) columna monolítica capilar de base sílice modificada con poli(ácido acrílico), 200 mm x 200 μm I.D. en 90% acetonitrilo/(0.2% ácido fórmico) a 25 °C. Solutos: adenosina ($k=3,8$). Volumen de inyección: 2 μL (con split). (Δ) Columna de partículas empaquetadas ZIC-HILIC, 150 mm x 4.6 mm I.D., partículas de 5 μm , en 80% acetonitril/tampón a 25 °C. Solutos: citosina ($k=1,3$). Reproducido de la ref. [86] con permiso de Elsevier.

el caso del ácido acrílico). La ventaja de realizar las modificaciones mediante procesos de polimerización es que la cantidad de polímero (fase estacionaria) se puede controlar a través de la composición de la mezcla inicial de reacción. Siguiendo este procedimiento, Horie y col., describen la preparación de una columna monolítica capilar de base sílice de 200 μm I.D. modificada con poli(ácido acrílico) con unas propiedades superiores a las columnas HILIC de partículas empaquetadas disponibles comercialmente en la actualidad⁽⁸⁶⁾. La Figura 6 compara las curvas de van Deemter obtenidas utilizando la columna monolítica HILIC desarrollada y con una columna convencional de partículas empaquetadas (ZIC-HILIC). Como se puede observar, la columna monolítica presenta

mejores eficacias que la columna de partículas empaquetadas. Los autores proponen esta columna monolítica HILIC como una alternativa a las separaciones en fase invertida para una gran variedad de compuestos, en especial aquellos de elevada polaridad, tanto trabajando en elusión isocrática como en gradiente. A modo de ejemplo, la Figura 7 muestra la separación de la hidrólisis enzimática (con tripsina) de la fosforilasa B obtenida con una columna monolítica capilar de base sílice de fase invertida (a) y la columna monolítica capilar de base sílice HILIC propuesta (b). Ambas columnas generan una capacidad de picos de alrededor de 100 en 10 min para la separación de estos péptidos. Las elevadas eficacias obtenidas con ambos modos de separación y la diferente

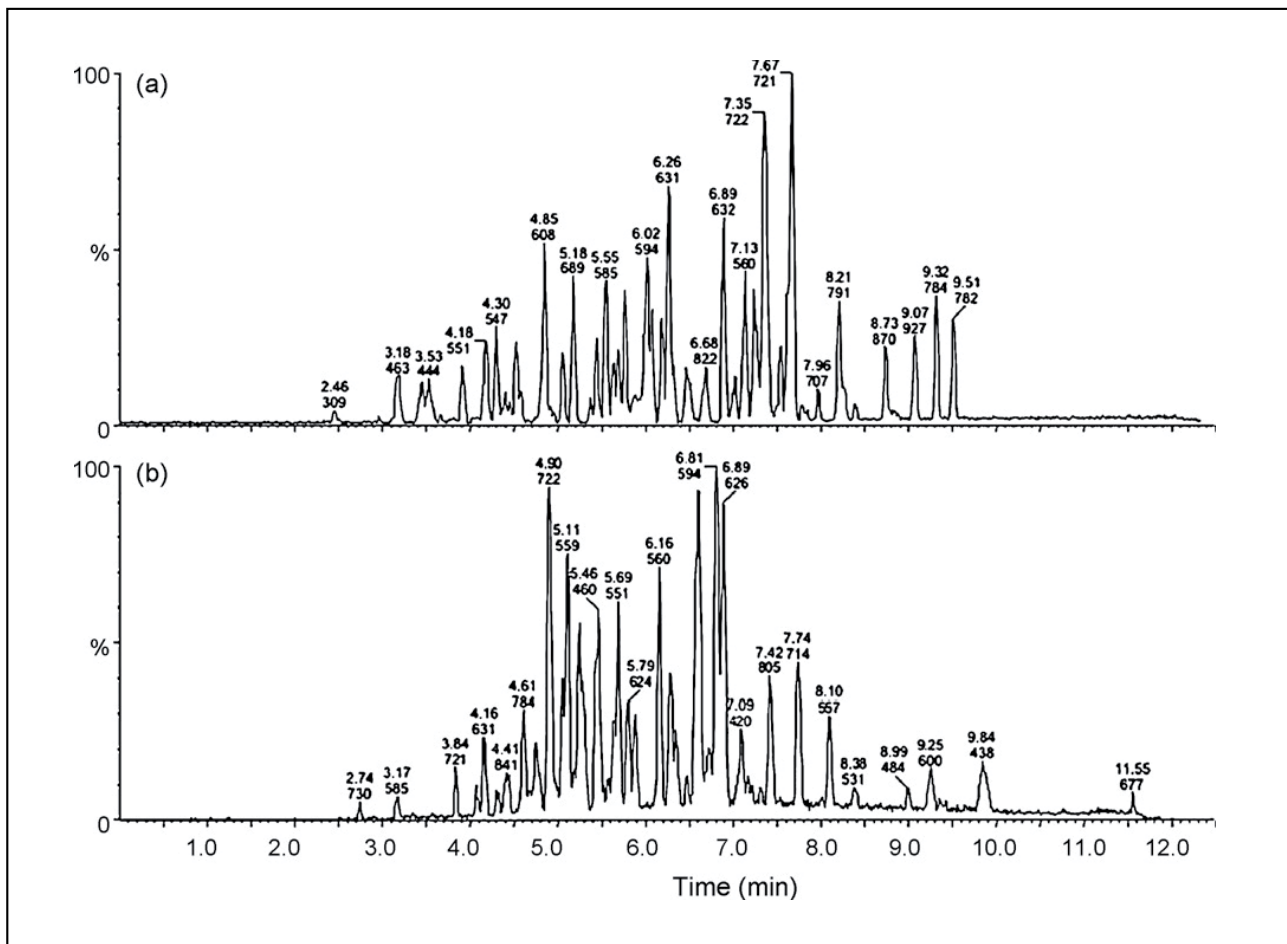
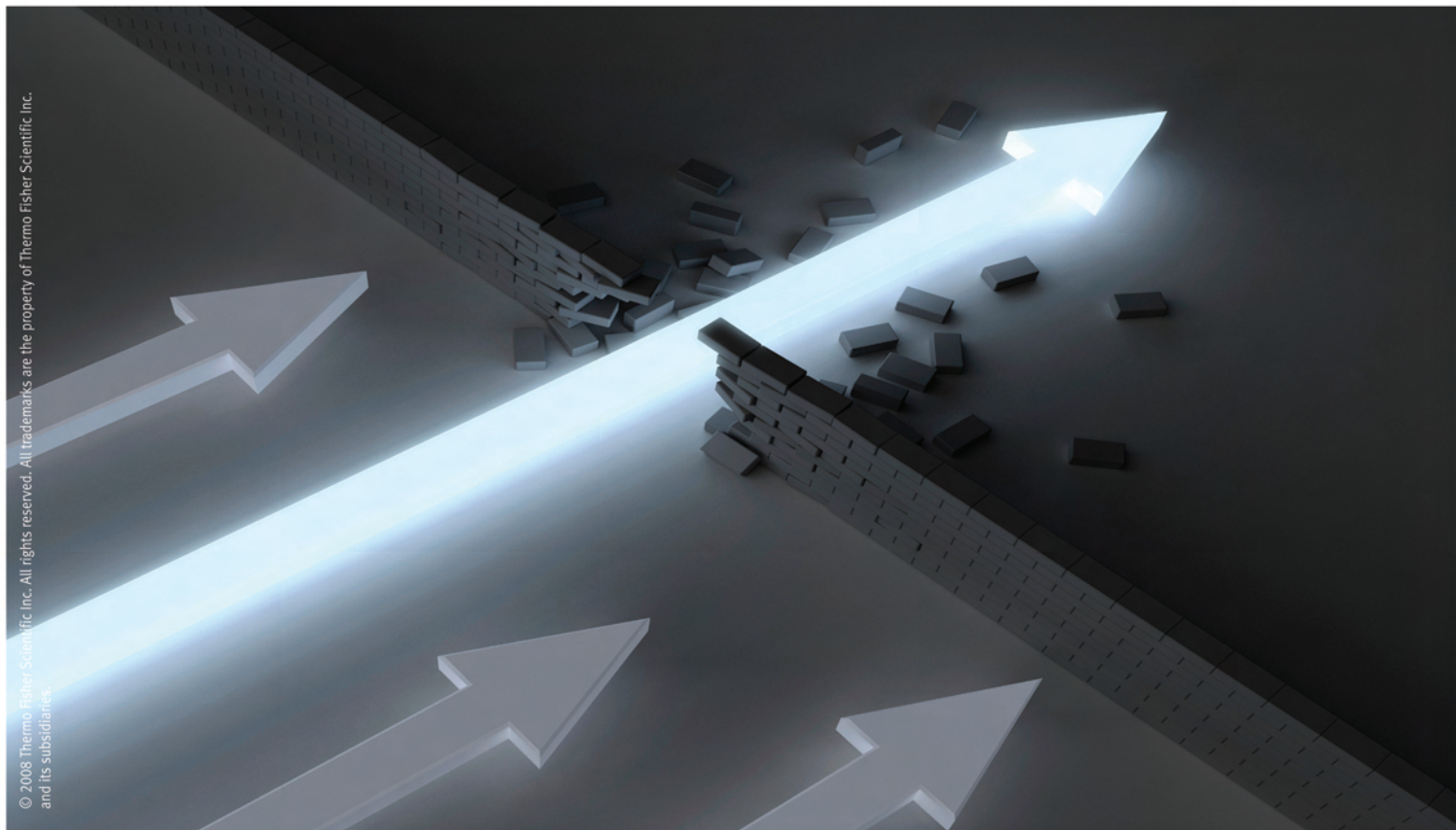


Figura 7. Cromatogramas de pico base obtenidos mediante LC-ESI-TOF MS para la hidrólisis enzimática (con tripsina) de la fosforilasa B. Detección: ESI TOF MS (en negativo, 3 kV). Concentración de la muestra: 1 mmol/mL. Volumen de inyección: 50 nl. (a) Columnas monolítica capilar de base sílice C_{18} , 238 mm x 200 μm I.D. Fase móvil: gradiente lineal de 5-60% acetonitrilo (0,2% ácido fórmico) en 10 min; (b) Columna monolítica capilar de base sílice modificada con poli(ácido acrílico), 190 mm x 200 μm I.D. Fase móvil: gradiente lineal de 90-10% acetonitrilo (0,2% ácido fórmico) en 10 min. Reproducido de la ref. [86] con permiso de Elsevier.



Triple Cuadrupolo Thermo Scientific TSQ Vantage. Rompiendo la barrera de la sensibilidad.

Provisto con óptica de iones de 2ª Generación (G2) que transmite más iones sin ruido, el cuadrupolo de triple etapa Thermo Scientific TSQ Vantage proporciona prestaciones estelares ofreciendo la más alta precisión a los niveles más bajos de cuantificación.

Innovación inspirada en tecnología de fuente de iones, específicamente dirigida a la manipulación de miles de muestras intensivas en matriz, hace posible robustez superior sin compromisos en sensibilidad. Tanto si analiza moléculas pequeñas como biomoléculas, el TSQ Vantage™ ofrece resultados consistentes y reproducibles a niveles de cuantificación increíblemente bajos.

Visite www.thermo.com/tsqvantage para descubrir más del TSQ Vantage, y cómo beneficiarse de los resultados de invertir en innovación inspirada.



La mejor relación señal ruido
Thermo Scientific TSQ Vantage
– innovación inspirada



Nunca ha sido tan fácil y accesible, un LC-MS de alta confianza.

Ahora hay una forma superior de analizar muestras por LC-MS – el sistema Thermo Scientific Exactive.

Equipado con tecnología Thermo Scientific Orbitrap, el Exactive™ es un sistema de sobremesa fácil de utilizar que combina altas prestaciones con un interfaz simple e intuitivo lo que resulta en un sistema LC-MS más pequeño, más rápido y asequible para prácticamente cualquier laboratorio.

Con alta velocidad de barrido y modo de conmutación positivo/negativo, el Exactive ofrece masa exacta sub-ppm a resoluciones de hasta 100.000.

Totalmente compatible con U-HPLC, el Exactive es ideal para los retos más exigentes, como muestras complejas que contengan plaguicidas, metabolitos u otros compuestos. Sea cual sea su aplicación o presupuesto, escoja el Exactive y vea como se dispara la productividad.

Descubra más en www.thermo.com/exactive



Presentamos el sistema LC-MS de sobremesa Thermo Scientific Exactive

Moving science forward

Thermo
SCIENTIFIC
Part of Thermo Fisher Scientific

selectividad que presentan debido a las características de sus fases estacionarias, son propiedades muy atractivas para la futura aplicación de estas columnas en cromatografía multidimensional ⁽⁸⁶⁾.

4.5. Otras aplicaciones.

Como se ha comentado anteriormente el número de aplicaciones que utilizan columnas monolíticas de base sílice es muy elevado. La mayor parte de ellas se centran en la utilización de las columnas Chromolith de Merck, trabajando a flujos de fase móvil muy elevados con el objetivo de obtener separaciones por cromatografía rápida aprovechando las bajas presiones y la poca pérdida de eficacia generada por estas columnas ⁽⁸⁷⁾ al aumentar el flujo de fase móvil.

Sin embargo, el futuro de las aplicaciones de las columnas monolíticas de base sílice se encuentra quizás en el campo de los estudios proteómicos y metabolómicos. Las propiedades de estas columnas, como son sus elevadas eficacias y capacidades de separación, así como la facilidad de acoplarlas a técnicas de espectrometría de masas cuando se trata de columnas monolíticas capilares, las hacen ideales para dicho tipo de aplicaciones ⁽⁸⁸⁻⁹⁰⁾. Por ejemplo, Luo y col., describen una columna monolítica capilar de base sílice (25 cm x 10 µm I.D.) modificada con octadeciltrióxido de silicio e integrada en un emisor de nano-electrospray que les permite obtener un sistema muy robusto para el análisis proteómico mediante nano-LC-ESI-MS ⁽⁹¹⁾.

Otro campo en el que empiezan a ser muy utilizadas las columnas monolíticas de base sílice es en cromatografía de líquidos multidimensional (2D-HPLC) ⁽⁹²⁻⁹⁴⁾. En este tipo de cromatografía es necesario realizar el análisis en la segunda dimensión en un tiempo muy corto, trabajando a flujos de fase móvil muy elevados. Para ello se necesitan columnas que presenten elevadas eficacias y permeabilidades. Estos requerimientos hacen ideales a las columnas monolíticas para ser utilizadas como segunda dimensión de separación.

5. CONCLUSIONES

Recientemente se están desarrollando columnas monolíticas de base sílice con una mayor homogeneidad en su estructura que los monolitos descritos con anterioridad. Las importantes propiedades que presentan este tipo de columnas como son su elevada eficacia de separación, su alta permeabilidad, las bajas presiones de trabajo que generan y la poca pérdida de eficacia al aumen-

tar el flujo de fase móvil las hacen ideales para numerosas aplicaciones. En este artículo de revisión se ha pretendido dar una visión de los diferentes procedimientos de preparación de los monolitos de sílice descritos en la literatura, así como las múltiples posibilidades de modificaciones químicas para obtener la funcionalidad deseada. Una de las principales ventajas de las columnas monolíticas de base sílice es quizás la posibilidad de controlar la estructura del esqueleto de sílice y el tamaño de sus poros a partir de la composición de la mezcla de reacción inicial. Sin embargo, no todo son ventajas. Si bien los procedimientos de preparación del monolito, así como los procedimientos de modificación química posteriores, son simples, sí que se requiere algo de práctica si se pretende obtener una buena reproducibilidad columna a columna. Para este objetivo las etapas que son quizás más importantes son las de lavado. En algunos casos hay que realizar etapas de lavado de varios días, lo que alarga el tiempo de preparación de la columna pero mejora sus propiedades.

