

CROMATOGRAFÍA Y TÉCNICAS AFINES

SECYTA

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
CROMATOGRAFÍA
Y TÉCNICAS AFINES

44

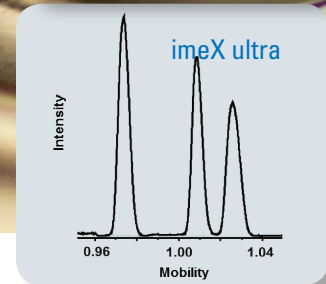
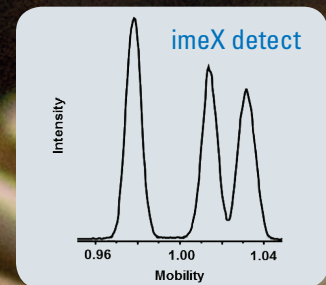
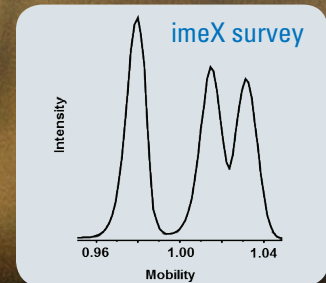
BOLETÍN DE LA SECYTA
VOLUMEN 44 NÚM. 1 (2023)
WWW.SECYTA.ORG



Bruker timsTOF™

Flexibilidad para realizar sus ideas

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



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

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

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

Para más información, visite www.timstof.com

Innovation with Integrity

TIMS-QTOF MS

Solo para investigación. No para uso diagnóstico.

CROMATOGRAFÍA Y TÉCNICAS AFINES

Madrid, 2023, Vol. 44, núm. 1

ISSN 1132-1369

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

ÍNDICE

2 EDITORIAL

ARTÍCULO

- 3 Reducción del efecto matriz en el análisis de micotoxinas en alimentos de alto contenido graso mediante HPLC-MS empleando sorbentes para la extracción en fase sólida. *D. Castilla-Fernández, P. Rocío-Bautista, D. Moreno-González, J. F. García-Reyes*

NOTICIAS DE LA SECyTA

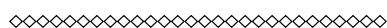
- 16 XXII Scientific Meeting of SECyTA (51.ª Reunión Científica del GCTA)
19 Nuevos socios
20 Premio a socios
21 2.ª Edición del Premio SECyTA a la mejor Tesis Doctoral en Cromatografía y Técnicas Afines
22 Participación de SECyTA en el evento *Innovaforum* en el marco de *Farmaforum*

INFORMACIONES

- 23 *In memoriam* Profesor José Luis Bernal Yagüe
23 Congresos celebrados
27 Calendario de actividades
28 Nuevas Tesis Doctorales

DE NUESTRAS EMPRESAS COLABORADORAS

- 35 Notas técnicas
67 Novedades técnicas



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

Depósito legal: M-1902-1975

Diseño y preimpresión: Gráficas Blanco, S. L.

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

Diseño de la portada: Pau de Riba

Los autores son responsables del contenido de sus artículos.

EDITORIAL

Queridos socios de la SECyTA,

Este año celebraremos la **XXII Reunión Científica de la Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines (SECyTA 2023)** en S'Arenal, Mallorca, del 16 al 18 de Octubre, organizada por nuestro Vicepresidente, el Dr. Joan Grimalt y por el Profesor Manuel Miró, catedrático del Departamento de Química Analítica de la Universidad de las Islas Baleares (UIB), agradeciéndoles que se hayan encargado de esta edición en un lugar tan maravilloso. Contamos como conferenciantes invitados con destacados especialistas nacionales y extranjeros que expondrán las novedades en el desarrollo y aplicación de técnicas separativas y de tratamiento de muestra en diferentes campos. Además en esta edición, el día anterior al inicio del congreso, se ha organizado un **curso avanzado de espectrometría de masas**, que impartirán nuestros compañeros, los profesores Encarna Moyano (Universidad de Barcelona) y Juan Vicente Sancho (Universidad Jaume I), reconocidos especialistas en la materia. Es una excelente oportunidad para iniciarse y profundizar en la Espectrometría de Movilidad Iónica y su incorporación a plataformas de espectrometría de masas de alta resolución y conocer su potencial y aplicaciones. Como novedad, también están previstas dos sesiones temáticas sobre **desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI)** y contaremos con especialistas de casas comerciales (Air Liquide, Carburros Metálicos, Agilent, LECO) que nos mostrarán **alternativas al uso de Helio en sistemas de Cromatografía de Gases**, dada la actual situación de desabastecimiento, abriendo una sesión de debate en mesa redonda. Pienso que estas novedades hacen aun más atractiva nuestra reunión y fomentarán la participación de nuestros socios.

Esperamos ir consolidando el **Premio SECyTA a la mejor Tesis Doctoral en Cromatografía y Técnicas Afines**, en este caso en su segunda edición, que pretende incentivar a los jóvenes investigadores socios que defendieron sus Tesis Doctorales en 2022, llevando a cabo la entrega del Premio en la misma reunión. Igualmente seguimos contando con los **Premios José Antonio García Domínguez**, patrocinados por Bruker, y que tanto estimulan a los jóvenes investigadores. Agradecemos a Bruker su apoyo a SECyTA y a estos jóvenes que son el futuro. Queremos agradecer desde aquí igualmente a todos nuestros patrocinadores que con su apoyo siempre han contribuido al éxito de esta reunión y que también apoyan a nuestro Boletín.

También quiero recordar que nuestra sociedad, junto con otras sociedades científicas con las que existe una excelente relación de complementariedad (SEEM, SEQA, SEProt y SESMet), se ha sumado a la iniciativa de participar en la reunión anual que tiene lugar en el marco de **FARMAFORUM**, Foro de la Industria Farmacéutica, Biofarmacéutica y Tecnologías de Laboratorio, que celebra su novena edición en IFEMA (Madrid) los días 20-21 de septiembre de 2023. El evento de las sociedades se llamará **INNOVAFORUM** y su objetivo es favorecer el contacto entre nuestros socios y las empresas del sector farmacéutico, nutracéutico, cosmético y biotecnológico para discutir posibles colaboraciones. Hemos iniciado un proceso de solicitud de vuestro interés en la participación que, además es gratuita, y esperamos que sea una actividad interesante para vosotros en la que se puedan establecer colaboraciones fructíferas.

Os animo a participar en estos eventos y espero encontraros pronto.

Un abrazo,

ANA M. GARCÍA CAMPAÑA
Presidenta de SECyTA

ARTÍCULO

Reducción del efecto matriz en el análisis de micotoxinas en alimentos de alto contenido graso mediante HPLC-MS empleando sorbentes para la extracción en fase sólida

Delia Castilla-Fernández*, Priscilla Rocío-Bautista, David Moreno-González, Juan F. García-Reyes
 Grupo de Investigación de Química Analítica de la Universidad de Jaén (FQM-323), Departamento de Química Física y Analítica, Universidad de Jaén, Edif. B3, 23071, Jaén
 *Autor de correspondencia: dcastill@ujaen.es

RESUMEN

El efecto matriz es un parámetro que debe ser estudiado cuando se desarrollan métodos analíticos basados en HPLC-MS, sobre todo empleando ESI como fuente de ionización. En los alimentos grasos una etapa de extracción genérica no logra minimizar el número de sustancias co-extraídas, por lo que se hace necesaria una etapa posterior de limpieza que puede llevarse a cabo mediante extracción en fase sólida (SPE) o SPE dispersiva (dSPE). Las micotoxinas pueden encontrarse en una gran cantidad de alimentos grasos. Por ello, en esta revisión se centra en protocolos de limpieza específicos para la reducción del efecto matriz en el análisis de micotoxinas mediante HPLC-MS: columnas de inmunoafinidad, polímeros de impronta molecular, sorbentes poliméricos, sorbentes empleados en la metodología QuEChERS (C18, PSA, GCB, Florisil, Alúmina), sorbentes basados en ZrO₂ (Z-Sep) o especialmente diseñados para el análisis de matrices grasas (EMR-Lipid).