Recientemente las modificaciones químicas del monolito de sílice utilizando procedimientos de polimerización se están poniendo de moda, y en la actualidad los esfuerzos del grupo del Profesor Tanaka se centran en este aspecto. Estos métodos de polimerización no dañan las propiedades de la columna y se suele mantener la eficacia inicial que presentaba la columna. Estos métodos también permiten aumentar la cantidad de fase estacionaria, lo que es importante sobretodo en las columnas monolíticas capilares que presentan una elevada porosidad.

En conclusión, el número de aplicaciones utilizando columnas monolíticas de base sílice aumentará en el futuro, sobretodo por el hecho de que cada laboratorio se puede preparar sus columnas con las características estructurales y la funcionalidad requeridas en función de la separación cromatográfica deseada.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer al Profesor Tanaka y a todo su grupo de investigación todos los consejos y la ayuda proporcionada durante los dos años que tuve la oportunidad de trabajar con ellos en Japón. Quisiera dedicar al Profesor Tanaka este artículo con motivo de su próxima jubilación en Marzo de 2009. Espero que antes haya podido conseguir desarrollar las que él ya define como "columnas monolíticas de tercera generación" y que sus discípulos continúen avanzando en el mundo de las columnas monolíticas de base sílice.

REFERENCIAS

- (1) H. Hjertén, J.L. Liao, R. Zhang, *J. Chromatogr.* 473 (1989) 273.
- (2) H. Minakuchi, K. Nakanishi, N. Soga, I. Ishizuka, N. Tanaka, *Anal. Chem.* 68 (1996) 3498.
- (3) N. Tanaka, H. Kobayashi, N. Ishizuka, H. Minakuchi, K. Nakanishi, K. Hosoya, T. Ikegami, *J. Chromatogr. A* 965 (2002) 35.
- (4) N. Ishizuka, H. Kobayashi, M. Minakuchi, K. Nakanishi, K. Hirao, K. Hosoya, T. Ikegami, N. Tanaka, *J. Chromatogr. A* 960 (2002) 85.
- (5) H. Zou, X. Huang, M. Ye, Q. Luo, *J. Chromatogr. A* 954 (2002) 5.
- (6) K. Cabrera, *J. Sep. Sci.* 27 (2004) 843.
- (7) B. Buszewski, M. Szumski, S. Sus, *LC-GC Eur.* 15 (2002) 792.
- (8) N. Tanaka, H. Kobayashi, K. Nakanishi, H. Minakuchi, I. Ishizuka, *Anal. Chem.* 73 (2001) 420A.
- (9) M. Bedair, Z. El Rassi, *Electrophoresis* 25 (2004) 4110.
- (10) F. Svec, *J. Sep. Sci.* 27 (2004) 1419.
- (11) F. Svec, *J. Sep. Sci.* 28 (2005) 729.
- (12) E. Klodzinska, D. Moravcova, P. Jandera, B. Buszewski, *J. Chromatogr. A* 1109 (2006) 51.
- (13) O. Núñez, K. Nakanishi, N. Tanaka, *J. Chromatogr. A* 1191 (2008) 231.
- (14) S.D. Chambers, K.M. Glenn, C.A. Lucy, *J. Sep. Sci.* 30 (2007) 1628.
- (15) Z. Deyl, F. Svec (Eds.), *Capillary Electrochromatography*, Elsevier, Amsterdam, 2001.
- (16) F. Svec, T.B. Tennikova, A. Deyl (Eds), *Monolithic Materials: Preparation, Properties, and Applications*, Elsevier, Amsterdam, 2003.
- (17) F. Svec, *J. Chromatogr. B* 841 (2006) 52.
- (18) G. Guiochon, *J. Chromatogr. A* 1168 (2007) 101.
- (19) K. Nakanishi, *J. Porous Mater.* 4 (1997) 67.
- (20) C. Legido-Quigley, N.D. Martin, V. Melin, A. Manz, N.W. Smith, *Electrophoresis* 24 (2003) 917.
- (21) K.K. Unger, *Porous Silica*, Elsevier, Amsterdam, 1979 (Chapter 5).
- (22) L.A. Colon, Y. Guo, A. Fermier, *Anal. Chem.* 69 (1997) 461A.
- (23) H. Minakuchi, K. Nakanishi, N. Soga, N. Ishizuka, N. Tanaka, *J. Chromatogr. A* 762 (1997) 135.
- (24) H. Minakuchi, N. Ishizuka, K. Nakanishi, N. Soga, N. Tanaka, *J. Chromatogr. A* 828 (1998) 83.
- (25) K. Nakanishi, H. Minakuchi, N. Soga, N. Tanaka, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 13 (1998) 163.
- (26) N. Ishizuka, H. Minakuchi, K. Nakanishi, N. Soga, K. Hosoya, N. Tanaka, *J. Chromatogr. A* 797 (1998) 133.
- (27) K. Nakanishi, R. Takahashi, T. Tomohiro, K. Kitayama, N. Koheiya, H. Shikata, N. Soga, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 17 (2000) 91.
- (28) N. Ishizuka, H. Minakuchi, K. Nakanishi, N. Soga, K. Hosoya, N. Tanaka, *Anal. Chem.* 72 (2000) 1275.
- (29) A.M. Siouffi, *J. Chromatogr. A* 1000 (2003) 801.
- (30) C. Slitzky, B. Ruckert, A.J. Hall, F. Lanza, K. Unger, B. Sellergren, *Macromolecules* 35 (2002) 79.
- (31) M. Derakhshan, H.R. Ansarian, M.M. Rahman, T. Sakurai, M. Takafuji, H. Ihara, *Can. J. Chem.* 83 (2005) 1792.
- (32) H.R. Ansarian, M. Derakhshan, M.M. Rahman, T. Sakurai, M. Takafuji, I. Taniguchi, H. Ihara, *Anal. Chim. Acta* 547 (2005) 179.
- (33) J.L. Liao, R. Zhang, H. Hjertén, *J. Chromatogr.* 586 (1991) 21.
- (34) N. Marti, F. Quattrini, A. Butté, M. Morbidelli, *Macromol. Mater. Eng.* 290 (2005) 221.
- (35) M. Motokawa, H. Kobayashi, I. Ishizuka, H. Minakuchi, K. Nakanishi, H. Jinnai, K. Hosoya, T. Ikegami, N. Tanaka, *J. Chromatogr. A* 961 (2002) 53.
- (36) N. Minakuchi, K. Nakanishi, N. Soga, I. Ishizuka, N. Tanaka, *J. Chromatogr. A* 797 (1998) 121.
- (37) K. Nakanishi, H. Shikata, N. Ishizuka, N. Koheiya, N. Soga, *J. High Resolut. Chromatogr.* 23 (2000) 106.
- (38) N. Ishizuka, H. Minakuchi, K. Nakanishi, K. Hirao, N. Tanaka, *Colloids Surf. A* 187-188 (2001) 273.
- (39) K. Nakanishi, N. Soga, *J. Am. Ceram. Soc.* 74 (1991) 2518.
- (40) K. Nakanishi, N. Soga, *J. Non-Cryst. Solids* 139 (1992) 1.
- (41) K. Nakanishi, H. Minakuchi, N. Soga, N. Tanaka, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 9 (1997) 547.
- (42) K. Cabrera, G. Wieland, D. Lubda, K. Nakanishi, N. Soga, H. Minakuchi, K. Unger, *Trends Anal. Chem.* 27 (1998) 50.
- (43) N. Tanaka, H. Nagayama, H. Kobayashi, T. Ikegami, K. Hosoya, I. Ishizuka, H. Minakuchi, K. Nakanishi, K. Cabrera, D. Lubda, *J. High Resolut. Chromatogr.* 23 (2000) 111.
- (44) J.D. Hayes, A. Malik, *Anal. Chem.* 72 (2000) 4090.
- (45) H. Kobayashi, W. Kajiwara, Y. Inui, T. Hara, K. Hosoya, T. Ikegami, N. Tanaka, *Chromatogr. Suppl.* 60 (2004) S19.
- (46) M. Motokawa, M. Ohira, H. Minakuchi, K. Nakanishi, N. Tanaka, *J. Sep. Sci.* 29 (2006) 2471.
- (47) N. Ishizuka, K. Nakanishi, K. Hirao, N. Tanaka, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 19 (2000) 371.
- (48) T. Hara, H. Kobayashi, T. Ikegami, K. Nakanishi, N. Tanaka, *Anal. Chem.* 78 (2006) 7632.

Productos Analítica / Sigma-Aldrich

Diseñados especialmente para sus Aplicaciones Analíticas

SIGMA-ALDRICH™



Fluka™
Analytical

SUPELCO™
Analytical

Sigma-Aldrich Química
Ronda de Poniente, 3
28760 TRES CANTOS

Proporcionando soluciones a sus Análisis y Purificaciones

- Columnas/Accesorios HPLC
- Tubos/Cartuchos/Manifolds SPE
- Columnas/Rellenos Cromatografía Flash
- Reactivos Analítica
- Columnas/Liners/Purificadores en GC
- Fibras/Soportes SPME
- Estándares Químicos
- Productos para Valoraciones

Más información, llamando al **900 101 376 / 91 657 20 65**
o visitando en sigma-aldrich.com/analytical

- (49) K. Miyamoto, T. Hara, H. Kobayashi, H. Morisaka, D. Tokuda, K. Horie, K. Koduki, S. Makino, O. Núñez, C. Yang, T. Kawabe, T. Ikegami, H. Takubo, Y. Ishihama, N. Tanaka, *Anal. Chem.* (2008) "en prensa". doi: 10.1021/ac801042c
- (50) K. Nakanishi, N. Soga, *Inorganic Porous Column*, Japan patent 5-200,392 (1993)
- (51) K. Nakanishi, N. Soga, *Production of Inorganic Porous Body*, Japan patent 5-208,642 (1993).
- (52) K. Nakanishi, N. Soga, *Inorganic Porous Material and Process for Making Same*, US patent 5,624,875 (1997)
- (53) D. Lubda, E. Muller, *Method for Producing Monolithic Chromatography Columns*, US patent application 2003/0155676 a1 (2003).
- (54) N. Tanaka, H. Konishita, M. Araki, T. Tsuda, *J. Chromatogr.* 332 (1985) 57.
- (55) L. Rieux, D. Lubda, H.A.G. Niederlander, E. Verpoorte, R. Bischoff, *J. Chromatogr. A* 1120 (2006) 165.
- (56) S. Droste, M. Schellentrager, M. Constapel, S. Gab, M. Lorenz, K.J. Brockmann, R. Benter, D. Lubda, O.J. Schmitz, *Electrophoresis* 26 (2005) 4098.
- (57) K. Cabrera, D. Lubda, H.-M. Eggenweiler, M. Minakuchi, K. Nakanishi, *J. High Resolut. Chromatogr.* 23 (2000) 93.
- (58) C. Yang, T. Ikegami, T. Hara, N. Tanaka, *J. Chromatogr. A* 1130 (2006) 175.
- (59) O. Núñez, T. Ikegami, W. Kajiwara, K. Miyamoto, K. Horie, N. Tanaka, *J. Chromatogr. A* 1156 (2007) 35.
- (60) O. Núñez, T. Ikegami, K. Miyamoto, N. Tanaka, *J. Chromatogr. A* 1175 (2007) 7.
- (61) Z. Szabó, R. Ohmacht, C.W. Huck, W.M. Stöggel, G.K. Bonn, *J. Sep. Sci.* 25 (2005) 313.
- (62) G. Stecher, C.W. Huck, W.M. Stöggel, G.K. Bonn, *Trends Anal. Chem.* 22 (2003) 1.
- (63) Z. Chen, T. Hobo, *Electrophoresis* 22 (2001) 3339.
- (64) Z. Liu, K. Otsuka, S. Terabe, M. Motokawa, N. Tanaka, *Electrophoresis* 23 (2002) 2973.
- (65) Z. Chen, K. Uchiyama, T. Hobo, *J. Chromatogr. A* 942 (2002) 83.
- (66) B. Chankvetadze, C. Yamamoto, N. Tanaka, K. Nakanishi, Y. Okamoto, *J. Sep. Sci.* 27 (2004) 905.
- (67) B. Chankvetadze, T. Kubota, T. Ikai, C. Yamamoto, M. Kamigaito, N. Tanaka, K. Nakanishi, Y. Okamoto, *J. Sep. Sci.* 29 (2006) 1988.
- (68) B. Chankvetadze, C. Yamamoto, M. Kamigaito, N. Tanaka, K. Nakanishi, Y. Okamoto, *J. Chromatogr. A* 1110 (2006) 46.
- (69) D. Lubda, W. Lindner, *J. Chromatogr. A* 1036 (2004) 135.
- (70) B. Chankvetadze, T. Ikai, C. Yamamoto, Y. Okamoto, *J. Chromatogr. A* 1042 (2004) 55.
- (71) M. Bayer, C. Hänsel, A. Mosandl, *J. Sep. Sci.* 29 (2006) 1561.
- (72) R. Mallik, H. Xuan, D.S. Hage, *J. Chromatogr. A* 1149 (2007) 294.
- (73) R. Mallik, D.S. Hage, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 46 (2008) 820.
- (74) B. Paull, P.N. Nesterenko, *Trends Anal. Chem.* 24 (2005) 295.
- (75) D. Schaller, E.F. Hilder, P.R. Haddad, *J. Sep. Sci.* 29 (2006) 1705.
- (76) D. Connolly, D. Victory, B. Paull, *J. Sep. Sci.* 27 (2004) 912.
- (77) S. Pelletier, C.A. Lucy, *J. Chromatogr. A* 1118 (2006) 12.
- (78) J. Li, G.F. Wu, Y.Y. Guo, *J. Chromatogr. A* 1118 (2006) 46.
- (79) E. Gillespie, M. Macka, D. Connolly, B. Paull, *Analyst* 131 (2006) 886.
- (80) C.O. Ríordáin, P.N. Nesterenko, B. Paull, *J. Chromatogr. A* 1070 (2005) 71.
- (81) C.O. Ríordáin, L. Barron, E. Nesterenko, P.N. Nesterenko, B. Paull, *J. Chromatogr. A* 1109 (2006) 111.
- (82) C.O. Ríordáin, E. Gillespie, D. Connolly, P.N. Nesterenko, B. Paull, *J. Chromatogr. A* 1142 (2007) 185.
- (83) J. Jaafar, Y. Watanabe, T. Ikegami, K. Miyamoto, N. Tanaka, *Anal. Bioanal. Chem.* 391 (2008) 2551.
- (84) T. Ikegami, T. Fujita, K. Horie, K. Hosoya, N. Tanaka, *Anal. Bioanal. Chem.* 386 (2006) 578.
- (85) T. Ikegami, K. Horie, J. Jaafar, K. Hosoya, N. Tanaka, *J. Biochem. Biophys. Methods* 70 (2007) 31.
- (86) K. Horie, T. Ikegami, K. Hosoya, N. Saad, O. Fiehn, N. Tanaka, *J. Chromatogr. A* 1164 (2007) 198.
- (87) F. Pellati, S. Calo, S. Benvenuti, *J. Chromatogr. A* 1149 (2007) 56.
- (88) S. Ito, S. Yoshida, I. Ogata, E. Yamashita, S. Nagai, T. Okumoto, K. Ishii, M. Ito, H. Kaji, K. Takao, K. Deguchi, *J. Chromatogr. A* 1090 (2005) 178.
- (89) Q. Luo, K. Tang, F. Yang, A. Elias, Y. Shen, R.J. Moore, R. Zhao, K.K. Hixson, S.S. Rossie, R.D. Smith, *J. Proteome Res.* 5 (2006) 1091.
- (90) K. Marcus, H. Schäfer, S. Klaus, C. Bunse, R. Swart, H.E. Meyer, *J. Proteome Res.* 6 (2007) 636.
- (91) Q. Luo, Y. Shen, K.K. Hixson, R. Zhao, F. Yang, R.J. Moore, H.M. Mottaz, R.D. Smith, *Anal. Chem.* 77 (2005) 5028.
- (92) K. Horie, H. Kimura, T. Ikegami, A. Iwatsuka, N. Saad, O. Fiehn, N. Tanaka, *Anal. Chem.* 79 (2007) 3764.
- (93) F. Cacciola, P. Jandera, Z. Hajdú, P. Cesla, L. Mondello, *J. Chromatogr. A* 1149 (2007) 73.
- (94) E. Machtejevas, S. Andrecht, D. Lubda, K.K. Unger, *J. Chromatogr. A* 1144 (2007) 97.