1. INTRODUCCIÓN

La seguridad alimentaria es la encargada de velar por la salud humana asegurando que los alimentos sean inocuos, nutritivos, asequibles y sostenibles [1]. Sin embargo, la producción alimentaria es compleja, con lo que existe la posibilidad de que involuntariamente lleguen a los alimentos sustancias químicas con propiedades toxicológicas. La Unión Europea (UE) ha establecido la evaluación del riesgo químico con el objetivo de vigilar y limitar un gran número de compuestos para garantizar la seguridad alimentaria. Dentro de este contexto, los contaminantes son sustancias que no han sido intencionadamente añadidas a los alimentos y pueden tener una causa antropogénica o natural. Entre los contaminantes más peligrosos para la salud se encuentran las micotoxinas, las cuales se conoce que pueden producir una toxicidad crónica, afectando a órganos como el hígado y provocando

trastornos gastrointestinales, renales, inmunodeficiencias o cáncer [2].

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos de forma natural por diferentes tipos de hongos, entre los que se podrían destacar los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* o *Alternaria* [3]. Estos hongos crecen bajo condiciones de humedad y altas temperaturas. Pueden entrar en la cadena alimentaria debido a la infección de los cultivos, por unas incorrectas condiciones de almacenamiento, transporte o procesamiento, o, incluso, por el consumo de productos de origen animal en la que el propio animal hubiese consumido algún alimento contaminado [3]. Las micotoxinas son compuestos extremadamente estables que resisten al calor y al procesamiento de los alimentos, incluso cuando se aplican procesos altamente extremos, como en el refinamiento de aceites, donde la concentración de micotoxinas solo se reduce ligeramente [4, 5].

Se han identificado varios cientos de micotoxinas diferentes, pero las más comúnmente detectadas y que presentan una mayor preocupación para la salud son aflatoxinas, ocratoxinas, patulina, fumonisinas, zearalenona y desoxinivalenol [3]. Los alimentos que en los que más se suele dar la presencia de micotoxinas son los frutos secos, cereales, vino, café y especias. Por ello y para proteger la salud humana, la UE ha establecido los niveles máximos permitidos de estos contaminantes en alimentos en el Reglamento (CE) N° 1881/2006 [6]. Además, los alcaloides de cornezuelo, un tipo de micotoxinas producidas por hongos del género *Claviceps* y que aparecen principalmente en alimentos elaborados a base de centeno, se han incluido en la última versión del Reglamento (CE) N° 1881/2006 [6]. Los niveles máximos de micotoxinas vienen detallados en la **Tabla 1**. Cabe destacar que su concentración máxima depende en gran medida de qué micotoxina es y del alimento en el que se encuentra. Sin embargo, como característica común estos contaminantes están reguladas a niveles muy

Tabla 1. Niveles máximos permitidos de las micotoxinas legisladas en la última versión del Reglamento (CE) N° 1881/2006 [6].

Aflatoxinas	
Frutos secos, cereales y frutas desecadas	AFB1 < 2 µg kg ⁻¹ Σ AFB1, AFB2, AFG1 y AFG2 < 4 µg kg ⁻¹
Higos secos	AFB1 < 6 µg kg ⁻¹ Σ AFB1, AFB2, AFG1 y AFG2 < 10 µg kg ⁻¹
Espicias, maíz y arroz	AFB1 < 5 µg kg ⁻¹ Σ AFB1, AFB2, AFG1 y AFG2 < 10 µg kg ⁻¹
Leche	AFM1 < 0,050 µg kg ⁻¹
Alimentos para lactantes y niños de corta edad a base de cereales o de productos lácteos o alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales	AFB1 < 0,10 µg kg ⁻¹ AFM1 < 0,025 µg kg ⁻¹
Ocratoxina A	
Cereales y productos de panadería	< 2 µg kg ⁻¹ , no contengan semillas, frutos secos o fruta desecada < 3 µg kg ⁻¹ destinados a venta directa y/o contengan semillas, frutos secos o fruta desecada < 4 µg kg ⁻¹ contengan ≥20 % uvas pasas o higos secos < 5 µg kg ⁻¹ no elaborados < 8 µg kg ⁻¹ trigo sin gluten no destinado a venta directa
Frutas	< 8 µg kg ⁻¹ uvas pasas desecadas < 2 µg kg ⁻¹ otras frutas desecadas < 15 µg kg ⁻¹ jarabe de dátil
Bebidas	< 2 µg kg ⁻¹ vino y zumo de uva < 3 µg kg ⁻¹ no alcohólicas a base de malta
Café	< 3 µg kg ⁻¹ café tostado en grano o molido < 5 µg kg ⁻¹ café soluble
Cacao en polvo	< 3 µg kg ⁻¹
Espicias, regaliz e infusiones	entre 10-20 µg kg ⁻¹ especias e infusiones entre 10-80 µg kg ⁻¹ productos a base de regaliz
Semillas y pistachos	< 5 µg kg ⁻¹ < 10 µg kg ⁻¹ pistacho no destinado a venta directa
Alimentos para lactantes y niños de corta edad a base de cereales o de productos lácteos o alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales	< 0,50 µg kg ⁻¹
Patulina	
Productos sólidos elaborados con manzanas	< 25 µg kg ⁻¹
Zumos de frutas, sidra y bebidas espirituosas	< 50 µg kg ⁻¹
Alimentos infantiles que no contengan cereales	< 10 µg kg ⁻¹
Deoxivalenol	
Pan y productos de panadería	< 500 µg kg ⁻¹
Pasta seca, cereales y harina de cereales	< 1250 µg kg ⁻¹
Cereales, avena y maíz no elaborados	< 1750 µg kg ⁻¹
Alimentos para lactantes y niños de corta edad a base de cereales	< 200 µg kg ⁻¹

Zearalenona	
<i>Pan, productos de panadería y harinas a base de maíz y cereales</i>	Entre 50 – 75 $\mu\text{g kg}^{-1}$
<i>Maíz</i>	< 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$
<i>Aceite de maíz refinado</i>	< 400 $\mu\text{g kg}^{-1}$
<i>Cereales y maíz no elaborado</i>	< 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ cereales < 350 $\mu\text{g kg}^{-1}$ maíz
<i>Alimentos para lactantes y niños de corta edad a base de cereales o a base de maíz</i>	< 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$
Fumonisin (suma de B1 y B2)	
<i>Maíz</i>	Entre 800-1000 $\mu\text{g kg}^{-1}$ < 4000 $\mu\text{g kg}^{-1}$ no elaborado
<i>Alimentos para lactantes y niños de corta edad a base de maíz</i>	< 200 $\mu\text{g kg}^{-1}$
Citrinina	
<i>Complementos alimenticios a base de arroz fermentado con levadura roja</i>	< 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$
Esclerocios de cornezuelo	
<i>Cereales no elaborados</i>	< 200 $\mu\text{g kg}^{-1}$
Alcaloides de cornezuelo	
<i>Cebada, trigo, espelta y avena</i>	< 150 $\mu\text{g kg}^{-1}$
<i>Centeno</i>	< 250 $\mu\text{g kg}^{-1}$ consumo directo
<i>Gluten de trigo</i>	< 400 $\mu\text{g kg}^{-1}$
<i>Alimentos para lactantes y niños de corta edad a base de cereales</i>	< 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$

bajos, del orden de los $\mu\text{g kg}^{-1}$ debido a sus peligrosos efectos a largo plazo.

Teniendo en cuenta los bajos límites máximos aceptables de micotoxinas en los alimentos, la UE ha establecido varias guías para enfocar su proceso analítico, estableciendo los requerimientos para el cálculo de la exactitud del método, en el cual se debe tener en cuenta precisión y veracidad [7]. Debido a que es difícil disponer de materiales de referencia certificados, la veracidad puede evaluarse en términos de recuperación. Para el cálculo de la recuperación y la repetibilidad se deben fortificar las muestras blancas a 3 niveles de concentración: 1, 1,5 y 2 veces el límite de funcionamiento mínimo exigido [7]. También se ha establecido la guía para el cálculo de los límites de detección (LODs) y límites de cuantificación (LOQs) de los contaminantes más peligrosos, como las micotoxinas [8].