NOTICIAS DE LA SECyTA

VIII REUNIÓN CIENTÍFICA DE LA SECyTA (37ª REUNIÓN CIENTÍFICA DEL GCTA)

La VIII Reunión Científica de la Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines (XXXVII Reunión de Grupo de Cromatografía y Técnicas Afines) se celebró en Barcelona del 21 al 23 de Octubre de 2008 dentro de las 12as Jornadas de Análisis Instrumental (JAI) en el marco de EXPOQUIMIA con D. Joan O. Grimalt como presidente del Comité Organizador.

El programa científico ha sido organizado por la Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines (SECyTA), en colaboración con las siguientes Sociedades y Grupos Especializados:

- Sociedad Española de Química Analítica (SEQA)
- Sociedad de Española de Espectrometría de Masas (SEEM)
- Sociedad Española de Proteómica (SEProt)
- Sociedad de Espectroscopía Aplicada (SEA)
- Association of Environmental Sciences and Techniques (AEST)
- Sociedad Española de Óptica (SEDO)

Las Jornadas fueron inauguradas en el recinto de la Fira de Barcelona (Gran Vía) el martes 21 de Octubre de 2008 con la conferencia invitada “*Nanotechnology for Single Biomolecule and Single Cell Analysis*” por el Dr. Yoshinobu Baba de la Universidad de Nagoya (Japón) y se clausuraron el día 23 de Octubre con la conferencia titulada “*NMR Instrumentation and Experimental Techniques for Structural Biology*” impartida por el Dr. Kurt Wüthrich que colabora con diversas instituciones de Estados Unidos y Suiza y que fue premiado con el Premio Nóbel de Química en 2002 por el desarrollo de la espectroscopía por resonancia magnética nuclear, para la identificación de la estructura tridimensional de las macro-moléculas en solución. El 20 de Octubre se realizaron 5 cursos relacionados con diversas áreas de la espectrometría de masas (3 de ellos relativos al uso de la cromatografía de líquidos acoplada a la espectrometría de masas “LC-MS” aplicada al análisis medioambiental y de alimentos, péptidos y proteínas e industria farmacéutica, otro relacionado con la especiación proteómica vía ICP-MS y por último un curso dedicado a los isótopos estables en metrología química) organizados por la Sociedad Española de Espectrometría de Masas (SEEM).

Estas Jornadas han constituido una buena ocasión para que se discutieran e intercambiaran experiencias, resultados y tendencias en diversas técnicas analíticas, y al estar enmarcadas dentro de la EXPOQUIMIA, ha permitido mostrar los últimos avances técnicos y metodológicos que contribuirán de forma decisiva a mejorar y actualizar la Química Analítica, para resolver muchos de los problemas que presentan hoy en día, la ciencia, la tecnología y lo que es más importante, la sociedad. Es de reseñar, el número elevado de asistentes a estas Jornadas así como el gran número de comunicaciones solicitadas y la calidad de las mismas.

Las comunicaciones presentadas en estas Jornadas, han sido de un gran nivel, tanto las Conferencias Plenarias a las que el Comité Organizador invitó a destacados especialistas internacionales como el resto de comunicaciones (orales, carteles, técnicas y comerciales) y han mostrado los nuevos avances de la Química Analítica, en campos tan diversos como: los alimentos y seguridad alimentaria, nanotecnología, biosensores, medio ambiente, especiación, desarrollo en instrumentación analítica, análisis de procesos y productos industriales, proteómica, análisis clínico y de productos farmacéuticos y diversos aspectos del análisis instrumental.

En total se presentaron 441 Comunicaciones, que quedaron distribuidas de la siguiente forma:

- Número total de Comunicaciones441
- Comunicaciones invitadas5
- Comunicaciones orales58
- Comunicaciones tipo cartel370
- Comunicaciones comerciales (Jornadas técnicas)8

Los conferenciantes invitados a las 12as Jornadas de Análisis Instrumental fueron los siguientes:

- Kurt Wüthrich
The Scripps Research Institute. La Jolla. California. USA & *Institute of Molecular Biology and Biophysics*, ETH Zürich, CH-8093 Zürich, Switzerland “NMR Instrumentation and Experimental Techniques for Structural Biology”
Cameron McLeod
Centre for Analytical Sciences. The University of Sheffield. United Kingdom
“Combination of Immunohistochemistry and Laser Ablation ICP MS for Imaging in the Life Sciences”
Philip J. Marriott
School of Applied Sciences, RMIT University. Melbourne, Australia
“Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography for High Resolution Separations: May the (GC) FORCE be with you!”
Detlef Günther
Institute of Inorganic Chemistry. Swiss Federal Institute of Technology. Zurich. Switzerland
“Laser Ablation-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Fundamentals and Applications”
Yoshinobu Baba
Plasma Nanotechnology Research Center. Nagoya University. Nagoya. Japan
“Nanotechnology for Single Biomolecule and Single Cell Analysis”

Después de la ceremonia de clausura del Jueves 23 de Octubre, se celebró la entrega de premios a las comunicaciones tanto de tipo oral como cartel que merecieron el reconocimiento del Jurado. En esta ocasión, hubo un mayor número de comunicaciones premiadas, debido a que cada una de las Sociedades participantes otorgaba sus

premios. Cabe mencionar que el importe total en premios concedido por las diferentes Sociedades participantes en las 12^{as} Jornadas de Análisis Instrumental fue de 10.300 euros, repartido entre los 19 trabajos premiados. A continuación se enumerará la lista de comunicaciones galardonadas y la Sociedad que patrocina cada premio:

Premios JAI otorgados por SEQA, SEA y SEProt, a las mejores comunicaciones tipo cartel entre las presentadas en las 12^{as} Jornadas de Análisis Instrumental:

• **SEQA**

Inga Rosenberg, Burkhard Horstkotte, Olaf Elsholz, Víctor Cerdà

An automated analyzer for the determination of quats herbicides using multisyringe flow injection analysis coupled to capillary electrophoresis (msfia-ce) (po-dia-22)

Davinson Pezo, Jesús Salafranca and Cristina Nerín

Automatized dynamic hollow fibre liquid phase microextraction procedure for specific migration analysis of active food packaging (po-am-03)

• **SEA**

Mejor trabajo presentado sobre Espectroscopia de Absorción Molecular:

Javier L. Urraca, Clara Cano, M.C. Moreno-Bondi, G. Orellana

Luminescent chemosensors for on board monitoring of the aircraft hydraulic fluid status (po-appi-11)

Mejor trabajo presentado sobre Espectroscopia de Absorción Atómica:

L.M. Cabalín, J. Ruiz, A. González, J.J. Laserna

On-line characterization of raw material in steel industry using a laser-induced breakdown spectrometry demonstrator (po-dia-32)

• **SEProt**

Antonio Serna Sanz

Targeted quantitative proteomics (po-pro-03)

M.A. Dea-Ayuela, J. Sansano, M.M. Garijo, M.T. Gómez-Muñoz

Estudio proteómico de dos aislados del protozoo parásito tricomonas gallinae con diferente capacidad patógena

Premio “CLUB USUARIOS SPME” patrocinado por Sigma-Aldrich Química, a la mejor comunicación tipo cartel que utilice la técnica de microextracción en fase sólida (SPME).

P. Marín, J.F. Periago, C. Prado

Application of a prototype of diffusive sampler based on spme for the determination of sevoflurane in air (po-ocai-12))

Premios Analytical and Bioanalytical Chemistry (ABC) patrocinado por Springer, a los mejores trabajos de Bioanálisis y Especiación.

Mejor Comunicación de Bioanálisis:

S. Morais, L.A. Tortajada-Genaro, R. Puchades, A. Maquieira

Analytical perspective of compact disc technology (po-bsn-06)

Mejor Comunicación presentada de Especiación:

Yoana Nuevo-Ordóñez, María Montes-Bayón, Elisa Blanco-González, Alfredo Sanz-Medel

Determination and characterization of superoxide dismutase in human red blood cells by hplc-icp-ms and esi-ms (po-esp-12)

Premios SEEM patrocinados por ThermoFisher Scientific, a los mejores trabajos de Espectrometría de Masas:

Primer Premios

Ramón Díaz, María Ibáñez, Juan V. Sancho, Félix Hernández

Rapid non-target screening of organic pollutants in food and water by uplc-qtofms using home-made theoretical and experimental libraries (po-csa-33)

Segundo Premio:

H. Gallart-Ayala, E. Moyano, M.T. Galcerán

Analysis of bpa- and bpf-diglycidyl ether and their derivatives in canned food by lc-ms/ms using h-srm (co-csa-01)

Tercer Premio:

P. Guerra, E. Eljarrat, D. Barceló

Isomeric- and enantiomeric-specific determination of hexabromocyclo dodecane by lc-qqlit-ms (co-ma-05)

Tercer Premio Accésit:

H. Téllez, J.M. Vadillo, J.J. Laserna

Surface and bulk analysis by secondary ion mass spectrometry (sims) (co-ocai-06)

A. Solà-Vázquez, A. Martín, J. M. Costa, R. Pereiro, A. Sanz-Medel

A tuneable pulsed glow discharge time-of-flight mass spectrometer for the simultaneous acquisition of atomic and molecular chemical information (co-dia-04)

Núria Cortés, Cintia Flores, Josep Rivera, Josep Caixach

Capabilities of esi-ms in accurate mass measurement (po-ocai-04)

Por último, ha de agradecerse la labor desarrollada por el Comité Organizador, que ha logrado que esta Reunión fuera fructífera en varios aspectos. Ha facilitado que se produjeran intercambio de ideas, opiniones y experiencias entre los diferentes grupos de investigación participantes, ha proporcionado una oportunidad inmejorable para que los jóvenes investigadores, gracias a la concesión de diferentes ayudas y becas, hayan podido asistir a estas Jornadas y hayan establecido relaciones con compañeros suyos de otros centros, lo que facilitará colaboraciones futuras, además de que han visto los avances más novedosos tanto en metodología como en instrumentación en sus líneas de investigación.

Por todo ello, no cabe sino que felicitar tanto al Comité Organizador como a todos los participantes por haber conseguido que estas 12as Jornadas de Análisis Instrumental hayan sido un éxito.

Merichel Plaza del Moral y José Bernal del Nozal
Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC)

IV PREMIOS JOSÉ ANTONIO GARCÍA DOMÍNGUEZ

En el marco de las 12^{as} Jornadas de Análisis Instrumental celebrada en Barcelona del 21 al 23 de Octubre de 2008 se otorgaron los premios José Antonio García Domínguez a las mejores comunicaciones orales y tipo cartel presentadas en dicha reunión. La IV edición de los premios José Antonio García Domínguez fueron patrocinados por Varian Ibérica S.A.

El jurado encargado de fallar los premios correspondientes a las mejores comunicaciones orales, constituido por *María Teresa Galcerán (Presidenta), Ana Agüera, Ana María García Campaña, Jordi Mañes, Rosa Maria Marcè, Yolanda Picó y Fco. Javier Santos*, tras debatir los méritos científicos de las presentaciones, tomó por unanimidad los siguientes acuerdos:

Primer premio:

Comunicación oral CO-PRO-01, presentada por S. Ongay

Título:

Development of a method of immunochromatography for purification of alpha 1-acid glycoprotein from sera samples to be analyzed by capillary electrophoresis

Autores:

S. Ongay, J.C. Díez-Masa, J. Sanz, M. de Frutos

Segundo premio:

Comunicación oral CO-MA-10, presentada por C. Bosch

Título:

Enantiomeric fraction of o,p'-DDT in soils: an approach to elucidate the origin of ddt pollution in Spain

Autores:

C. Bosch, J.O. Grimalt, P. Fernández, J. Muñoz, B. Gómara, B. Jiménez

Así mismo, el jurado encargado de fallar los premios correspondientes a las dos mejores comunicaciones tipo cartel, constituido por *Elena Ibáñez (Presidenta), Vicente Ferreira (Vicepresidente), Ana*

Agüera, David Andreu, Coral Barbas, Pilar Fernández, Ana María García Campaña, Salvador Garrigues, Rosa Maria Marcè, María Luisa Marina, Encarna Moyano, Santiago MasPOCH, Lourdes Ramos, Santiago Sánchez Cortés, Alfredo Sanz-Medel y Mercedes Torre, tomó por unanimidad los siguientes acuerdos:

Premios a las mejores Comunicación tipo cartel

Comunicación PO-CSA-11

Título:

Determination of fluoroquinolone antibiotic in milk by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with ionic liquids as additives in the mobile phase

Autores:

A.V. Herrera-Herrera, J. Hernández-Borges, L. M. Ravelo-Pérez, M. Asensio-Ramos, M. A. Rodríguez-Delgado

Comunicación PO-CSA-98

Título:

Capillary electrophoresis-time of flight-mass spectrometry for comparative metabolomics of transgenic vs. Conventional maize

Autores:

Tuuli Levandi, Carlos Leon, Mihkel Kaljurand, Virginia Garcia-Cañas, Alejandro Cifuentes

F. J. Santos

Secretario de la SECyTA

IV PREMIOS JOSÉ ANTONIO GARCÍA DOMÍNGUEZ

DEVELOPMENT OF AN IMMUNOCHROMATOGRAPHIC METHOD FOR ALPHA 1-ACID GLYCOPROTEIN PURIFICATION FROM SERUM SAMPLES TO BE ANALYZED BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS

Sara Ongay, José Carlos Diez-Masa, Jesús Sanz and Mercedes de Frutos.

Institute of Organic Chemistry (CSIC). Juan de la Cierva 3. 28006 Madrid, Spain.

Phone: +34-915622900; Fax: +34-915644853; e-mail: sara.ongay@iqog.csic.es

Alpha 1-acid glycoprotein (AGP) is a glycoprotein with a very high content in sugars (around 45% of its mass). The diversity of oligosaccharides that can be found bonded to the polypeptidic chain results in a wide range of possible glycoforms^[1]. Besides, the heterogeneity in the AGP forms found in human serum can be also due to the existence of genetic variants of the protein^[2]. Both glycosylation and heterogeneity in the amino acid sequence have been related to different pathological states such as cancer^[2], among others.

In a previous work in our laboratory^[3] a CZE method for the separation of forms (molecules of AGP differing in the glycosidic and/or peptidic moieties) of AGP and a statistical program for a correct assignment of protein peaks separated by CE were developed. However, the AGP samples used to test the applicability of the method had been purified from sera by means of a labor intensive and time-consuming method^[4].