Por otra parte, la guía SANTE/12089/2016 [9], hace referencia a los criterios de identificación de mi-

cotoxinas y establece que las técnicas de análisis recomendadas son cromatografía de líquidos de (ultra) elevada eficacia ((U)HPLC) y cromatografía de gases (GC) acopladas a detectores de espectrometría de masas (MS). Los detectores de espectrometría de masas son los que se emplean actualmente en la mayoría de aplicaciones debido que son muy específicos [10], mientras que los detectores de ultravioleta (UV) están desaconsejados por no tener la selectividad adecuada, aunque los detectores de fluorescencia sí pueden ser utilizados [9]. Profundizando en los métodos cromatográficos, la GC fue empleada hace algunas décadas, principalmente para la detección de micotoxinas de la familia de los tricotecnos (por ej., deoxivalenol, nivalenol), sin embargo, en la actualidad los métodos separativos que emplean GC son escasos [11, 12]. En la mayoría de estudios se emplea (U)HPLC en la etapa de separación de micotoxinas debido a que son compuestos relativamente polares, y cabe destacar que para esta separación normalmente se usan columnas de fase reversa [10, 13].

Sin embargo, el principal problema que se da en el análisis por HPLC-MS es el efecto matriz el cual se define como el cambio de la señal instrumental del analito debido a la presencia compuestos co-eluyentes que influyen en su proceso de ionización. Los mecanismos principales por los que se produce esta alteración de la señal analítica están bien descritos y se basan en la competición por las cargas disponibles en la superficie de las gotas, formación de pares iónicos con los iones de analito o presencia de sustancias no volátiles [14]. Como conclusión, cualquier especie o proceso que pueda dar lugar a la alteración de la señal debe ser solventado antes o durante la ionización. El efecto matriz es un aspecto muy importante a tener en cuenta ya que afecta considerablemente al resto de parámetros analíticos como la sensibilidad, la exactitud y la precisión [15]. Estos compuestos co-eluyentes pueden provenir de sustancias con las que el analito haya estado en contacto antes de su entrada en la fuente de ionización, como por ejemplo reactivos y materiales utilizados en el tratamiento de muestra y/o en el análisis cromatográfico. Sin embargo, las sustancias co-eluyentes que frecuentemente más provocan el efecto matriz son los compuestos co-extraídos de la muestra. Y el análisis de micotoxinas no está exento de ellos, teniendo en cuenta que las matrices alimentarias a analizar son complejas. El efecto matriz es más severo en alimentos con un alto contenido graso. Dichos alimentos grasos se definen como aquellos que contienen más de un 2 % de lípidos en su composición [16]. En la **Tabla 2** se pueden observar los alimentos que están legislados por la UE y su porcentaje de grasa, cuando se trata de un grupo de alimentos (por ej. cereales) entre paréntesis se nombran el que menor y mayor contenido de grasa contienen. Conviene señalar que también se han cuantificado micotoxinas en algunos alimentos grasos de origen animal, como huevos y diferentes tipos de carnes o pescados, aunque no estén presentes en la Tabla 2 debido a que no están legislados [17, 18].

Estas matrices se caracterizan por ser significativamente más complejas en comparación con las matrices no grasas (< 2 %), como frutas y verduras, que son, en la mayoría de los casos, fundamentalmente agua, hidratos de carbono y fibra. Teniendo en cuenta que las etapas de extracción más comunes, extracción sólido-líquido (SLE) o líquido-líquido (LLE), no son procedimientos selectivos, gran cantidad de lípidos y fosfolípidos de los alimentos grasos pueden ser co-ex-

Tabla 2. Alimentos con un alto contenido graso en los que su concentración máxima de micotoxinas se encuentra regulada en la UE [19].

Alimento	% de grasa
Leche	2-5
Cereales (espelta – avena)	2,4-6,3
Soja	20
Espicias (pimienta – nuez moscada)	2,1-36,3
Semillas (pipas de calabaza – semillas de sésamo)	16-50
Cacao	52
Frutos secos (anacardos – nueces de macadamia)	44-83
Aceites vegetales	100

traídos y co-eluir con los analitos más apolares. Por otra parte, muchos de estos alimentos grasos, como la leche o los frutos secos, también suelen caracterizarse por tener una alta concentración de proteínas pudiendo interferir en el análisis de compuestos con mayor polaridad. Teniendo en cuenta que es muy difícil la obtención de un extracto libre de interferentes, la inclusión de una etapa de purificación o limpieza es una de las mejores alternativas para eliminar los componentes co-extraídos y minimizar el efecto matriz [15, 20]. Por ello, en la metodología QuEChERS (acrónimo de Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) se propone una primera etapa de extracción simple con acetonitrilo seguida de un fenómeno de reparto por adición de sales como $MgSO_4$ y $NaCl$, y una segunda etapa de extracción en fase sólida dispersiva (d-SPE) empleando un sorbente para retirar componentes de la matriz y $MgSO_4$ para eliminar el agua e inducir el reparto. La selección de un procedimiento de limpieza adecuado, es uno de los aspectos críticos, ya que debe eliminar los compuestos interferentes sin afectar la recuperación de los analitos. Por ello, en este artículo se presenta una revisión de los sorbentes más empleados en la etapa de limpieza o clean-up de alimentos grasos tras una etapa de extracción genérica como las nombradas anteriormente SLE, LLE o QuEChERS. Para describir y unificar el efecto matriz en esta revisión bibliográfica se ha empleado la fórmula:

$$\text{Efecto Matriz (\%)} = \left[\frac{(\text{pendiente de la recta de calibrado en presencia de matriz})}{(\text{pendiente de la recta de calibrado en disolvente}) - 1} \right] \times 100.$$

Y el criterio ha sido el establecido por Ferrer y colaboradores [21]: nulo ($[0\%]-[\pm 10\%]$), suave ($[\pm 10\%]-[\pm 20\%]$), medio ($[\pm 20\%]-[\pm 50\%]$), y fuerte ($\geq[\pm 50\%]$).

2. ESTRATEGIAS PARA LA ETAPA DE LIMPIEZA DEL EXTRACTO PARA EL ANÁLISIS DE MICOTOXINAS EN ALIMENTOS GRASOS

2.1. Técnicas basadas en extracción en fase sólida (SPE)

2.1.1. Columnas de inmunoafinidad (IAC)

Las columnas de inmunoafinidad se basan en la unión altamente eficaz y específica entre los anticuerpos inmovilizados en un cartucho tipo SPE y las micotoxinas seleccionadas. Este protocolo de limpieza es el que se emplea para los análisis oficiales de micotoxinas en alimentos en la UE. Debido a su alta especificidad ofrece unos porcentajes de recuperación satisfactorios [22]. Sin embargo, su gran desventaja radica en dicha especificidad, limitándose solo a una familia de micotoxinas en concreto. Existen columnas comerciales como Aflatest, ZaralaTest, OchraPrep, etc., destinadas a un determinado grupo de familias como hemos comentado anteriormente [22]. Aunque en la actualidad se desarrollan cartuchos que combinan varias familias como los AflaOchraPrep [23], capaces de recuperar satisfactoriamente aflatoxinas y ocratoxina A de múltiples matrices con alto contenido graso y obteniendo LOQs por debajo de $1 \mu\text{g kg}^{-1}$. Sin embargo, encontrar trabajos que estudien el efecto matriz empleando IAC no es tarea sencilla. La mayoría de ellos no lo estudian y aquellos que lo evalúan el efecto matriz es fuerte [22]. Son de destacar los cartuchos Myco6in1 y Myco6in1+ ya que son los que están siendo más empleados para el análisis multirresiduo de micotoxinas [22]. Además, dos estudios que emplean estos cartuchos [24,25], obtienen unas recuperaciones entre el 70-133 % y un efecto matriz suave para la mayoría de los analitos y la mayoría de las matrices, generalmente cereales. También, de acuerdo con Solfrizzo y colaboradores, se puede llegar a obtener un análisis multirresiduo con efecto matriz suave combinando dos cartuchos de IAC en tándem en la etapa de limpieza [26].