Some attempts based on acidic precipitation were made by us in order to simplify the sample preparation of AGP from human serum^[5]. However the coextraction of other proteins made necessary a dilution step of the samples prepared in this way to minimize the matrix effect prior to the CZE analysis. In this way detection of the minor peaks was precluded.

Antigen-antibody interaction is known to be one of the most selective recognition methods. Immunochromatographic methods have been demonstrated to provide very high specificity as sample preparation methods for different compounds. For these reasons, the aim of the present work was to develop an immunochromatographic method to purify AGP from serum samples. The goal was to obtain a fast and easy method to prepare the samples to be analyzed by CE without interferences from other proteins.

An in-house anti-AGP column was prepared and different analytical factors of the method affecting AGP purification were optimized. Two successful methods, each of them advantageous to the other one in some aspects, for AGP purification from serum samples were achieved. The CZE analysis of the samples purified with both methods provided similar profiles. The statistical program previously mentioned was applied to these samples showing a correct assignment of peaks for AGP purified from sera compared to standard AGP.

^[1] Fournier, T., Medjoubi-N.N., Porquet, D. *Biochim. Biophys. Acta* 2000, 1482, 157-171.

^[2] Duché, J.-C., Urien, S., Simon, N., Malaurie, E., Monnet, I., Barré, J. *Clin. Biochem.* 2000, 33, 197-202.

^[3] Lacunza, I., Sanz, J., Diez-Masa, J.C., de Frutos, M. *Electrophoresis* 2006, 27, 4205-4214.

^[4] Kremmer, T., Boldizsár, M. Kovács, J., Paulik, E., Bencsik, K., Szajani, D. *J. Liq. Chromatogr.* 1995, 18, 1207-1218.

^[5] Lacunza, I., Toledo, M.V., Ongay, S., Diez-Masa, J.C., Sanz, J., de Frutos, M. *VI Meeting of SECyTA (Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines)*, Vigo (Spain), 2006.

Acknowledgments: Serum samples were generously donated by M.V. Toledo and E. Caso. S. Ongay acknowledges CSIC for a predoctoral contract. Financial support from Spanish MEC (CTQ2006-05214 and HH2006-0013 projects) and Comunidad de Madrid (S-GEN/0247/2006) is acknowledged).

ENANTIOMERIC FRACTION OF o,p'-DDT IN SOILS: AN APPROACH TO ELUCIDATE THE ORIGIN OF DDT POLLUTION IN SPAIN

Carme Bosch*¹, Joan O. Grimalt¹ and Pilar Fernández¹, Juan Muñoz², Belén Gómara² and Begoña Jiménez².

¹*Department of Environmental Chemistry. Institute of Chemical and Environmental Research. ICER-CSIC. Jordi Girona 18, 08034 Barcelona, Spain, Tel: +34 934006100*

**carme.bosch@iiqab.csic.es*

²*Department of Instrumental Analysis and Environmental Chemistry. Institute of Organic Chemistry, CSIC. Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid, Spain.*

DDT was widely used as agricultural and domestic pesticide in the last century, however, its persistence and ecotoxicological effects led to ban it in almost all countries. Present use of DDT is restricted to disease vector control in some developing countries. In the environment, DDT is transformed into the more stable metabolites DDE and DDD. Thus, the relationship of p,p'-DDT / p,p'-DDE has been commonly used to discriminate between recent and past DDT usages ^[1].

Recent studies in Spain indicate the presence of DDT and its metabolites in top predators and abiotic samples ^[2,3,4]. Moreover, high p,p'-DDT / p,p'-DDE ratios have been reported, which raises the need for investigation of possible new inputs of this pesticide in the environment.

Commercial formulations of DDT are mainly formed by two isomers: 70 % of p,p'-DDT and 30 % of o,p'-DDT, a chiral molecule manufactured as a racemic mixture. Based on the unique enantiomeric biodegradation of o,p'-DDT upon microbial activity, quantification of this DDT isomer and determination of its enantiomeric fraction (EF) (defined as (+) o,p' DDT / ((+) o,p'-DDT + (-) o,p'-DDT)) provides valuable information on the current degradation state of this pesticide and can be used to discriminate recent inputs of technical DDT from residues of past applications.

In the present study, the enantiomeric fraction (EF) of o,p'-DDT was determined in 17 soils collected along the Ebro river basin and Doñana Natural Park including surrounding areas with agricultural activities. Soils from remote areas such as the Pyrenees, where DDT is present as a result of long-range atmospheric transport, were also investigated for the comparison.

The chiral separation of o,p'-DDT enantiomers was performed by multidimensional gas chromatography (MDGC), in its "heart-cutting" modality, coupled to electron capture detector (ECD). The first dimension of the MDGC – ECD was a non-quiral DB-5 column, while the second was quiral (BGB-172) ^[5]. This technique provided a high resolution on the enantiomeric separation, and good repeatability and reproducibility of the EF values (mean EF ± standard deviation of 0.501 ± 0.005, and 0.504 ± 0.006, respectively (n=4)).

EF values in the studied soils ranged from 0.356 to 0.523. The EF values of five soils were not different from EF in the technical mixtures, i.e. close to the racemic value of 0.5 (EF = 0.497 ± 0.006), which points to recent input of this pesticide in these sites. These soils correspond to those most influenced by Ebro river water. In contrast, a non-racemic signature was found in soils from remote areas (EF = 0.398 ± 0.060). A weak correlation was observed between EF and p,p'-DDT / p,p'-DDE ratio.

^[1] Cliath, M.M.; Spencer, W.F. *Environmental Science and Technology* 1972, 6, 910-914

^[2] Gómara, B.; Baos, R.; Abad, E.; Rivera, J.; González, M.J.; Jiménez, B. *Environment International* 2008, 34, 73-78.

^[3] Carrizo, D.; Drooge, B.V.; Fernández, P.; Grimalt., J.O. http://www.csic.es/ria_huelva_v.do

^[4] Lacorte, S.; Raldua, D.; Martinez, E.; Navarro, A.; Diez, S.; Bayona, J. M.; Barcelo, D. *Environmental Pollution* 2006, 140, 471-482.

^[5] Alencastro, L.F.; Grandjean, D.; Tarradellas, J. *Chimia* 2003, 57, 499-504.

HOMENAJE A VARIOS SOCIOS

El pasado 22 de Octubre de 2008, durante la cena de gala celebrada en el Restaurante Pomarada de Barcelona y con una asistencia superior a 100 personas, se rindió un merecido homenaje a diversos socios en reconocimiento a sus trayectorias. La labor desarrollada por estos especialistas ha contribuido extraordinariamente al desarrollo experimentado por las técnicas cromatográficas y espectrometría de masas en España durante las últimas décadas. A continuación, se detallan los nombres de las personas homenajeadas junto con un breve resumen de sus carreras profesionales.

Personas que asistieron al homenaje.

Jenaro Bermejo Mayoral

Trabajó en el Instituto del Carbón de Oviedo, utilizando diversas técnicas cromatográficas para el estudio de las complejas mezclas de hidrocarburos, breas, alquitranes, liquefacción del carbón. Publicó numerosos trabajos sobre modelización del comportamiento cromatográfico y sobre la utilización de la cromatografía para estudios de mecanismos de reacciones. Formó un grupo numeroso de cromatografistas expertos que desarrollan su trabajo en el INCAR-CSIC y Universidad. Se incorporó muy pronto al GCTA, ya que organizó la reunión del mismo en Oviedo en 1973 donde se eligió la primera Junta Directiva, de la que fue vocal. Hay que destacar su apoyo al Grupo cuando estaba en sus comienzos. Sus discípulos y él mismo organizaron también la reunión del décimo aniversario (Oviedo 1983).

María Dolores Cabezado

Fue la primera tesorera, vocal, editora y vicepresidenta del GCTA. Contribuyó en muchas actividades del grupo, impulsó la Nomenclatura, animó el Boletín con diversos pasatiempos cromatográficos, ha sido siempre una de los miembros más participativos del grupo. Fue una de las impulsoras de la cromatografía de gases aplicada al análisis de alimentos y, especialmente, al estudio del aroma de alimentos. Ha sido Profesora de Investigación del IFI-CSIC y catedrática de la Universidad de Castilla-La Mancha.

Manuel Dabrio Bañuls

Fue socio fundador del GCTA, vicepresidente de la primera junta directiva y en el periodo 1988-1990 y

presidente entre 1978 y 1982. Organizador y Presidente de las Jornadas de Análisis Instrumental desde las primeras ediciones. Ha sido director del IQOG-CSIC, coordinador del área de Química del CSIC y vicepresidente del CSIC. Pionero de la cromatografía en España, y sobre todo de las columnas capilares tanto para gases como para líquidos. Desarrolló extraordinariamente los aspectos teóricos de la Cromatografía en nuestro país, junto con José Antonio García Domínguez. Autor de varios libros de cromatografía, destacando el libro "Cromatografía de Gases" (año 1973) que sigue siendo un punto de referencia en la formación en esta disciplina.



Lluís Eek Balcells

Introducir de la cromatografía en la Universidad de Barcelona (Departamento de Química Analítica). Fue el alma de la adquisición del primer cromatógrafo de gases de esta institución, Continuó su promoción de la cromatografía desde su actividad profesional en la Universidad Politécnica de Catalunya y en la empresa Derivados Forestales.

Ha desarrollado numerosas patentes en este campo y contribuciones relevantes en un amplio espectro de técnicas cromatográficas, desde la cromatografía de gases a la cromatografía de intercambio iónico y a la de exclusión.

Francesc Farré Rius

Pionero en el desarrollo de la Cromatografía en España. Dinamizador destacado de los estudios cromatográficos desde su actividad profesional en Perkin Elmer y Applied Biosystems. Promovió la interacción del Grupo con el mundo empresarial. Impulsor de las

Jornadas de Análisis Instrumental desde sus inicios. Realizó contribuciones destacadas en el análisis de gases por cromatografía y en el estudio del fenómeno del recubrimiento (o impregnación) de columnas capilares. Fue vocal de la Junta directiva en los periodos 1971-76 y 1980-84 y vicepresidente desde 1976 a 1980. Entre otras ha recibido la medalla Tswett.



Miquel Gassiot i Matas

Pionero en el desarrollo de la cromatografía en España y de la docencia de esta disciplina. Director del Instituto Químico de Sarriá y Rector de la Universidad Ramón Llull. Fue miembro fundador, miembro de la primera junta directiva como vicepresidente y Presidente del GCTA (1976-1980). Ha hecho aportaciones interesantes a la relación entre índice de retención y estructura molecular y a métodos de pirolisis cromatografía de gases.

Ha recibido varias medallas y premios, entre ellas la medalla Tswett. Miembro de la Real Academia de Ciencias y Artes de Barcelona, ingresando en la misma con un discurso sobre cromatografía.



Carmen Polo Sánchez

Se incorporó muy pronto al GCTA, jugando un papel muy activo en los eventos organizados por el grupo. Junto con J.C. Díez-Masa reactivó el grupo local de Madrid organizando, entre 1984 y 1987, cuatro mesas redondas sobre diversos aspectos de la HPLC. Fue tesorera del GCTA desde 1982 a 1986. Fue pionera en el desarrollo de métodos analíticos cromatográficos para la caracterización de componentes del vino. Fue asimismo directora del IFI-CSIC desde 1992 a 2002.

Josep Rivera Aranda

Pionero en el uso de la espectrometría de masas en el análisis cromatográfico en España y en las técnicas instrumentales dedicadas al análisis de dioxinas, constituyendo un grupo de investigación en este campo de referencia en Europa. Autor de numerosos trabajos dedicados al análisis de compuestos orgánicos persistentes en muestras ambientales y alimentos. Autor de referencia en el análisis de dioxinas en emisiones atmosféricas.



Personas que no estuvieron presentes en el homenaje.

María Josefa Molera

Fue el socio No. 1 y Primera Presidenta del GCTA (1972-76). Pionera de la cromatografía de gases en España. Junto con José Antonio García Domínguez construyó, a partir de notas manuscritas, el segundo cromatógrafo de gases que existía en España (y parece que el primero que funcionó). Ha recibido numerosas distinciones, entre ellas, los premios Alfonso X el Sabio del CSIC y la medalla de Química de la RSEQ.

Socios Fallecidos.**José Antonio García Domínguez**

Fue el primer secretario del GCTA, fue también vicepresidente y presidente en funciones, editor del Boletín del GCTA, miembro de la junta directiva de la RSEQ y representante español de la comisión de métodos de separación en Química Analítica de la IUPAC. Asimismo fue Director del Instituto de Química-Física Rocasolano del CSIC. Trabajó siempre en los avances más fundamentales de la cromatografía, siendo uno de los grandes teóricos de la cromatografía en nuestro país.

Luis Gascó Sánchez

Fue socio fundador del GCTA, del que fue presidente durante los años 1984 a 1988. Socio de la Real Sociedad de Física y Química desde 1950 y experto representante de España en el Group on Energy and Environment de la OFCD. Fue jefe de la división de Medio Ambiente de la Junta de Energía Nuclear (hoy CIEMAT) Ha publicado dos libros sobre cromatografía de gases.

VIII ASAMBLEA GENERAL DE LA SECyTA (37ª REUNIÓN CIENTÍFICA DEL GCTA)

La 8ª Asamblea General, que contó con la asistencia de 93 Socios, se celebró el día 21 de Octubre de 2008, a las 17:30 h en segunda convocatoria, en la Sala 4.1 del Pabellón 4 del Recinto Gran Vía de Fira de Barcelona en el marco de Expoquimia con el siguiente Orden del Día:

1. Lectura y aprobación del Acta de la Reunión anterior
2. Informe del Presidente
3. Organización del ISC 2010
4. Informe del Secretario
5. Informe de la Tesorera
6. Ruegos y preguntas

Desarrollo de la Sesión y Acuerdos Adoptados**1. Lectura y aprobación del Acta de la Reunión anterior.**

El Secretario lee el Acta de la Reunión anterior, que es aprobada, por unanimidad, sin correcciones.

2. Informe del Presidente.

- 2.1. En primer lugar, el Presidente da la bienvenida a todos los asistentes y expresa su más sincero agradecimiento a los miembros del Comité Científico

y Comité Organizador de las 12as Jornadas de Análisis Instrumental (12^{as} JAI) por el excelente trabajo realizado y el nivel de implicación de las diferentes sociedades participantes (SECyTA, SEQA, SEEM, SEA, SEProt, AEST y SEDO). Como aspectos positivos de esta edición de las JAI cabe destacar el elevado número de asistentes, cerca de 500 congresistas, la participación de conferenciantes invitados de primer nivel, como el Dr. Kurt Wüthrich, Premio Nobel de Química 2002, Dr. Yoshinobu Baba, Dr. Detlef Günther, Dr. Philip J. Marriott y el Dr. Cameron McLeod, y la elevada calidad de las comunicaciones presentadas. En total se han recibido 440 comunicaciones, de las cuales 58 fueron seleccionadas como orales y 385 en forma de cartel.

2.2. IV Edición de los Premios José Antonio García Domínguez.

Al igual que en ediciones anteriores, la IV Edición de los Premios José Antonio García Domínguez se ha convocado coincidiendo con las 12^{as} Jornadas de Análisis Instrumental, aunque con algunas diferencias respecto a convocatorias anteriores. En esta edición y dado que el resto de Sociedades participantes en las 12^{as} JAI concedían también premios similares, se ha creído conveniente que los premios a los mejores carteles fueran seleccionados entre todas las comunicaciones presentadas a las Jornadas, siendo el tribunal encargado de fallar dichos premios común con el resto de Sociedades.

En el caso de los premios a las mejores comunicaciones orales, se ha seguido el mismo criterio y formato que en ediciones anteriores.