Sin embargo no hay que olvidar las principales desventajas de las IACs ya que el protocolo de limpieza puede durar horas, son muy caros y no reutilizables

[23,24,25,26], y el efecto matriz es un parámetro a tener en cuenta ya que no siempre se obtiene un efecto matriz bajo [22].

2.1.2. Polímeros de impronta molecular (MIPs)

Son polímeros sintéticos que tienen una selectividad predeterminada para un analito, o un grupo de compuestos estructuralmente relacionados, como las familias de micotoxinas. Estos polímeros sintéticos tienen sitios de reconocimiento generados artificialmente capaces de volver a unir una molécula objetivo específicamente con preferencia a otros compuestos estrechamente relacionados. En las últimas décadas se ha propuesto el uso de los MIPs como alternativa a las IACs. Esto se debe a que ofrecen características de selectividad sobre un compuesto o familia de compuestos similares pero con una serie de ventajas como mayor estabilidad, robustez y resistencia a una amplia gama de pH, disolventes y temperatura [27], además de mayor facilidad de preparación, menor coste y protocolos más cortos que las IACs [22].

Esta etapa de limpieza viene a ser equivalente al procedimiento de SPE, teniendo en cuenta que el disolvente de carga de muestra suele tener baja polaridad (por ejemplo, acetonitrilo, diclorometano, tolueno). En la mayoría de los casos, es el mismo solvente utilizado para la síntesis de MIP para maximizar las interacciones específicas de los medios. Los analitos se eluyen con un disolvente capaz de interrumpir las interacciones no covalentes típicas entre ellos y el polímero impreso. Aunque en bibliografía suelen encontrarse artículos que describen la síntesis de MIPs para el análisis de micotoxinas, en los últimos años han introducido en el mercado cartuchos empleando MIPs como sorbente. Sin embargo, muchos de ellos no se aplican a matrices grasas ya que algunos están diseñados para el análisis de patulina, que normalmente se analiza en productos a base de manzana, u ocratoxina A que se suele encontrarse en cerveza u otras bebidas a base de uva, como el vino. Para el análisis de micotoxinas en cereales se ha empleado AFFINIMIP®SPE FumoZON [28] y AFFINIMIP®SPE Zealalenone [29]. Para ambos casos, aunque tienen unas recuperaciones entre el 70 y 110 % y unos LOQs por debajo de los límites europeos, el efecto matriz no se ha estudiado. Este es el principal problema observado en los estudios que emplean MIPs como etapa de limpieza, con lo que no se puede evaluar si son efectivos para este fin. Castilla-Fernández y colaboradores evaluaron el efecto matriz empleando los cartuchos A

AFFINIMIP®SPE Multimycos [30]. En este trabajo los autores concluyeron que no suponía ninguna ventaja el empleo de estos cartuchos como etapa de limpieza para el análisis de muestras de nueces ya que el efecto matriz se mantenía igual que con una simple etapa de extracción.

2.1.3. Sorbentes poliméricos

Los sorbentes a base de polímeros macroporosos presentan una alternativa muy ventajosa ya que no necesitan acondicionamiento con solventes ácidos o básicos, no presentan interacción de los analitos con los grupos silanol superficiales residuales, poseen una gran capacidad de carga y una amplia estabilidad y no limitación de pH. Además, la mayoría de los sorbentes poliméricos son neutros y están basados en dos grupos funcionales diferentes para ser capaces de retener compuestos tanto lipofílicos e hidrofílicos. Unos de los sorbentes poliméricos más empleados en la etapa de limpieza de alimentos grasos para el análisis de micotoxinas son los cartuchos de SPE Oasis HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balance), cuya composición consta de N-vinilpirrolidona (hidrofílico) y divinilbenceno (lipofílico). Este sorbente es muy adecuado para la eliminación de interferentes propios de matrices grasas como lípidos y fosfolípidos, proteínas, sales, y pigmentos. Además, ha sido empleado para el análisis de micotoxinas ya que se consigue un efecto matriz suave para todos los analitos en muestras de pescado [31, 32] y de otros alimentos como cereales, carne o huevo [32]. En estos dos estudios, se seleccionaron los cartuchos Oasis HLB en la etapa de limpieza porque recuperaban correctamente los analitos. Mientras que, con el uso de C18 o los cartuchos de purificación MycoSep se reducían drásticamente las recuperaciones de algunas micotoxinas como eniatinas, ácido tenuazónico o zearalenona. Ren y colaboradores sí seleccionaron los cartuchos de purificación MycoSep, compuestos de mezclas de materiales absorbentes, frente al el clean-up Oasis HLB, obteniendo recuperaciones entre el 70-120% para todas las micotoxinas estudiadas, aunque no abordaron el estudio el efecto matriz [33]. Empleando los cartuchos MycoSep 150 Ergot, se obtuvieron resultados muy satisfactorios para los alcaloides de cornezuelo en centeno y avena, con un efecto matriz suave para la mayoría de los analitos, recuperaciones entre el 80-120% y LOQs por debajo de $1 \mu\text{g kg}^{-1}$ [34].

Recientemente se han introducido los cartuchos poliméricos de SPE en modo pass-through, como los cartuchos Oasis HLB PRIME (del inglés "Process Ro-

butness improvements in Matrix effects Easy of use"). Este modo supone una reducción del número de etapas de una SPE convencional. Ya que no son necesarios el acondicionamiento y equilibrado del sorbente con disolventes, sino que simplemente se humedece el sorbente en el cartucho con el extracto que se quiera limpiar. Después, se recoge el eluyente una vez que sale del cartucho, en el cual se quedarán los interferentes propios de las matrices grasas. Con lo cual se produce una reducción en el consumo de disolvente y en el tiempo de preparación de la muestra. Este protocolo fue evaluado como etapa de clean-up para la detección. Para el análisis de 12 micotoxinas de diferentes clases en aceites y salsas a base de soja, los cartuchos Oasis HLB PRIME permitieron reducir el efecto matriz hasta un nivel más suave que los cartuchos SPE Oasis HLB convencionales, además de la reducción el número de etapas [35]. Sin embargo, para el análisis de 17 micotoxinas en cereales la mayoría presentaron una supresión de la señal correspondiente a un efecto matriz medio, sólo obteniéndose un efecto matriz suave únicamente para 6 analitos, 4 de ellos pertenecientes a la familia de las eniatinas [36]. Teniendo en cuenta que las micotoxinas analizadas en ambos artículos son diferentes, se puede concluir que utilizando Oasis HLB PRIME se obtienen LOQs muy bajos, entre 0.4 y $10 \mu\text{g kg}^{-1}$, y las recuperaciones son satisfactorias, entre 61 y 125% [35, 36].

2.2. Técnicas basadas en d-SPE

2.2.1. Sorbentes propuestos en la metodología QuEChERS: PSA, C18, GCB

El método QuEChERS fue empleado inicialmente para el análisis de alimentos de bajo contenido graso. A lo largo de las décadas la metodología se ha consolidado y han sido tres los sorbentes más empleados: Amina Primaria Secundaria (PSA), carbón grafitizado (GCB) y octadecilo (C18).