2.3. Acto de Homenaje a Socios destacados de la SECyTA.

Este año se ha iniciado un acto de homenaje a socios de la SECyTA que por su valiosa contribución al desarrollo de la Cromatografía y Técnicas Afines en España y su brillante trayectoria científica en el campo de las Técnicas de Separación han jugado un papel destacado y relevante. El Acto de homenaje se realizará durante la cena de gala de las 12^{as} Jornadas de Análisis Instrumental en Barcelona y se hará entrega a cada homenajeador de una medalla conmemorativa de dicho acto. En la misma cena, la Sociedad Española de Espectrometría de Masas (SEEM) también tiene previsto el homenaje de algunos de sus socios, aunque con criterios diferentes.

2.4. Organización de la IX Reunión Científica de la SECyTA (38^a GCTA).

El Presidente anuncia a la Asamblea que la próxima Reunión Científica de la SECyTA tendrá lugar en San Sebastián en Octubre de 2009. La Dra. Carmen Doronsoro, Profesora de la Universidad del País Vasco, ha aceptado hacerse cargo de la organización de dicha reunión y ya se han iniciado los primeros contactos para decidir el lugar y temas relacionados con la infraestructura de la reunión.

2.5. Organización del International Symposium on Chromatography (ISC210).

Este tema se tratará en el punto 3 del Orden día.

2.6. *European Society of Separation Science* (EuSSS).

El Presidente informa de los contactos establecidos con los responsables de la Sociedad Europea de Ciencias de la Separación, de la cual la SECyTA es miembro desde 2006. De las conversaciones mantenidas se constata el claro retroceso y limitada actividad realizada durante este último año y la necesidad de potenciar su funcionamiento y favorecer la participación de las diferentes Sociedades integrantes mediante la organización de un congreso internacional a nivel Europeo.

2.7. Página web de la SECyTA.

Durante este año se ha procedido a la renovación

de la página web de la Sociedad para adaptar los contenidos a las nuevas necesidades y facilitar su actualización y mantenimiento. En este sentido, la nueva página web de la SECyTA estará disponible próximamente una vez que subsanen algunos problemas con el servidor. Se espera que entre en funcionamiento en noviembre de este mismo año.

2.8. Digitalización del Boletín de la SECyTA.

Con el fin de poner a disposición de los socios y del público en general los números del Boletín publicados por la Sociedad desde su constitución, se ha procedido a su digitalización y edición de la información en formato pdf. En estos momentos se está procediendo a adaptar los archivos creados a los sistemas de búsqueda mediante la transformación digital de los pdf obtenidos. La idea es publicar dichos archivos en la página web de la sociedad.

3. Organización del ISC 2010.

3.1. El Presidente comenta los antecedentes del congreso *International Symposium on Chromatography*, que es uno de los pocos congresos internacionales que abarcan todas las técnicas de separación y cuya organización recae alternativamente en las Sociedades Francesa, Inglesa y Alemana de Ciencias de Separación. El congreso, que se celebra cada dos años, ha tenido como sedes anteriores París (ISC 2004), Copenhague (ISC 2006) y Münster (ISC 2008). Dado que en el próximo congreso, ISC 2010, la responsabilidad de la organización recae en la Sociedad Francesa, ésta ha aceptado la candidatura de la SECyTA para que se encargue de su organización.

3.2. Con el fin de formalizar la candidatura de la SECyTA, a principios de este año (Enero 2008) se presentó la memoria del congreso y el presupuesto correspondiente, que fueron aceptados por parte de la Sociedad Francesa de Ciencias de la Separación.

3.3. La sede del congreso será finalmente el Museo de las Ciencias Príncipe Felipe de la Ciudad de las Artes y las Ciencias de Valencia, y su organización correrá a cargo de la Dra. Yolanda Picó de la Universidad de Valencia, que ha aceptado gustosa el encargo. Está previsto que el congreso se realice a finales de septiembre de 2010.

3.4. Con el objetivo de anunciar formalmente el *International Symposium on Chromatography* 2010, el pasado septiembre la Dra. Yolanda Picó y el Presidente de la SECyTA, Dr. Joan Grimalt, asistieron al ISC 2008 celebrado en Münster, donde se realizó la presentación del congreso y donde se pudo constatar la buena acogida recibida por el público asistente.

3.5 El presidente manifiesta a los asistentes la importancia de este congreso para la SECyTA, tanto desde el punto de vista científico como de reconocimiento y proyección internacional de la Sociedad. No obstante, la organización de un congreso de estas características es diferente al que habitualmente organiza la Sociedad, ya que el número de asistentes es muy superior y supone un mayor riesgo económico. Hasta ahora, el coste de nuestras reuniones ha estado muy controlado puesto que se han celebrado en Centros Públicos, Universidades o incluso en Expoquimia. En el caso del ISC 2010, el coste del Museo de la Ciencias es muy elevado y por tanto debemos ser conscientes del riesgo que asumimos. Si la contratación del Museo se lleva a cabo por una entidad pública se podría conseguir un 30% de descuento sobre el coste total. Sin embargo, como la SECyTA es una entidad privada se han buscado otras fórmulas para conseguir dicho descuento. Es por esta razón que se han mantenido contactados con la Fundación Valenciana de Estudios Avanzados, a través de su presidente el Dr. Santiago Grisolia y con la Universidad de Valencia. En el caso de la Fundación, la gestión no ha dado los frutos esperados mientras que con la Universidad de Valencia estamos a la espera de su aceptación.

3.6 Por último, el presidente solicita la ayuda e implicación no sólo de la Junta de Gobierno sino de todos los socios para que la organización de este congreso sea un éxito.

3.7 Se inicia un turno abierto de palabra entre los asistentes donde se comentan algunos aspectos relativos a la organización del ISC 2008, celebrado en Münster este año, y la posibilidad de aprovechar el congreso HPLC 2008 para contactar con las empresas participantes. El presidente informa que está previsto que los organizadores del ISC nos faciliten información de las personas de contacto de las empresas europeas que habitualmente asisten a este congreso.

4. Informe de la Secretaria.

4.1 Socios de la SECyTA.

Durante el período comprendido entre octubre de 2007 y octubre de 2008 se han producido un total de 37 altas y 6 bajas. En el listado actual de Secretaría el número de socios actualizado a día de celebración de esta Asamblea es de 488 Socios.

4.2 Ayudas concedidas por la SECyTA.

Se han concedido un total de 7 ayudas para la asistencia a congresos internacionales:

- 1 ayuda para la asistencia a la 22nd *International Symposium on Microscale Bioseparations & Methods for System Biology* (Berlín, Alemania, 9-13 de Marzo de 2008),
- 3 ayudas para la asistencia al 32nd *International Symposium on Capillary Chromatography* (Riva del Garda, Italia, 26-30 de Mayo de 2008),
- 2 ayudas para asistir al 28th *International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants*, Dioxin 2008 (Birmingham, UK, 17-22 Agosto de 2008), y
- 1 ayuda para la asistencia al 27th *International Symposium on Chromatography* (Münster, Alemania, 21-25 Septiembre de 2008).

En el caso de Congresos Nacionales, la SECyTA ha concedido un total de 54 becas de inscripción para la asistencia a las 12^{as} Jornadas de Análisis Instrumental (de las cuales 25 han sido sufragadas por Expoquimia). Así mismo, se han concedido 31 ayudas de viaje para la asistencia a este mismo congreso.

4.3. Congresos patrocinados por la SECyTA.

La SECyTA ha patrocinado el I Workshop on Analytical Miniaturization ("Lab-on-a-chip") celebrado en la Universidad de Alcalá de Henares del 21 al 22 de Julio de 2008. El patrocinio ha consistido en la concesión de tres becas de inscripción a dicho congreso.

4.4. Ayudas Solicitadas por la SECyTA.

Para la organización de las 12^{as} Jornadas de Análisis Instrumental, la SECyTA ha solicitado una ayuda al Ministerio de Educación y Ciencia y otra a la Generalitat de Catalunya. Ambas ayudas han sido concedidas por un valor de 6.000 € cada una de ellas.

4.5. Temas previstos período 2008-2009.

El secretario informa de los temas que se abordarán el próximo año, entre los que cabe citar la puesta en funcionamiento de la nueva web de la Sociedad, la legalización del libro de Actas y el Alta de la Sociedad en la Agencia de Protección de Datos.

5. Informe de la Tesorera.

5.1. Estado actual de las Cuentas de la Asociación.

La Tesorera de la SECyTA, Dra. Begoña Jiménez, presenta el estado de cuentas de la Sociedad, cuyo balance es positivo.

Es importante destacar el saldo negativo después del cierre definitivo del congreso de Vigo 2006 que ha podido ser compensado con el saldo positivo del congreso celebrado en Granada en 2007. Otro aspecto a comentar es el elevado coste que supone a la Sociedad la devolución de los recibos correspondiente al cobro de las cuotas de socios. En este sentido, la tesorera resalta que se debería evitar en la medida de lo posible dicho gasto. Para ello ruega a los socios que traten de mantener al día la información correcta sobre la cuenta bancaria en la que se les debe domiciliar el recibo.

5.2. Organización de las 12^{as} Jornadas de Análisis Instrumental.

Se ha ingresado la cantidad acordada con Fira de Barcelona en concepto de organización de las 12^{as} JAI. Este dinero se ha dedicado fundamentalmente a sufragar los gastos del Comité Científico y el pago del desplazamiento y estancia de los confe-

renciantes invitados y de su remuneración. Así mismo, las ayudas concedidas del Ministerio de Educación y Ciencia y de la Generalitat de Catalunya serán para hacer frente a parte de las ayudas concedidas a nuestros asociados para la asistencia a este congreso. Queda pendiente proceder al cierre económico del congreso, que se realizará en los próximos meses.

6. Ruegos y preguntas.

En este punto del orden del día la Dra. M^a Teresa Galcerán toma la palabra para preguntar si está previsto poner a disposición de los socios el contenido del libro de nomenclatura para cromatografía que se editó ya hace algunos años. En este sentido, el Presidente informa que existe en la página web un apartado dedicado a este tema, aunque no de forma global ya que es necesario introducir el término que se desea conocer cada vez y no es posible descargar la información existente. No obstante, se estudiará la propuesta de incluir la información completa del libro de nomenclatura en Cromatografía en la página web de la Sociedad para que pueda ser descargado.

Antes de finalizar este apartado, el Secretario y la Tesorera de la SECyTA comunican a los asistentes que, una vez finalizada la Asamblea, se procederá a entregar el cheque de ayuda de viaje y/o inscripción a los becarios de esta Reunión Científica, previo nombramiento por orden alfabético de los mismos.

Sin más asuntos que tratar, se da por concluida la 8^a Asamblea General de la SECyTA a las 18:20 h.

NUEVOS SOCIOS (8-5-2008 A 17-11-2008)

Herrera Herrera, Antonio V.
Dpto. de Química Analítica, Nutrición y Bromatología
Universidad de La Laguna
C/ Astrofísico Francisco Sánchez s/n
38071-La Laguna (S/C DE TENERIFE)

Llorca Casamayor, Marta
IIQAB (CSIC)
C/Jordi Girona, 18-26
08034-BARCELONA

Pérez Solsona, Sandra
IIQAB (CSIC)
C/Jordi Girona, 18-26
08034-BARCELONA

Galindo Iranzo, Plácido
Instituto de Química Física Rocasolano (CSIC)
C/Serrano, 119
28006-MADRID

Bosch Suades, Carme
IIQAB (CSIC)
C/Jordi Girona, 18-26
08034-BARCELONA

Vázquez Roig, Pablo
C/Mayor, 26, 3º, 1ª
12001-CASTELLÓN

Garí de Barbarà, Mercè
Dpto. de Química Ambiental. IIQAB (CSIC)
C/Jordi Girona, 18-26
08034-BARCELONA

Bailón Pérez, María Isabel
Dpto. de Química Analítica. Facultad de Ciencias
Universidad de Granada
Avda. Fuentenueva s/n
18071-GRANADA

Lombardo Agüí, Manuel
Dpto. de Química Analítica. Facultad de Ciencias
Universidad de Granada
Avda. Fuentenueva s/n
18071-GRANADA

Lattanzio, Giuseppe
Dpto. de Química Analítica. Facultad de Ciencias
Universidad de Granada
Avda. Fuentenueva s/n
18071-GRANADA

Andújar Ortiz, Inmaculada
Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC)
C/Juan de la Cierva, 3
28006-MADRID

Quesada Molina, Carolina
Dpto. de Química Analítica. Facultad de Ciencias
Universidad de Granada
Avda. Fuentenueva s/n
18071-GRANADA

Bernad Marcos, Josep Oriol
Dpto. de Química Analítica. Facultad de Química
Universidad de Barcelona
Avda. Diagonal, 647
08028-BARCELONA

Ferreres Guardino, Laura
Dpto. de Química Orgánica y Química Analítica
Universitat Rovira i Virgili
C/Marcel·lí Domingo, s/n
43007-TARRAGONA

Beltrán Carbó, Antoni
Dpto. de Química Orgánica y Química Analítica
Universitat Rovira i Virgili
C/Marcel·lí Domingo, s/n
43007-TARRAGONA
Martos Sevilla, Gustavo
Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC)
C/Juan de la Cierva, 3
28006-MADRID

Rama Corredor, Óscar
Instituto de Diagnostico Ambiental y Estudios del
Agua (CSIC)
C/Jordi Girona, 18-26
08034-BARCELONA

Jiménez Saiz, Rodrigo
C/Fermín Caballero, 36, 8ªA
28034-MADRID

Yuste Córdoba, Francisco Javier
Avda. Extremadura 26, 2 D
06800-Mérida (BADAJOZ)

Martrat Sotil, Belen
Instituto de Diagnostico Ambiental y Estudios del
Agua (CSIC)
C/Jordi Girona, 18-26
08034-BARCELONA

Fontanals Torroja, Núria
Universitat Rovira i Virgili
C/Marcel·lí Domingo, s/n
43007-TARRAGONA

Garbalo Rubio, Antonio
Puleva Biotech, S.A.
Camino de Purchil, 66
18004-GRANADA

Soto Chinchilla, Jorge Juan
C/Virgen del Rocío, 10
18320-Santa Fe (GRANADA)

Del Pozo Bayon, María Ángeles
C/Los Hueros, 1, 6º A
28028-Alcalá de Henares (MADRID)

Gros Calvo, Meritxell
Pza. de la Sardana, 4
25600-Balaguer (LLEIDA)

Barba González-Albo, Carmen
Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC)
C/Juan de la Cierva, 3
28006-MADRID



CONGRESOS CELEBRADOS

32nd International Symposium on Capillary Chromatography and 5th GCxGC Symposium

26-30 de Mayo de 2008, Riva del Garda, Italia.

La trigésima segunda edición del “International Symposium on Capillary Chromatography” (ISCC) y la quinta edición del “GCxGC Symposium” tuvieron lugar durante la semana del 26 al 30 de mayo de 2008 en el Centro de Ferias y Congresos de Riva del Garda, Italia, como viene siendo habitual cada dos años. Esta nueva edición conmemoraba, además, los 25 años desde la primera vez que el congreso se celebró en Riva del Garda (1983). El comité organizador estuvo presidido por el Prof. Dr. P. Sandra del I.O.P.M.S (International Organization for the Promotion of Microcolumn Separation). Se formó asimismo un comité de científicos y otro de honorarios integrados por reconocidos investigadores provenientes de toda la geografía mundial, y un comité local representado por el Dr. Henríquez, el Dr. Soria y la Sra. Zara de la empresa Thermo Fisher Scientific.

El día 25 de mayo tuvo lugar inicialmente un curso sobre los principales aspectos de la cromatografía de gases bidimensional (fundamentos, aplicaciones, optimizaciones, acoplamientos) impartido por investigadores expertos en la materia: Dr. J. Dimandja (Spelman College, Atlanta, GA, USA), Dr. J. Beens (Free University, Amsterdam, The Netherlands), Dr. H.G. Janssen (Unilever Research Laboratory, Vlaardingen, The Netherlands) y el Dr. P. Marriott (RMIT University, Melbourne, Australia).

El día 26 de mayo se inauguró el quinto congreso de GCxGC con una conferencia de apertura presidida por los mismos miembros que impartieron el día previo el curso de GCxGC. En total se presentaron un total de 28 comunicaciones orales, 4 de las cuales fueron comunicaciones plenarias, y 106 comunicaciones en formato de póster: 38 de técnicas acopladas, 8 de fundamentos, 24 de tecnología de columna, 22 de cromatografía de gases y 14 de cromatografía de líquidos. Dentro de las comunicaciones orales destacaron sobre todo aquellas dirigidas a aplicaciones petroquímicas y medioambientales (alimentos, aceites, suelos, extractos de plantas, etc.). De igual forma, resaltar la importancia que adquirieron los acoplamientos multidimensionales y las con-

ferencias dirigidas hacia el análisis multidimensional con detectores de nueva generación, como los equipados con analizadores de tiempo de vuelo (TOF).

De manera paralela al “5th GCxGC Symposium”, el martes 27 de mayo se inauguró el “32nd ISCC” que se prolongó durante los tres días siguientes. El congreso fue inaugurado con dos conferencias plenarias en las que se exponían los cambios y limitaciones de la modernización de la cromatografía así como de las columnas capilares y, como viene siendo habitual, con la entrega del Premio “Marcel Golay” al Dr. Unger (Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Mainz, Alemania) por su trayectoria científica, el cual ofreció la primera de dichas conferencias titulada “Particle packed and monolithic silica capillary columns in multidimensional LC/MS for proteomics – Challenges and limitations”. En estos días se profundizó en los diferentes aspectos relativos a distintas técnicas cromatográficas multidimensionales tanto en fase gaseosa como líquida (GCxGC, LCxLC, LCxGC, GCxGCxGC).

En este congreso se presentaron un total de 71 comunicaciones orales de las cuales 54 fueron conferencias plenarias. Asimismo, se expusieron un total de 402 comunicaciones en formato póster incluidas en diferentes secciones: 50 de preparación de muestra, 9 de sistemas de muestreo, 6 de análisis de trazas, 61 de análisis de productos naturales, alimentos, etc, 1 de microchips, 3 de extracción con fluidos supercríticos, 13 de métodos de electromigración, 14 de instrumentación y automatización, 13 de técnicas multidimensionales, 36 de aplicaciones medioambientales, 11 de aplicaciones de petroquímica, 34 de aplicaciones farmacéuticas y biomédicas, 45 consideradas “last minute” y además se mantuvieron todas aquellas expuestas en el primer congreso.

Dentro del programa científico, una de las conferencias más novedosas fue “Automation of SPME-LC-MS/MS using multi-well plates for high-throughput bioanalytical applications” ofrecida por el Dr. J. Pawliszyn, de la Universidad de Waterloo (Canadá), que presentó un novedoso sistema de SPME acoplado a LC-MS/MS que permite el tratamiento simultáneo de un número relativamente elevado de muestras (sobre todo muestras de tipo biológico) y que será próximamente comercializado.

En los días centrales del congreso pudimos asistir, asimismo, a diversos seminarios ofrecidos por distintas casas comerciales (WATERS, SHIMADZU, SGE, AGILENT, SIGMA-ALDRICH, GERSTEL, RESTEK, DANI INSTRUMENTS, THERMO FISHER SCIENTIFIC, LECO, PERKIN, BRECHBÜHLER y NLISIS) en los que se presentaron las últimas y más novedosas evoluciones y aplicaciones de la cromatografía de gases y líquidos en diferentes campos. Dichas empresas organizaron una exposición comercial en la que mostraban las últimas novedades en instrumentación analítica.

El "32nd ISCC" fue clausurado el viernes 30 de Mayo con una ceremonia en la que se entregaron dos premios: el "Leslie S. Ettre" (presentado por el propio Dr. Ettre en la inauguración del congreso mediante videoconferencia), dirigido a investigadores menores de 35 años y que hubieran presentado una comunicación en el congreso relacionada con cromatografía de gases capilar con aplicaciones medioambientales y el "PARC 2008" dirigido a

investigadores con el mismo perfil pero cuyas presentaciones se hubiesen basado en temas innovadores relacionados con el ámbito farmacéutico y biomédico. El jueves 29 de mayo se había entregado previamente el premio "GCxGC" al grupo del Dr. Zimmermann por sus recientes contribuciones en dicho campo.

Finalmente, se instó a todos los participantes a la asistencia a la siguiente edición de este congreso que tendrá lugar el próximo año en Portland (Oregón, E.E.U.U) y que estará presidido por el Dr. F. Svec.

Javier Hernández Borges

Departamento de Protección Vegetal
Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA),
La Laguna, Tenerife.

Juan Muñoz Arnanz y Miren Pena-Abaurrea

Departamento de Análisis Instrumental
y Química Ambiental
IQOG-CSIC, Madrid.

CALENDARIO DE ACTIVIDADES

SCM-4: Fourth International Symposium on Separation and Characterization of Natural and Synthetic Macromolecules.

28 - 30 Enero. 2009. Amsterdam, Holanda.
<http://www.ordibo.be/scm/>

23rd International Symposium on Microscale Bioseparations.

1 - 5 Febrero. 2009. Boston, Massachusetts, EEUU.
<http://casss.org/cde.cfm?event=219436>

Pittcon 2009: 60th Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy.

8 - 13 Marzo. 2009. Chicago, Illinois, EEUU.
www.pittcon.org

9th Workshop on (Bio)sensors and Bioanalytical microtechniques in environmental and clinical analysis

14 - 17 Junio. 2009. Montreal, Canadá.
bbmec_2009@umontreal.ca
http://www.chimie.umontreal.ca/bbmec_2009/index-en.html

HPLC 2009: 34th International Symposium on High-Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques.

28 Junio - 2 Julio. 2009. Dresde, Alemania.
www.hplc2009.com/hplc2009.htm

Euroanalysis 2009.

6 - 10 Septiembre. 2009. Innsbruck, Austria.
www.euroanalysis2009.at/

The 8th Latinamerican Congress on Environmental Analytical and Sanitary Chemistry

16 - 20 Septiembre. 2009. San José, Costa Rica.
http://www.iaeac.ch/iaeac_meetings/latinamerican_cong.html

RAFA 2009: 4th International Symposium on Recent Advances in Food Analysis.

4 - 6 Noviembre. 2009. Praga, República Checa.
www.rafa2009.eu/Default.aspx



ARTÍCULOS DE INTERÉS

Entre la gran variedad y cantidad de productos de glicación avanzados (AGEs) que se forman durante la reacción de Maillard (MR), la carboximetil-lisina (CML) es uno de los más estudiados tanto desde el punto de vista clínico como alimentario dadas sus conocidas implicaciones en la salud humana. Al contrario que otros AGEs, la CML es un compuesto muy estable lo cual facilita su análisis y permite su utilización como indicador de la MR en alimentos procesados térmicamente; así como, en muestras biológicas.

Numerosos métodos analíticos se han propuesto con el fin de detectar y cuantificar proteínas carboximetiladas, los cuales han proporcionado datos precisos sobre la formación de CML in vivo. Sin embargo, sorprenden los escasos datos cuantitativos que de éste compuesto se disponen en alimentos, quizás por falta de una metodología apropiada para una matriz tan variable y compleja. Entre las técnicas empleadas para la determinación de CML en alimentos caben destacar: RP-HPLC con derivatización post-columna para producir derivados fluorescentes de *o*-ftaldehído (OPA), derivatización de los grupos amino y carboxilo de los aminoácidos y posterior análisis por GC-MS, LC-MS/MS y ELISA competitivo.

“Evaluation of a gas chromatography/mass spectrometry method for the quantification of carboxymethyllysine in food samples”.

A. Charissou, L. Ait-Ameur, I. Birlouez-Aragon.
Journal of Chromatography A (2007), 1140:189-194.

En este artículo los autores describen un método para la cuantificación de CML en derivados lácteos mediante GC-MS, técnica comúnmente empleada para muestras biológicas que combina la selectividad de la cromatografía de gases, con la especificidad de la espectrometría de masas, y comparan esta metodología con los resultados obtenidos por ELISA competitivo. A su vez, discuten la necesidad de utilizar una reducción previa de las muestras con borohidruro sódico con el fin de evitar interferencias en el análisis procedentes de la formación de CML, durante la hidrólisis ácida de las muestras, a partir de compuestos de Amadori (fructosil-lisina).

La metodología propuesta permite la detección de CML con un límite de cuantificación (LOQ) de 1 ng CML/mg proteína, equivalente a una concentración de

150 ng/ml de CML. El método propuesto se aplicó a otras matrices alimentarias tales como carne asada y galletas, descartando cualquier posible efecto matriz durante el análisis.

El estudio comparativo de los resultados obtenidos por ELISA y la metodología propuesta indican que la primera de estas técnicas analíticas conduce a una sobreestimación de CML en leche líquida e hidrolizados de fórmulas infantiles asociada a una falta de especificidad de la técnica y a un posible efecto matriz. A su vez, se compara la sensibilidad del ELISA competitivo (5 ng CML/ml) frente a la lograda por GC-MS que los autores proponen (150 ng CML/ml).

Charissou y colaboradores sugieren que el proceso de desengrasado y lavado de las muestras descrito permite eliminar el paso de reducción con borohidruro sódico produciendo resultados cuantitativos robustos lo cual constituye una ventaja. Además, los autores concluyen que aunque la técnica de ELISA competitivo es rápida, de bajo coste y más sensible que la propuesta en el presente trabajo, resulta inespecífica para el análisis de este compuesto en leches líquidas, hidrolizados o alimentos grasos. Por tanto, aunque el análisis de CML por GC-MS conlleva un proceso previo de derivatización tedioso, el método resulta específico con independencia de la matriz a analizar y permite la determinación simultánea de lisina, furosina y malondialdehído-lisina. El interés por los métodos de GC es patente, así recientemente han sido publicados otros trabajos de determinación de CML aplicando esta metodología (Bosch y col., *Journal of Chromatography A* (2007) 860: 66-77).

“Determination of N^ε-(carboxymethyl)lysine in food systems by ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry”.

S.H. Assar, C. Moloney, M. Lima, R. Magee, J. M. Ames.
Amino Acids, Artículo en prensa (2009). DOI 10.1007/s00726-008-0071-4

En este artículo, los autores emplean UPLC-MS para el análisis de CML en diversos alimentos. Esta novedosa técnica reduce de manera significativa el tiempo de análisis, ya que permite la cuantificación de CML en aproximadamente 8 minutos frente a los 20-30 minutos de otros métodos, y logra además una reduc-

ción en la cantidad de muestra necesaria, a la vez que mejora la calidad de los resultados cuantitativos.

Según los autores, para la obtención de resultados precisos de los niveles de CML en matrices complejas como son los alimentos, se hace necesaria una preparación adecuada de la muestra, con el fin de maximizar la sensibilidad del análisis y eliminar posibles interferencias. En este estudio se desarrollan diferentes metodologías para la preparación de muestras procedentes de alimentos diversos, tales como productos lácteos, pan, carne, fórmulas infantiles y aceite de oliva. Todas las muestras fueron previamente tratadas con borohidruro sódico con el fin de reducir los compuestos de Amadori (fructosil-lisina) y de oxidación lipídica a sus formas alcohólicas, evitando así la formación de CML a partir de éstos durante el proceso de hidrólisis, y por tanto, sobrestimaciones indeseadas. Los autores a su vez, proponen un paso de aislamiento proteico por precipitación con TCA posterior a la reducción con borohidruro y previo a la hidrólisis ácida, con el fin de obtener una fracción proteica pura. En el caso de alimentos con alto contenido en grasas recomiendan el empleo del método de Folch en sustitución de la precipitación con TCA.

Para el análisis por UPLC emplearon diferentes fases móviles donde el ácido nonafluoropentanoico (NFPA) permitió un incremento en la señal del MS y una excelente resolución entre la lisina y la CML en comparación con el ácido trifluoroacético (TFA), comúnmente empleado en LC-MS por ser altamente volátil y prestar una excelente resolución de los componentes de la muestra.

En conclusión, los autores recomiendan la optimización de los pasos previos al análisis de CML en alimentos, evitándose la exposición de las muestras al calor y al aire, así como la reducción de las mismas con borohidruro sódico con el fin de evitar posibles sobrestimaciones, logrando una metodología rápida, reproducible y sensible para la detección, identificación y cuantificación de CML en alimentos y que puede ser potencialmente aplicable al análisis de otros AGEs.

José Manuel Silván

*Departamento de Caracterización de Alimentos
Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC*

“Glycopeptide analysis by mass spectrometry”.

D. S. Dalpathado, H. Desaire. Analyst, 2008, 133, 731-738

El presente artículo es una revisión de las aplicaciones de espectrometría de masas en glicómica. La glicómica es una disciplina emergente que estudia la función y estructura de los carbohidratos unidos post-traduccionalmente a las proteínas. Cambios en el perfil de glicosilación pueden dar lugar a enfermedades congénitas, procesos inflamatorios, cáncer y otras patologías. Los datos recogidos en la base de datos Swiss-Prot indican que el 50% de las proteínas están glicosiladas enzimáticamente y sólo el 10% de éstas han sido caracterizadas, por lo que su estudio es de interés.

Para caracterizar los glicopéptidos en primer lugar se deben de aislar y purificar las glicoproteínas, para ello la electroforesis en gel y la cromatografía de alta afinidad con lectinas inmovilizadas son las técnicas tradicionalmente más empleadas. Posteriormente, con objeto de facilitar la proteólisis de las glicoproteínas, éstas se desnaturalizan (con SDS, urea, guanidina hidrociorada o RapiGest™ SF) y/o se alquilan y reducen (generalmente con iodoacetamida y ditiotreitól, respectivamente). El análisis de glicoproteínas puede hacerse por secuenciación de la cadena peptídica por el método de Edman, mediante la liberación de su glicano por desglicosilación (química o enzimática) o mediante su proteólisis y posterior análisis de los glicopéptidos. La proteólisis de la glicoproteína permite que el glicano quede unido al aminoácido y se pueda establecer su posición en la cadena polipeptídica. Dado que este método es el que más información puede aportar, las autoras del presente trabajo de revisión lo desarrollan ampliamente. La proteólisis puede llevarse a cabo mediante el uso de una única enzima, como por ejemplo la tripsina, o con un pool de enzimas como en las preparaciones de proteinasa K o pronasa. La primera opción tiene como ventaja la alta especificidad, de tal modo que se conoce el lugar de corte de la proteína y el glicopéptido puede ser rápidamente identificado si está disponible la secuencia aminoacídica, pero presenta como desventajas que la pérdida de algún sitio de corte o la presencia de múltiples sitios de glicosilación pueden complicar el análisis de datos. El uso de un pool enzimático da lugar a secuencias glicopeptídicas y peptídicas más pequeñas que facilitan la obtención de medidas de espectros de masas más precisos y con mejor fragmentación. Una vez realizada la proteólisis se deben purificar los gli-



copéptidos, para ello se suele combinar HPLC en fase inversa con otras técnicas como cromatografía de afinidad con lectinas, geles con base de carbohidrato (celulosa o sefarosa), cromatografía de exclusión molecular o de interacción hidrofílica (HILIC).