La N-propiletilediamina o PSA es un sorbente polar soportado sobre una base de sílice ($-\text{Si}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2$). Al ser polar presenta características típicas de los sorbentes en fase normal y, gracias a los grupos amino también presenta un efecto quelante y un suave carácter de intercambio aniónico. Con lo cual, el PSA es capaz de retirar una gran cantidad de interferentes como ácidos grasos y compuestos polares. Estas características pueden ser ventajosas para otras aplicaciones, sin embargo, para el análisis de micotoxinas representa un inconveniente. Las micotoxi-

nas de carácter ácido, como ocratoxina A y fumonisinas, son adsorbidas por el PSA y las recuperaciones disminuyen drásticamente [37]. Por este motivo, cuando se utiliza PSA en la etapa de limpieza de micotoxinas se hace en pequeña cantidad y combinado con otros sorbentes, como C18 y alúmina [38]. Ya que para micotoxinas con mayor polaridad y sin carácter ácido, como las aflatoxinas, sí puede ser beneficioso en la reducción del efecto matriz. Aunque en dicho estudio las recuperaciones y los LOQs son muy satisfactorios, entre 70-98 % y $\leq 15 \mu\text{g kg}^{-1}$ respectivamente, el efecto matriz es medio para la mayoría de los analitos.

El GCB se trata de carbón grafitizado no poroso, el cual se caracteriza por su gran superficie de adsorción. Este sorbente proporciona tres mecanismos de retención: intercambio aniónico debido al grupo oxonio, el cual está cargado positivamente, interacciones hidrofóbicas entre la superficie de grafito y la estructura aromática de los analitos, y los enlaces de hidrógeno formados entre los grupos funcionales protonados de los analitos y el grupo carbonilo del GCB. La utilización de GCB hace posible la retirada de interferentes como lípidos, así como grupos ácidos y básicos. Sin embargo, la mayor desventaja que presenta este sorbente es la elevada retención de moléculas con anillos planos ya que presentan una fuerte afinidad por el carbón, y como consecuencia, obtención de recuperaciones muy bajas para estos compuestos. Además, la retención de estos grupos ácidos presenta las mismas desventajas que implicaba el PSA. Como consecuencia, el GCB ha sido empleado en un número muy reducido de estudios para el análisis de micotoxinas [39], y normalmente también se utiliza en combinación con otros sorbentes [37]. Aunque cabe destacar que el método propuesto por Capriotti y colaboradores empleando GCB en formato SPE permitió obtener un efecto matriz suave y LOQs por debajo de $6 \mu\text{g kg}^{-1}$ para la mayoría de las 19 micotoxinas analizadas, además de que las recuperaciones no se redujeron empleando este sorbente [39].

Por último, el C18 es el sorbente clásico empleado en la metodología QuEChERS para la etapa de limpieza de matrices de alto contenido graso debido a sus propiedades de retención en fase reversa. Se trata de un sorbente basado en sílice con extremos de octadecil enlazados poliméricamente. Debido a sus interacciones hidrofóbicas, el C18 adsorbe mayormente lípidos, como los triglicéridos, pero también tocoferoles, y colesterol tanto libre como en forma esterificada. Además, es capaz de retener azúcares o almidón. Los com-

puestos quedan retenidos mediante fuerzas de van der Waals y no suele afectar significativamente a las recuperaciones de los analitos, contrariamente al caso del PSA o GBC. Por ello, el C18 sí que ha sido ampliamente empleado para el análisis de micotoxinas ya sea por sí solo [17, 18] o en combinación con los dos anteriores sorbentes [37, 38]. Empleando C18 por sí solo en la etapa de clean-up de matrices de origen animal las recuperaciones eran adecuadas [18], el efecto matriz bajo [17, 18] y los LOQs estaban entre 2 y $33 \mu\text{g kg}^{-1}$. Sin embargo, en matrices vegetales, como los frutos secos o aceites, aunque el resto de parámetros de validación son adecuados, el efecto matriz obtenido es más elevado [40] o incluso fuerte [41, 37]. Sharmilli y colaboradores hicieron un estudio para seleccionar el mejor sorbente entre PSA, C18 y GCB para la determinación de 7 micotoxinas en aceites vegetales [37]. El PSA fue descartado por inducir a bajos porcentajes de recuperación. Entre la utilización de C18 o la combinación C18:GBC, se seleccionó como clean-up óptimo C18:GBC en proporción 3:1, debido a que los porcentajes de recuperación eran mayores (75-109 %) y la cantidad de compuestos co-extraídos era la menor. Sin embargo, al estudiar el efecto matriz se vio que era fuerte y fue necesario compensarlo a través del uso de un calibrado en presencia de matriz.

2.2.2. Otros sorbentes basados en la retención de grupos polares

Aunque cabe destacar que estos sorbentes son empleados en la etapa de limpieza de matrices grasas, no han sido tan ampliamente utilizados para la determinación de micotoxinas. Sin embargo, en la **Tabla 3** se ha pretendido hacer referencia a las aplicaciones encontradas con sorbentes con mecanismos de retención en fase normal para el análisis de micotoxinas. Generalmente, se utilizan para la reducción de lípidos polares, como los fosfolípidos, ya que se retienen fuertemente. El clean-up empleando fase normal se basa en las interacciones hidrofílicas entre el soluto y los grupos funcionales polares como enlaces de hidrógeno, interacción π - π o dipolo-dipolo. Se han empleado sorbentes como la alúmina (Al_2O_3) [38, 42] y Florisil (MgO_3Si) [43]. Cabe destacar que en los estudios en los que se emplea alúmina las recuperaciones están entre el 65-98 % y el efecto matriz es suave para las micotoxinas zearalenona, nivalenol y deoxinivalenol y sus derivados [38, 42]. Sin embargo, con el empleo de Florisil aunque las recuperaciones y los LOQs fueron satisfactorios, el efecto matriz obtenido fue medio o fuerte [43].

Tabla 3. Resumen de las metodologías empleadas recientemente para el análisis de micotoxinas en alimentos grasos mediante HPLC.

Analitos	Matriz	Extracción	Sorbente	Técnica analítica	Características analíticas	Ref.
AFs, OTA	Cacao, pimentón, cacahuets, alimentos infantiles, aceite de girasol (2 g)	QuEChERS: H ₂ O + MeCN (0,5 % CH ₃ COOH + MgSO ₄ + NaCl	IAC: AFLAOCHRA PREP	HPLC-MS/MS	Efecto matriz: – Recuperación: 77-106 % LOQs: 0,025-1 µg kg ⁻¹	[23]
AFs, FBs, OTA, ZEA, T-2, HT-2, DON	Cereales, cebada, cacahuets (5 g)	SLE: MeCN:H ₂ O:COOH (79.5:20:0.5, v/v/v)	IAC: Myco6in1	UHPLC-MS/MS	Efecto matriz: <[±20 %] (excepto FBs, OTA y AFG1) Recuperación: 72-112 % LOQs: 0,1-10 µg kg ⁻¹	[24]
AFs, FBs, OTA, ZEA, T-2, HT-2, DON, 3-ADON, NIV	Cereales (12,5 g)	SLE: MeCN:H ₂ O:COOH (79.5:20:0.5, v/v/v)	IAC: Myco6in1+	HPLC-MS/MS	Efecto matriz: <[±20 %], (excepto OTA, T-2 y HT-2) Recuperación: 74-133 % LOQs: 0,4-548 µg kg ⁻¹	[25]
AFs, FBs, DON, ZEA, T-2, HT-2	Cereales (5 g)	QuEChERS: H ₂ O + MeCN + NaCl	IAC en tandem: AOF-MS-Prep + DZT-MS-Prep	UHPLC-MS/MS	Efecto matriz: <[±20 %] Recuperación: 70-120 % (76 % combinación analito-matriz) LOQs: 0,3-119,7 µg kg ⁻¹	[26]
FBs	Cereales (25 g)	SLE: MeCN:MeOH: H ₂ O (25:25:50, v/v/v)	MIP: AFFINIMIP FumoZON SPE	HPLC-MS/MS	Efecto matriz: – Recuperación: 95-106 % LOQs: 25 µg kg ⁻¹	[28]
ZEA	Aceites vegetales (maíz, soja, arroz) (2 g)	Dilución: Dietil éter	MIP: AFFINIMIP SPE Zearalenone	UHPLC-MS	Efecto matriz: – Recuperación: 73 % LOQs: 4 µg kg ⁻¹	[29]
AFs, OTA	Nueces (5 g)	QuEChERS tampón citrato: H ₂ O + MeCN (0,1 % HCOOH) + MgSO ₄ + NaCl + C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ ·2H ₂ O + C ₆ H ₆ Na ₂ O ₇ ·1,5H ₂ O	MIP: AFFINIMIP SPE	UHPLC-MS/MS	Efecto matriz: >[±70 %] (excepto OTA) Recuperación: 98-105 % LOQs: –	[30]
AFs, OTA, ZEA, T-2, HT-2, DON	Pescado y marisco (2 g)	Extacción por ultrasonidos: MeCN:H ₂ O:CH ₃ COOH (79:20:1, v/v/v)	LLE: n-hexano SPE: sobrenadante acuoso + Oasis HLB	HPLC-MS/MS	Efecto matriz: <[±20 %] Recuperación: 72-120 % LOQs: 0,3-3 µg kg ⁻¹	[31]
TEA, ALT, AME, AOH, TEN, BEA, ENNs	Cereales, legumbres, carne, huevos, pescado, lácteos (2 g)	Extacción por ultrasonidos: MeCN:MeOH: H ₂ O (45:45:10, v/v/v)	Disolución de carga: (NH ₄) H ₂ PO ₄ pH 3.0 SPE: disolución de carga + Oasis HLB	UHPLC-MS/MS	Efecto matriz: <[±20 %] (excepto BEA, ENNs) Recuperación: 54-121 % LOQs: 0,002-0,9 µg kg ⁻¹	[32]
AFs, OTA, ZEA, T-2, HT-2, STG, CIT, FX, DON, 3-ADON, 15-ADON, VCG	Mantequilla de cacahuete (10 g)	SLE: MeCN:H ₂ O (84:16, v/v)	SPE: Mycosep 226	UHPLC-MS/MS	Efecto matriz: – Recuperación: 71-119 % LOQs: 0,01-0,70 µg kg ⁻¹	[33]

Analitos	Matriz	Extracción	Sorbente	Técnica analítica	Características analíticas	Ref.
EAs	Centeno y Avena (20 g)	QuEChERS : MeCN: (NH ₄) ₂ CO ₃ (aq.)	SPE: Mycosep 150 Ergot	UHPLC-MS/MS	Efecto matriz: <[± 20 %] (60 % analitos) Recuperación: 80-120 % LOQs: 0,01-1 µg kg ⁻¹	[34]
AFs, OTA, OTB, HT-2, STG, DAS, PA, MA, CT	Aceite de soja y salsa de soja (2 g)	LLE: MeCN:H ₂ O (80:20, v/v)	SPE: sobrenadante + Oasis HLB PRIME	HPLC- HRMS	Efecto matriz: <[± 20 %] Recuperación: 78-116 % LOQs: 0,4-4 µg kg ⁻¹	[35]
AFs, FBs, ENNs, DON, DON-3G, 3-ADON, 15-ADON, ZEA, NIV, MON	Cereales (5 g)	SLE: MeCN:H ₂ O:CH ₃ COOH (79:20:1, v/v/v)	SPE: sobrenadante + Oasis HLB PRIME	HPLC-MS/MS	Efecto matriz: <[± 20 %] (35 % analitos) Recuperación: 63-114 % (excepto ZEA y FBs) LOQs: 1-10 µg kg ⁻¹	[36]
AFs, DON, 3-ADON, 15-ADON, ZEA, α-ZEA, β-ZEA, α-ZOL, β-ZOL	Pollo y huevos (1 g)	QuEChERS: H ₂ O + MeCN (0.1 % HCOOH) + MgSO ₄ + NaCl	QuEChERS: C18 + MgSO ₄	HPLC-MS/MS	Efecto matriz: <[± 20 %] (66 % analitos) Recuperación: – LOQs: 2 z-5 µg kg ⁻¹	[17]
AFs, FBs, ENNs, BEA, OTA, STG	Pescado (2 g)	QuEChERS: H ₂ O (2 % HCOOH) + MeCN + MgSO ₄ + NaCl	QuEChERS: C18 + MgSO ₄	HPLC-MS/MS	Efecto matriz: <[± 20 %], (excepto FBs) Recuperación: 80-125 % LOQs: 3-33 µg kg ⁻¹	[18]
AFs, ZEA, α-ZOL	Frutos secos (2 g)	QuEChERS: MeCN:H ₂ O (80:20) + Na ₂ SO ₄ + NaCl	QuEChERS: C18	UHPLC-MS/MS	Efecto matriz: >[± 20 %], (excepto α-ZOL) Recuperación: 80-120 % LOQs: 0,5-1 µg kg ⁻¹	[41]
AFs, OTA, ZEA, DON	Aceites vegetales (palma, maíz, girasol) (3 g)	LLE: MeCN	d-SPE: C18:GBC (3:1)	HPLC-MS/MS	Efecto matriz: fuerte (t-test) Recuperación: 88-107 % LOQs: 0.05-10 µg kg ⁻¹ (excepto DON)	[37]
AFs, FBs, ENNs, OTA, T-2, HT-2, NIV, NEO, DAS, 3-ADON, 15-ADON, ZEA, α-ZOL, β-ZOL, BEA	Galletas (a base de cereales y huevo) (1 g)	Extacción por ultrasonidos: MeCN:H ₂ O:CH ₃ COOH (79:20:1, v/v/v)	SPE: Carbograph (GCB)	HPLC-MS/MS	Efecto matriz: <[± 20 %] (80 % analitos) Recuperación: 63-107 % LOQs: 0,04-80,20 µg kg ⁻¹	[39]
AFs, FBs, OTA, OTB, T-2, HT-2, NIV, DON, ZEA, CIT	Arroz, cacao, cereals (10 g)	QuEChERS tampón citrato: H ₂ O + MeCN (10 % HCOOH) + MgSO ₄ + NaCl + C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ ·2H ₂ O + C ₆ H ₆ Na ₂ O ₇ ·1.5H ₂ O	QuEChERS: C18: PSA:Alúmina (2:1:1) + MgSO ₄	UHPLC-MS/MS	Efecto matriz: >[± 20 %] (excepto NIV, DON, ZEA) Recuperación: 70-98 % LOQs: 0,5-15 µg kg ⁻¹	[38]
DON, 3-ADON, 15-ADON, NIV	Centeno (3.5 g)	QuEChERS: H ₂ O:MeCN + MgSO ₄ +NaCl	d-SPE: Alúmina	HPLC-PDA	Efecto matriz: <[± 20 %] (excepto NIV) Recuperación: 65-98 % LOQs: <71 µg kg ⁻¹	[42]
AFs, ZEA, T-2, HT-2, DON	Suplementos a base de soja	LLE: MeCN (1 % HCOOH)	SPE: Florisil	UHPLC-HRMS	Efecto matriz: >[-20 %] Recuperación: 71-120 % LOQs: 1-10 µg kg ⁻¹	[43]