Para llevar a cabo el análisis del espectro de masas, el equipo debe ser capaz de medir masas pequeñas como las correspondientes a los iones de hexosas (m/z 163; Hex⁺), por eso se emplean espectrometría de masas en tándem (generalmente, MALDI-Qq-TOF y MALDI-TOF/TOF) con disociación inducida por colisión (CID). En general, la fragmentación de glicopéptidos produce iones por la rotura del glicano de tipo “Y” y “B” (siguiendo la nomenclatura de Domon y Costello, *Glycoconjugate J.* 1988, 5, 397-409), que da lugar a pérdidas de 162 Da (Hex), 203 Da (HexNAc) y 291 Da (NeuNAc) para CID MS/MS, de tal modo que estos iones se emplean para confirmar la presencia del glicopéptido. En el caso de MALDI-Qq-TOF hay cuatro iones que pueden ser usados como característicos de glicopéptidos que son los correspondientes al [péptido + H]⁺, [péptido + H - 17]⁺, [péptido + GlcNAc + H]⁺ y [péptido + C₂H₂NHAc]⁺. Resultados similares se obtienen cuando los espectros se obtienen con MALDI-TOF/TOF, pero además pueden encontrarse los iones [péptido + GlcNAc + fucosa + H]⁺ y [péptido + GlcNAc + 2fucosa + H]⁺ si el núcleo del glicano está fucosilado.

Cuando ya se conoce la masa de los fragmentos obtenidos el siguiente paso es identificarlos. La identificación se lleva a cabo empleando herramientas informáticas en las que se hacen búsquedas de las masas obtenidas frente a la secuencia de la proteína. Las dos bases de datos más empleadas y que permiten identificar la región peptídica son el programa FindPept tool (<http://ca.expasy.org/tools/findpept.html>) y GlycoPep ID (<http://hexose.chem.ku.edu/sugar.php>).

El último paso una vez identificado el péptido es el de asignar la composición del glicopéptido, para ello se pueden emplear bases de datos tales como GlycoPep DB (<http://hexose.chem.ku.es>) o GlycoMod (<http://us.expasy.org/tools/glycomod/>).

Por tanto, se puede concluir que el análisis de glicopéptidos es un desafío que requiere expertos en la preparación de muestras, en la adquisición de espectros de masas y en el análisis de datos asistido por ordenador. Más estudios deben llevarse a cabo para comprender y ampliar nuestro conocimiento en la complejidad de cómo la glicosilación afecta a la función de las proteínas.

Miryam Amigo-Benavent

*Departamento de Caracterización de Alimentos
Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC*



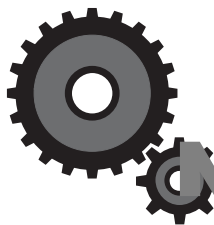
EMPRESAS colaboradoras

PROTECTORAS

- **AGILENT TECHNOLOGIES SPAIN, S.L.**
Ctra. A-6, km 18,200
28230 LAS ROZAS (Madrid)
- **KONIXBERT HI-TECH S.A.**
Avda. Cerdanyola, 73
08190 SANT CUGAT DEL VALLÉS (Barcelona)
- **PERKIN ELMER ESPAÑA, S.L.**
Avda. de los Encuartes, 19
28760 TRES CANTOS (Madrid)
- **SIGMA-ALDRICH QUÍMICA, S.A.**
Ronda de Poniente, 3; 2ª Planta
28760 TRES CANTOS (Madrid)
- **THERMO FISHER SCIENTIFIC**
Valportillo I, 22; 1ª Planta
28108 ALCOBENDAS (Madrid)
- **WATERS CROMATOGRAFÍA, S.A.**
Ronda Can Fatjo, 7-A
Parc Tecnologic del Vallés
08290 CERDANYOLA DEL VALLES (Barcelona)

ASOCIADAS

- **AL AIR LIQUIDE ESPAÑA, S.A.**
Paseo de la Castellana, 35
28046 MADRID
- **BRUKER ESPAÑOLA, S.A.**
Marie Curie, 5, Edificio Alfa - Pta. Baja
Parque Empresarial Rivas Futura
28529 RIVAS-VACIAMADRID (Madrid)
- **GILSON INTERNATIONAL B.V.**
Avda. de Castilla, 1
Polígono Empresarial San Fernando
28830 SAN FERNANDO DE HENARES (Madrid)
- **GOMENSORO, S.A.**
Aguacate, 15
28044 MADRID
- **INGENIERÍA ANALÍTICA, S.L.**
Aveda. Cerdanyola, 73
Apartado 282
08190 SANT CUGAT DEL VALLÉS
(Barcelona)
- **IZASA, S.A.**
Aragoneses, 13
Polígono Industrial Alcobendas
28100 ALCOBENDAS (Madrid)
- **MILLIPORE IBÉRICA, S.A.**
Avda. Llano Castellano, 13
28034 MADRID
- **SCHARLAB, S.L.**
Gato Pérez, 33
Polígono Industrial Mas D'en Cisa
08181 SENTMENAT (Barcelona)
- Servicio y Mantenimiento de Técnicas Analíticas,
S.A.L. (SYMTA, S.A.L.)
San Máximo, 31
28041 MADRID
- S.I.A. Enginyers, S.A.
Monturiol, 16, baixos
08018 BARCELONA
- **SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CARBUROS METÁLICOS**
Plaza de Cronos, 5
28037 MADRID
- **SUGELABOR**
Sicilia, 36
28038 MADRID
- **TEKNOKROMA**
Camí de Can Calders, 14
08190 SANT CUGAT DEL VALLÉS (Barcelona)
- **VARIAN-IBÉRICA, S.L.**
Avda. Pedro Díez, 25, 3º
28019 MADRID
- **VERTEX TECHNICS, S.L.**
Comercio, 12-14 bajos
08902 HOSPITALET DE LLOBREGAT
(Barcelona)
- **VWR INTERNATIONAL - EUROLAB, S.L.**
Ronda Can Fatjo, 11 - Edificio Tecnopark, 3
Parc Tecnològic del Vallés
08290 CERDANYOLA DEL VALLÉS (Barcelona)



NOVEDADES TÉCNICAS

SIGMA-ALDRICH®

NUEVA Y EXCLUSIVA TECNOLOGÍA HybridSPE-PPT™ PARA LA LIMPIEZA DE MUESTRAS EN FLUIDOS BIOLÓGICOS.

HybridSPE-PPT™ combina la simplicidad de la precipitación de proteínas con la alta selectividad de la Extracción en Fase Sólida (EFS) en la eliminación de proteínas y fosfolípidos en fluidos biológicos tales como suero y plasma. La tecnología se basa en el uso de partículas recubiertas de circonio ligado (pendiente de patente), exhibiendo una afinidad selectiva hacia los fosfolípidos mientras no hay afinidad por un amplio rango de compuestos ácidos, básicos y neutros. La retención de los fosfolípidos es debida a la interacción ácido-base de Lewis entre los iones de circonio y los del fosfato de los fosfolípidos.

Completa información y muestras de este novedoso producto contactando con Sigma-Aldrich.

Tel. 91 657 20 65

pedro.gutierrez@sial.com

www.sigma-aldrich.com/hybridspe-ppt

CRECE LA FAMILIA DE COLUMNAS DE Ultra-HPLC y HPLC ASCENTIS EXPRESS. AHORA C16 AMIDA y HILIC

Dos nuevas fases, que amplían el rango de separación a moléculas más polares, completan junto a las fases reversa C18 y C8 la familia de columnas ASCENTIS EXPRESS que presentan los mismos beneficios de esta tecnología:

- Dobra la eficacia respecto a las columnas convencionales de 3 µm.
- Iguala la eficacia de las columnas con partículas < de 2 µm sin necesidad de altas presiones.
- Permite obtener mejores sensibilidades.
- Ahorra tiempo de análisis.
- Diseño robusto capaz de trabajar a altas presiones con una vida similar a la de sus columnas de 5 µm.

Amplia información en www.sigma-aldrich.com/express o contactando con nuestro servicio técnico.

Tel.: 900 10 13 76

Fax: 900 10 20 28

serviciotecnico@sial.com

Thermo

SCIENTIFIC

THERMO FISHER SCIENTIFIC PRESENTA EL EXACTIVE: UN NUEVO SISTEMA LC-MS DE SOBREMESA EQUIPADO CON TECNOLOGÍA ORBITRAP™ PARA SCREENING E IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS.

Thermo Fisher Scientific, el líder mundial al servicio de la ciencia, presenta el Thermo Scientific Exactive, un nuevo sistema LC-MS de sobremesa diseñado para aplicaciones de screening e identificación de compuestos. El Exactive está equipado con la tecnología probada de análisis de masas de la plataforma LTQ Orbitrap™, el reconocido estándar en medidas de masa exacta y de alta resolución, para ofrecer información precisa y de confianza. Su facilidad de uso y bajo coste de operación lo convierten en un instrumento ideal para no expertos en laboratorios de análisis de rutina.



“La tecnología Orbitrap ha representado un gran impulso para el crecimiento de la LC-MS en el mundo de la biología”, señaló Ian Jardine, Vicepresidente de Investigación y Desarrollo Global de Thermo Fisher Scientific. “Nos preguntamos cómo sacarle el máximo partido a la tecnología y hacerla accesible a usuarios de rutina en toxicología, medio ambiente y flujos de trabajo en desarrollo de fármacos. El resultado es un producto que consideramos un verdadero avance y que puede dar solución a un gran número de aplicaciones nuevas y difíciles”

El Thermo Scientific Exactive LC-MS simplifica muchas de las etapas técnicas que normalmente requieren puesta a punto y funcionamiento especializados. Un interfaz de software intuitivo hace que el sistema sea fácil de usar en modo experto y guiado, al tiempo que se garantiza la identificación precisa de masas de compuestos seleccionados en un rango amplio de concentraciones.

Al tiempo que fácil de operar, el Exactive establece nuevos estándares en prestaciones en LC-MS, a resoluciones de hasta 100.000. Combinado con su gran utilidad de masa exacta en modo positivo y negativo, el Exactive se convierte en un sistema ideal para screening y aplicaciones en las que se requiera analizar muchas muestras. “La masa exacta desempeña un papel fundamental en la reducción de tiempos de análisis y el aumento de la confianza incluso en las medidas de rutina”, señala el doctor Jardine. “Compuestos que coeluyen en matrices complejas pueden ser escaneados y confirmados en un solo experimento, simplemente reanalizando los datos a una resolución más alta. Para escaneo de compuestos isobáricos, como pesticidas que se diferencian por sólo unas pocas mili-unidades de masa, la utilidad de masa exacta es de gran valor”.

Para obtener más información sobre el Exactive, contacte con nosotros a través de los teléfonos 914 845 965 ó 932 230 918, el email analyze.es@thermofisher.com o visite www.thermo.com/exactive

Thermo Scientific es parte de Thermo Fisher Scientific, el líder mundial al servicio de la ciencia.

Acerca de Thermo Fisher Scientific

Thermo Fisher Scientific Inc. (NYSE: TMO) es el líder mundial al servicio de la ciencia y hacemos posible que nuestros clientes construyan un mundo más saludable, limpio y seguro. El volumen de ventas anual supera los 10.000 millones de dólares y el grupo cuenta con 30.000 empleados y más de 350.000 clientes entre compañías farmacéuticas y biomédicas, laboratorios de hospitales y centros de diagnóstico clínico, universidades, instituciones de investigación y organismos públicos, además de entidades de control de procesos industriales y medioambientales. A través de dos marcas de primera línea, Thermo Scientific y Fisher Scientific, contribuimos a la resolución de retos analíticos, desde pruebas rutinarias a complejas investigaciones y hallazgos. Thermo Scientific ofrece a sus clientes toda una variedad de instrumentos analíticos de gama alta, además de equipos de laboratorio, software, servicios, consumibles y reactivos para soluciones de flujo de trabajo integrado en laboratorios. Fisher Scientific cuenta con una completa cartera de equipos de laboratorio, pro-

ductos químicos, suministros y servicios empleados en sanidad, investigación científica, seguridad y educación. Juntos ofrecemos las opciones de adquisición más convenientes a nuestros clientes y mejoramos de forma continua nuestra tecnología para acelerar el ritmo de los descubrimientos científicos, incrementar el valor para los clientes y alimentar el crecimiento para accionistas y empleados. Visite www.thermofisher.com.



TLC VISUALIZER: NUEVO Y POTENTE SISTEMA DE EVALUACIÓN, VISUALIZACIÓN Y ARCHIVO PARA CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

Camag introduce el nuevo TLC Visualizer para proporcionar imágenes de la mayor calidad jamás alcanzada en cromatografía en capa fina. El mayor esfuerzo en el desarrollo del TLC Visualizer se ha centrado en la mejora de la unidad de iluminación, así como en el diseño ergonómico. Junto con el software winCATS y sus características sobresalientes, el TLC Visualizer es el mejor sistema para evaluación, visualización y archivo.



Características más importantes del TLC Visualizer:

- El sistema de iluminación de nuevo diseño proporciona luz visible blanca, UV 254 y UV366, con una homogeneidad mejorada.
- Potente cámara CCD de 12 bit, con 4095 niveles de intensidad lineales, permite transferir imágenes en menos de 1 segundo vía Fire Wire. Los parámetros de captura fijos aseguran una alta reproducibilidad.

- Manejo sencillo y muy intuitivo mediante el software “winCATS – Planar Chromatography Manager”, con optimización automática para todos los modos de iluminación y herramienta de zoom, para poder ver hasta las fracciones más pequeñas en una placa.
- Opción de mejora profesional de imagen, que mejora aún más la homogeneidad de la iluminación aplicando una corrección individual para cada sistema.
- Visor de comparación de imágenes opcional, que permite comparar, una al lado de la otra, calles procedentes de diferentes placas TLC/HPTLC.
- Evaluación cuantitativa a partir de las imágenes, con el software VideoScan.
- TLC Visualizer y software winCATS cumplen con GMP/GLP. Es posible realizar cualificaciones (IQ/OQ) y cumplimiento de 21CFR11.

Todo esto hace del TLC Visualizer el sistema más avanzado de imagen digital para TLC/HPTLC disponible.

Para más información, contactar con:
IZASA, S.A.
Tel. 902 20 30 80
dac2@izasa.es

SHIMADZU MDGC-2010: NUEVO SISTEMA DE CROMATOGRAFÍA DE GASES MULTIDIMENSIONAL DE SHIMADZU PARA TRABAJO EN RUTINA.

Los análisis de trazas de compuestos con matrices complejas, como en petroquímica, aromas, y muestras ambientales, no son fáciles debido a la dificultad en separar por completo los analitos de otros compuestos de la matriz. En el pasado, el enfoque para resolver esta cuestión era investigar la eficacia de pretratamiento de la muestra, la separación selectiva, columnas, detectores, etc. Sin embargo, con la reciente aparición del análisis multidimensional (MDGC) en el que con los sistemas de alta resolución se logra con relativa facilidad separar los analitos, incluso con muestras que contienen trazas de analitos como los antes mencionados. Un MDGC es un sistema de GC que incorpora dos tipos de columnas, a fin de que los componentes que no pueden ser separados por la primera columna se introduzcan en la segunda columna para conseguir la separación.

Configuración de un MDGC

Los sistemas de MDGC pueden consistir en combinaciones de dos unidades de GC, así como un GC y GC/MS. El uso de dos hornos permite disponer de dos columnas a

diferentes temperaturas, lo que permite optimizar la separación. Compuestos que coeluyen en la primera columna pueden ser enviados, ya sea al primer detector o a la segunda columna (en el segundo detector).

El sistema logra la conmutación de una columna a la otra mediante la utilización de diferencia de presión proporcionada por la APC. El mecanismo es configurado de tal forma que los compuestos que eluyen de la primera columna son o bien introducidos en el primer detector o en la segunda columna. El mecanismo de conmutación influye en gran medida en la precisión analítica del sistema MDGC. En este sentido, se realizaron varios análisis de un patrón mezcla de benceno, tolueno, etilbenceno, p-xileno, m-xileno, o-xileno, estireno y cumeno, utilizando un número diferente de cortes en cada uno de los análisis.

Los cromatogramas obtenidos a partir de la primera columna se muestran en la Fig. 1, así como los tiempos de retención se enumeran en la tabla 1. Incluso en el análisis utilizando varios cortes, la repetibilidad en tiempos de retención que se obtiene es excelente. Estos resultados demuestran que los cortes en el cromatograma presentan una excelente repetibilidad y se llevan a cabo con gran precisión con el sistema de Cromatografía Multidimensional de Shimadzu.

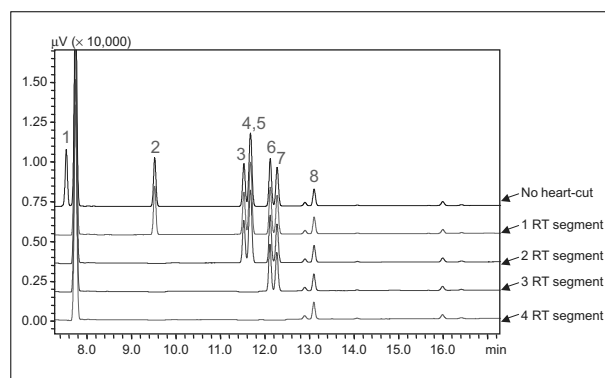


Fig. 1. Cromatogramas de una solución estándar (1ª columna).

	Peak 2	Peak 3	Peak 6	Peak 7	Peak 8
	Toluene	Ethylbenzene	Styrene	o-xylene	Cumene
No heart-cut	9.524	11.527	12.119	12.273	13.106
1 RT segment	9.524	11.527	12.119	12.274	13.104
2 RT segments	–	11.525	12.116	12.271	13.103
3 RT segments	–	–	12.111	12.267	13.098
4 RT segments	–	–	–	–	13.097
Avg.	9.524	11.526	12.116	12.271	13.102
SD	0.000	0.001	0.004	0.003	0.004
RSD (%)	0.000	0.010	0.031	0.025	0.030

Tabla 1. Repetibilidad del tiempo de retención (1ª columna).



PLATIN BLUE. MÁS QUE SÓLO UN UHPLC.

El nuevo cromatógrafo ultrarrápido de alta resolución (UHPLC) PLATINblue, del Dr. Herber Knauer, es un sistema capaz de trabajar tanto en régimen ultrarrápido (UHPLC) como en régimen estándar (HPLC), por lo que permite desarrollar nuevos métodos más rápidos, a la vez que se continúan con los ya establecidos, que normalmente usan columnas convencionales de HPLC, todo en un solo sistema. Por lo tanto, este equipo facilita enormemente el paso de un determinado método a escala ultrarrápida mediante el empleo de una misma familia de columnas.

El desarrollo de PLATINblue ha sido y es una combinación de muchos años de experiencia por parte de los ingenieros de la compañía, así como de un laborioso proceso de incorporación de innovaciones, tanto materiales como tecnológicas. La resultante es un sistema UHPLC de extraordinario nivel de calidad, solamente comparable con su propio y espectacular diseño modular.

En todos los nuevos módulos, individualmente, desde el inyector de muestra al detector, se han tenido en cuenta los especiales requerimientos asociados a trabajos a mayor presión y se ha llevado a cabo una profunda optimización para producir una significativa disminución en el tiempo total de análisis.

Capaz de operar a presiones de 1000 bares (14.500 psi) y de adquirir datos a 200 Hz para aplicaciones que implican alta resolución, el PLATINblue resulta fácil de usar gracias al intuitivo y potente software de control y adquisición de datos que lo acompaña.

Bajo óptimas condiciones puede reducir el tiempo requerido para un análisis en un 50-90% comparado con un HPLC convencional, realizando análisis 10 veces más rápidos, mediante columnas con tamaños de partícula inferior a 2 micras.

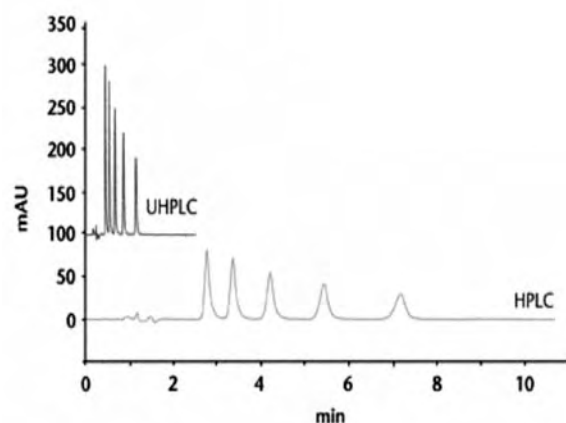
Además, se reduce el costo por muestra a analizar a través de una disminución en el volumen de eluyente a utilizar durante el análisis y de un aumento del número de muestras analizadas por día.



Las ventajas en cuanto a productividad son demolidoras, al tiempo que se obtiene una mayor sensibilidad, a través de picos más escarpados y estrechos que en HPLC convencional.

Permite investigar un mayor número de muestras complejas mediante separaciones de mayor resolución, usando columnas con empaquetamientos de partícula inferiores a dos micras.

Con un ligero vistazo se aprecia robusto y duradero debido al uso exclusivo de materiales y componentes de alta calidad en su fabricación.





NOVEDADES TÉCNICAS

Además, el comprador puede beneficiarse de un paquete de servicios que ofrece el fabricante alemán, entre los que se incluyen el compromiso de respuestas en 24 h máximo, extensión de la garantía a tres años, instalación y sesiones de entrenamiento del usuario sin coste adicional, asistencia telefónica, etc.

Como recompensa a todo este trabajo, Knauer ha sido recientemente galardonada por Compamedia GMBH, al situarse dentro del top 100 de medianas empresas más innovadoras de Alemania.

La nueva joya, tal y como se manifiesta en la campaña de lanzamiento del producto, estará disponible en el mercado español a partir de principios de año 2009. Para más información, consultar al representante español:

Sugelabor S.A
c/Sicilia, 36. 28038 MADRID
www.sugelabor.com
info@sugelabor.com
Tel.: 91 501 39 36
Fax: 91 501 39 38



hardware

controles

extensiones

ESPECTROCROMA ofrece

un software avanzado
para **CROMATOGRAFÍA**

- * Fácil de instalar y usar
- * GLP y CFR 21 parte 11
- * Precio competitivo
- * Amplio Soporte a usuario
- * Conectable a 4 sistemas cromatográficos con hasta 4 detectores por sistema

www.dataapex.com clarity@dataapex.com

Información a: ESPECTROCROMA. S.L./C/ Porvenir, 13 - 3º C 28028 - Madrid, Telf./Fax 91 361 00 08, Tº 676 39 66 24, espectrocroma@telefonica.net

CONDICIONES PARA LA CONCESIÓN DE AYUDAS PARA LA ASISTENCIA A CONGRESOS/REUNIONES DE CARÁCTER NACIONAL O INTERNACIONAL

1. Requisitos generales para optar a una beca concedida por la SECyTA.

- 1.1. Ser miembro de la SECyTA.
- 1.2. Encontrarse realizando la Tesis Doctoral o Trabajo de Investigación en un Centro de Investigación.
- 1.3. El solicitante no debe disponer de un contrato laboral estable.
- 1.4. Presentar una comunicación.

2. Para asistencia a Reuniones de la SECyTA.

- 2.1. Se establece la posibilidad de conceder un máximo de 2 Becas por Investigador Senior (socio de la SECyTA) inscrito a la Reunión y que avala los requisitos del punto 1.
- 2.2. Se concederá un máximo de una beca por comunicación presentada.

3.- Para asistencia a Reuniones Internacionales.

- 3.1. Ser miembro de la SECyTA con una antigüedad superior a 1 año.
- 3.2. Encontrarse realizando la Tesis Doctoral o Trabajo de Investigación (como mínimo, en su segundo año) en un Centro de Investigación.
- 3.3. No haber disfrutado de otra beca semejante concedida por la SECyTA durante la realización del Trabajo de Investigación.
- 3.4. Se establece la necesidad de que se trate de Congresos relacionados con el fin de la SECyTA o bien que la SECyTA figure como colaboradora o coorganizadora del Congreso.
- 3.5. El Solicitante al que se le conceda la ayuda contrae la obligación de elaborar un informe (en español y en inglés) sobre el Congreso para su publicación en el Boletín y en la Página Web de la Sociedad. Si se han concedido distintas becas, deberán preparar un informe conjunto.

En cualquiera de los casos, las solicitudes deben enviarse a la SECRETARIA de la SECyTA, a la siguiente dirección postal:

*Dr. F. Javier Santos
Departamento de Química Analítica
Facultad de Química, Universidad de Barcelona
Avda. Diagonal 647, 3er piso
08028-Barcelona*

o a la siguiente dirección de correo electrónico: *javier.santos@ub.edu*

IMPRESO DE SOLICITUD DE AYUDAS PARA ASISTENCIA A LAS REUNIONES CIENTÍFICAS DE LA SECyTA

DATOS PERSONALES DEL SOLICITANTE:

Apellidos: _____

Nombre : _____

DNI o pasaporte: _____ Correo electrónico: _____

Dirección postal del Centro de Trabajo:

Centro de Trabajo: _____

Calle o plaza: _____ n°: _____

Localidad: _____ CP: _____ Provincia: _____

Teléfono: _____ Fax: : _____

DATOS DE LA COMUNICACIÓN QUE SE PRESENTA:

Título y autores: _____

OTRAS SUBVENCIONES:

¿Se han solicitado otras ayudas para la asistencia al Congreso?

 SI

Cite cuáles: _____

 NO

DOCUMENTACIÓN QUE SE ADJUNTA:

 Carta del Director de Tesis, Proyecto o del Grupo de Trabajo, certificando los puntos 1.1. a 1.3 del Anexo.

_____, ____ de _____ de 200__

Fdo.: _____

IMPRESO DE SOLICITUD DE AYUDAS PARA ASISTENCIA A LAS REUNIONES CIENTÍFICAS INTERNACIONALES

DATOS PERSONALES DEL SOLICITANTE:

Apellidos: _____ Nombre : _____

DNI o pasaporte: _____ Correo electrónico: _____

Dirección postal del Centro de Trabajo:

Centro de Trabajo: _____

Calle o plaza: _____ n°: _____

Localidad: _____ CP: _____ Provincia: _____

Teléfono: _____ Fax: : _____

DATOS DE LA COMUNICACIÓN QUE SE PRESENTA:

Título y autores: _____

SOLICITA:

AYUDA para asistencia al CONGRESO/REUNIÓN _____

_____ organizado por _____

_____, que se celebra en _____

_____ durante los días _____ de _____ del 200_,

según las condiciones que figuran en el Anexo.

OTRAS SUBVENCIONES:

¿Se han solicitado otras ayudas para la asistencia al Congreso?

 SI Cite cuáles: _____ NO**DOCUMENTACIÓN QUE SE ADJUNTA:** Carta del Director de Tesis, Proyecto o del Grupo de Trabajo, certificando los puntos 1.1. a 1.3 del Anexo. Justificante de aceptación de la Comunicación que se presenta al Congreso. *Currículum Vitae* del solicitante. Otros que considera de interés (especificar): _____

_____, _____ de _____ de 200_

Fdo.: _____

Si desea hacerse socio de la SECyTA rellene y envíe el siguiente boletín de inscripción, acompañado de la correspondiente autorización bancaria a:

Dr. F. Xavier Santos
Departamento de Química Analítica
Facultad de Química, Universidad de Barcelona
Avda. Diagonal 647, 3er piso. 08028-Barcelona
E-mail: javier.santos@ub.edu

Cuota año 2009: 30 €

- Señale la casilla correspondiente a la dirección en la que desea recibir la correspondencia.
- Puede efectuar el pago de la cuota del primer año mediante cheque bancario (adjuntándolo a esta solicitud) o mediante ingreso/transferencia a la Cuenta Corriente de “la Caixa” 2100/3739/11/2200059715 (Sociedad Española de Cromatografía y Afines). Debe figurar en el ingreso o transferencia: “ALTA SECYTA + nombre y primer apellido del Socio”
- ¿Autoriza a incluir su correo electrónico en la página Web de la SECyTA? SI NO
(Tache lo que NO proceda)

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CROMATOGRAFÍA Y TÉCNICAS AFINES

HOJA DE INSCRIPCION

Apellidos Nombre

DNI

Domicilio particular:

Calle Núm.

Municipio Provincia.....

Código postal

Teléfono Correo electrónico

Industria u organización

.....
Calle Núm.

Municipio Provincia.....

Código postal

Teléfono FAX Correo electrónico

DATOS BANCARIOS

Banco/Caja de Ahorros

Sucursal

Dirección Ciudad.....

D.

Con domicilio en

Y con cta. cte. / libreta de ahorro núm. / _ _ _ / _ _ _ / _ _ / _ _ _ _ _ _ _ _ /
Entidad Oficina D.C. Número de cuenta

en esta Sucursal, ruego a usted se digna dar las órdenes oportunas para que con cargo a dicha cuenta sean abonados los recibos de mi cuota anual de socio que les serán presentados al cobro por la Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines.

Atentamente le saluda,

En..... a..... de..... de 2009

Firma:





La gama más completa de gases, materiales y servicios específicos para análisis e investigación.

Pensando en las necesidades específicas de los laboratorios, Air Liquide ofrece con la Gama Alphagaz, una oferta totalmente adaptada a los requerimientos de pureza de la cadena analítica.

Los gases puros y mezclas, los materiales e instalaciones, así como los servicios de la Gama Alphagaz, son la mejor solución para instrumentación analítica e investigación, a partir de la gestión, el mantenimiento y el control de todos los sistemas por parte de Air Liquide.

Air Liquide contribuye a la fabricación de múltiples productos de nuestro día a día y a la preservación de la vida, dentro de una gestión de desarrollo sostenible, gracias a soluciones innovadoras basadas en las últimas tecnologías.



Gases de pureza garantizada en su laboratorio



[O B J E T I V O S]

FACILITAR A LOS CIENTÍFICOS
DEL LABORATORIO EL
ACCESO A MS/MS.

Y ELEVAR LA PRODUCTIVIDAD
DEL LABORATORIO A
NIVELES SIN PRECEDENTE.



Con mejores prestaciones y velocidades mayores, el detector ACQUITY® TQD de Waters® proporciona a los cromatografistas todos los beneficios de la MS con cuadrupolos en tándem en un sistema fácil de manejar. Equipado con la tecnología patentada T-Wave™, el ACQUITY TQD obtiene el máximo beneficio de los picos estrechos y el aumento de sensibilidad que proporciona la UPLC®. Esta combinación se traduce en excelentes resultados cuantitativos,

elevado rendimiento y la posibilidad de elevar los análisis del laboratorio a un nivel superior sin comprometer la calidad de los datos. Si desea saber más, visite

www.waters.com/tq1.

©2007 Waters Corporation. Waters, The Science of What's Possible, ACQUITY, T-Wave y UPLC son marcas comerciales de Waters Corporation.

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™