Analitos	Matriz	Extracción	Sorbente	Técnica analítica	Características analíticas	Ref.
AFs, OTA, ZEA, T-2, HT-2	Pistacho (5 g)	QuEChERS tampón citrato: H ₂ O + MeCN (0.1 % HCOOH) + MgSO ₄ + NaCl + C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ ·2H ₂ O + C ₆ H ₆ Na ₂ O ₇ ·1.5H ₂ O	d-SPE: Z-Sep	UHPLC-HRMS	Efecto matriz: <[± 20 %] (excepto OTA, T-2) Recuperación: 79-120 % LOQs: 0.125-25 µg kg ⁻¹	[44]
AFs, FBs, OTA, ZEA, NEO, DAS, T-2, HT-2, DON, 3A-DON, 15A-DON	Frutos secos (1 g)	QuEChERS: H ₂ O + MeCN (5 % HCOOH) + MgSO ₄ + NaCl	QuEChERS: Z-Sep:C18 (1:1)	HPLC-MS/MS	Efecto matriz: >[-50 %] Recuperación: 70-91 % LOQs: 1.25-5 µg kg ⁻¹	[45]
EAs	Productos a base de avena (1 g)	QuEChERS: MeCN: (NH ₄) ₂ CO ₃ (aq.)	QuEChERS: Z-Sep ⁺ :C18 (1:1)	UHPLC-MS/MS	Efecto matriz: <[-20 %] (80 % analitos) Recuperación: 90-106 % LOQs: 0.2-3.2 µg kg ⁻¹	[46]
AFs	Alimentos infantiles basados en carne o pescado (5 g)	QuEChERS: MeCN + MgSO ₄ + NaCl	QuEChERS: Z-Sep ⁺ :C18: PSA (1:1:1)	UHPLC-HRMS	Efecto matriz: <[-20 %], Recuperación: 83-108 % LOQs: 1 µg kg ⁻¹	[47]
AFs, FBs, 3-ADON, ZEA, α-ZOL, GLI, OTA, DAS, T-2, HT-2, ERGC	Frutos secos (5 g)	QuEChERS tampón citrato: H ₂ O + MeCN (0.1 % HCOOH) + MgSO ₄ + NaCl + C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ ·2H ₂ O + C ₆ H ₆ Na ₂ O ₇ ·1.5H ₂ O	d-SPE: EMR-Lipid	nano-LC-HRMS	Efecto matriz: <[+6 %] Recuperación: 75-98 % LOQs: 0,003-2 µg kg ⁻¹	[40]
AFs, FB1, OTA, T-2, ZEA, DON	Galletas (a base de cereales) y cacahuetes (1 g)	QuEChERS: H ₂ O + MeCN (0.1 % HCOOH) + MgSO ₄ + NaCl	d-SPE: EMR-Lipid	UHPLC-MS/MS	Efecto matriz: – Recuperación: 71-102 % LOQs: 0.5-60 µg kg ⁻¹	[48]

Abreviaturas: 3-acetildeoxinivalenol (**3-ADON**), 15-acetildeoxinivalenol (**15-ADON**), Aflatoxinas (**AFs**), Altenuene (**ALT**), Alternariol (**AOH**), Alternariol monometil éter (**AME**), Beauvericina (**BEA**), Citreoviridina (**CT**), Citrinina (**CIT**), Diacetoxiscirpenol (**DAS**), Deoxinivalenol (**DON**), deoxinivalenol-3-glucósido (**DON-3G**), Alcaloides del cornezuelo o alcaloides ergóticos (**EAs**), Eniatinas (**ENNs**), Ergocornina (**ERGC**), Fumonisinias (**FBs**), Fusarenona-X (**FX**), Gliotoxina (**GLI**), Toxina HT-2 (**HT-2**), Ácido micofenólico (**MA**), Moniliformina (**MON**), Neosolanol (**NEO**), Nivalenol (**NIV**), Ocratoxina A (**OTA**), Ocratoxina B (**OTB**), Ácido Penicílico (**PA**), Esterigmatocistina (**STG**), Toxina T-2 (**T-2**), Ácido Tenuazónico (**TEA**), Tentoxina (**TEN**), Verruculogen (**VRG**), Zearalenona (**ZEA**), zearalenol (**ZOL**).

2.2.3. Dióxido de zirconio enlazado a sílica: Z-sep

Los materiales basados en dióxido de zirconio (ZrO₂) enlazados a un soporte de sílice, normalmente bajo el nombre comercial Z-sep, se caracteriza por tener una gran estabilidad a un amplio rango de pH, desde 1 a 13, y por poseer propiedades ácido-base de Lewis. Gracias a esto, tiene propiedades de intercambio iónico, tanto catiónico como aniónico. Además, pueden establecerse interacciones hidrofóbicas y de enlaces de hidrógeno, con lo cual, es capaz de retener interferentes muy apolares como los lípidos. El uso de Z-sep en la etapa de limpieza d-SPE está indicado para matrices grasas con el objetivo de eliminar de manera efectiva un mayor número de interferentes que los

sorbentes tradicionales PSA, GCB y C₁₈. Para el análisis de micotoxinas el Z-sep se combina con el sorbente C18 para la retirada de los compuestos más apolares. Además, también se ha comercializado el sorbente Z-sep⁺, diseñado para alimentos con muy alto contenido de lípidos (> 15 %), y en el que la sílice está funcionalizada tanto con el grupo ZrO₂ como con C18. No son muchas las aplicaciones de este sorbente basado en zirconio para el análisis de micotoxinas. Soares-Mateus y colaboradores hicieron una comparación exhaustiva de sorbentes y combinaciones (PSA, C18, EMR-Lipid, Z-Sep) para la reducción del efecto matriz en pistachos [44]. Obtuvieron un efecto matriz suave para aflatoxinas, zearalenona y toxina HT-2, sin embargo, no fue posible obtenerlo para ocratoxina A

ni toxina T-2. En este estudio se revela que empleando Z-sep no fue posible recuperar las fumonisinas, micotoxinas de carácter ácido, lo que puede deberse a que el átomo de zirconio actúe como aceptor de un par de electrones y forme complejos con grupos donadores de electrones de los grupos ácidos. Otro trabajo de Cunha y colaboradores en el que se estudió un mayor número de micotoxinas en 8 frutos secos diferentes, no se logró reducir el fuerte efecto matriz seleccionando Z-sep:C18, aunque los LOQs estaban por debajo de $5 \mu\text{g kg}^{-1}$ y las recuperaciones entre el 70 y 91 % [45]. Por otra parte, sí se ha logrado un efecto matriz suave combinando Z-Sep⁺ junto con otros sorbentes, por ejemplo, Z-sep⁺ junto con C18 para el análisis de alcaloides del cornezuelo en alimentos a base de avena [46] y la combinación de Z-Sep⁺, PSA y C18 para el análisis de aflatoxinas en alimentación infantil [47], manteniendo en ambos trabajos las recuperaciones en torno a 80-110 % y LOQs muy bajos $\leq 3 \mu\text{g kg}^{-1}$.

2.2.4. Sorbente EMR-Lipid

El sorbente EMR-Lipid, procedente de sus siglas en inglés "Enhanced Matrix Removal", y fue introducido en 2015 para su aplicación en como sorbente d-SPE en la etapa de clean-up de alimentos de alto contenido graso. No se ha revelado su composición, debido a que se encuentra bajo patente, pero el fabricante menciona que es capaz de retirar lípidos, fosfolípidos, ácidos grasos libres y algunos esteroides, como el colesterol. La interacción de estas moléculas con el sorbente es debida a dos principios: exclusión por tamaño e interacciones hidrofóbicas. Las largas cadenas de hidrocarburos no ramificadas características de los lípidos encajan en la estructura del sorbente y son atrapadas en él mediante interacciones hidrofóbicas. Para la interacción con los lípidos se indica que es extremadamente importante que se realice en un medio acuoso:orgánico. Con lo que este protocolo de d-SPE consta de dos pasos. En primer lugar, la activación del sorbente (1 g) con agua (5 mL), agitación y adición del extracto de la muestra en un disolvente orgánico (5 mL) obtenido en una etapa anterior y miscible con agua. Destacar que la proporción EMR-Lipid:Agua:Extracto es escalable dependiendo de la cantidad o suciedad de la muestra. Por otra parte, la adición de agua implica una dilución 1:2. Por ello, se agregan 5 mL de la fase acuosa:orgánica a un tubo denominado EMR-Lipid Polish, consistente en una mezcla de 1,6 g de MgSO_4 anhidro y 0,4 g de NaCl, para inducir a la separación de fases mediante el efecto salting-out,

revertir el factor de dilución y eliminar el agua del extracto final. Este protocolo de EMR-Lipid d-SPE ha sido empleado para la obtención de un efecto matriz nulo de 16 micotoxinas en diferentes frutos secos, mejorando así el efecto matriz obtenido empleando PSA+C18 [40]. Además en este trabajo los LOQs obtenidos fueron desde 0,003 hasta $2 \mu\text{g kg}^{-1}$ y las recuperaciones entre 75 y 98 %. Long y colaboradores también obtuvieron unos porcentajes de recuperación similares (71-102 %) al emplear EMR-Lipid para el análisis de micotoxinas en galletas, sin embargo el efecto matriz no fue estudiado [48].

3. CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta la dificultad que presenta la reducción de los compuestos co-extraídos de los alimentos de alto contenido graso y su impacto en el efecto matriz de las micotoxinas, en esta revisión se han presentado las diferentes estrategias para reducirlos, teniendo en cuenta una etapa de extracción sencilla y rápida como SLE, LLE o QuEChERS. Las IACs presentan porcentajes de recuperación adecuados y una reducción del efecto matriz debido a su selectividad, no obstante son procedimientos muy largos y de un precio muy elevado por muestra. Una alternativa actual a las IACs son los MIPs, sin embargo los trabajos que los emplean no suelen estudiar el efecto matriz con lo cual no se puede obtener una idea clara de si son eficaces en la disminución de interferentes. Cuando se utiliza un protocolo de SPE con sorbentes poliméricos, en muchos casos se minimiza el efecto matriz, pero ello depende de la combinación analito-matriz estudiada. El empleo de un sorbente hidrofóbico como el C18, es muy eficaz para la reducción de lípidos. El C18 suele emplearse en combinación con sorbentes más polares, como PSA, ya que estos son efectivos en la mayoría de aplicaciones debido a las desventajas que presentan para el análisis de algunas micotoxinas. El GCB prácticamente no ha sido usado como limpieza en el análisis de micotoxinas, sin embargo, hay trabajos que parecen indicar que se obtienen buenos resultados con este sorbente. Los sorbentes basados en dióxido de zirconio, Z-sep, empleados por sí solos o en combinación con otros sorbentes como C18, reducen significativamente el efecto matriz para diferentes micotoxinas como aflatoxinas o alcaloides del cornezuelo. Sin embargo, al igual que ocurría con el PSA, no es capaz de recuperar las micotoxinas ácidas. Por último, con el protocolo EMR-Lipid d-SPE en la etapa de limpieza, se obtiene

un efecto matriz nulo en análisis multiresiduo de micotoxinas en distintos frutos secos. Para finalizar, es necesario destacar que una gran cantidad de trabajos, incluidos y no incluidos en esta revisión, no realizan un estudio del efecto matriz al emplear un sorbente específico en la etapa de limpieza, y se centran en que no haya una pérdida en la recuperación. Sin embargo, es de especial importancia estudiar dicho efecto para determinar si la inclusión de esta etapa es realmente eficaz para la combinación analito-matriz propuesta.

4. BIBLIOGRAFÍA

- [1] European Commission. Communication from the commission to the European parliament, the council, the European economic and social committee and the committee of the regions. A Farm to Fork Strategy for a fair, healthy and environmentally-friendly food system. 2020. COM/2020/381 final.
- [2] EFSA (European Food Safety Authority). Mycotoxins. 2022. Acceso 20/03/2023. <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/mycotoxins#efsa-page-title>
- [3] Sabuncuoğlu, S. Introductory Chapter: Mycotoxins and Food Safety. In Sabuncuoğlu, S. (Ed.), *Mycotoxins and Food Safety*. IntechOpen. 2020. ISBN: 978-1-78984-875-5.
- [4] Kabak, B. The fate of mycotoxins during thermal food processing. *J. Sci. Food Agric.*, 2009, 89, 549-554.
- [5] Idris, Y. M. A., Mariod, A. A., Elnour, I. A., & Mohamed, A. A. Determination of aflatoxin levels in Sudanese edible oils. *Food Chem. Toxicol.*, 2010, 48, 2539-2541.
- [6] European Commission. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. 2023. Consolidated text: 02006R1881-20230101.
- [7] European Commission. Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. *Official Journal*, 2002, L 221.
- [8] EU Reference Laboratories. Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food. 2016.
- [9] European Commission. Guidance document on identification of mycotoxins in food and feed. SANTE/12089/2016. 2017.
- [10] Shephard, G. S. Current status of mycotoxin analysis: a critical review. *J. AOAC Int.*, 2016, 99(4), 842-848.
- [11] Onji, Y., Aoki, Y., Tani, N., Umebayashi, K., Kitada, Y., & Dohi, Y. Direct analysis of several Fusarium mycotoxins in cereals by capillary gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1998, 815(1), 59-65.
- [12] Rodríguez-Carrasco, Y., Berrada, H., Font, G., & Mañes, J. Multi-mycotoxin analysis in wheat semolina using an acetonitrile-based extraction procedure and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 2012, 1270, 28-40.
- [13] Vargas Medina, D. A., Bassolli Borsatto, J. V., Maciel, E. V. S., & Lanças, F. M. Current role of modern chromatography and mass spectrometry in the analysis of mycotoxins in food. *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 2021, 135, 116156.
- [14] Hajšlová, J. & Zrostlíková, J. Matrix effects in (ultra) trace analysis of pesticide residues in food and biotic matrices. *J. Chromatogr. A*, 2003, 1000, 181-197.
- [15] Trufelli, H., Palma, P., Famiglini, G., & Cappiello, A. An overview of matrix effects in liquid chromatography-mass spectrometry. *Mass Spectrom. Rev.*, 2011, 30, 491-509.
- [16] USDA (United States Food Drug Administration). Pesticide Analytical Manual Volume I (PAM) 3rd Edition. 1999.
- [17] Wang, L., Zhang, Q., Yan, Z., Tan, Y., Zhu, R., Yu, D., Yang, H. Occurrence and Quantitative Risk Assessment of Twelve Mycotoxins in Eggs and Chicken Tissues in China. *Toxins*, 2018, 10(11), 477.
- [18] Tolosa, J., Barba, F. J., Font, G., Ferrer, E. Mycotoxin Incidence in Some Fish Products: QuEChERS Methodology and Liquid Chromatography Linear Ion Trap Tandem Mass Spectrometry Approach. *Molecules*, 2019, 24(3), 527.
- [19] USDA (U.S. Department of Agriculture). 2023. Agricultural Research Service. FoodData Central. Acceso 06/03/2023 <https://fdc.nal.usda.gov/index.html>
- [20] Chambers, E., Wagrowski-Diehl, Lu, Z., & Mazzeo, J. R. Systematic and comprehensive strategy for reducing matrix effects in LC/MS/MS analyses. *J. Chromatogr. B*, 2007, 852, 22-34.
- [21] Ferrer, C., Lozano, A., Agüera, A., Jiménez-Girón, A., & Fernández-Alba, A. Overcoming matrix effects using the dilution approach in multiresidue methods for fruits and vegetables. *J. Chromatogr. A*, 2011, 1218, 7634-7639.
- [22] Delaunay, N., Combès, A., & Pichon, V. Review. Immunoaffinity Extraction and Alternative Approaches for the Analysis of Toxins in Environmental, Food or Biological Matrices. *Toxins*, 2020, 12, 795.
- [23] Desmarchelier, A., Tessiot, S., Bessaire, T., Racault, L., Fiorese, E., Urbani, A., Chan, W. C., Chen, P., & Motier, P. Combining the quick, easy, cheap, effective, rugged and safe approach and clean-up by immunoaffinity column for the analysis of 15 mycotoxins by isotope dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B*, 2014, 1337, 75-84.
- [24] Vaclavikova, M., MacMahon, S., Zhang, K., & Begley, T. H. Application of single immunoaffinity clean-up for simultaneous determination of regulated mycotoxins in cereals and nuts. *Talanta*, 2013, 117, 345-351.
- [25] Kim, D. H., Hong, S. Y., Kang, J. W., Cho, S. M., Lee, K. R., An, T. K., & Chung, S. H. Simultaneous determination of multi-mycotoxins in cereal grains collected from South Korea by LC/MS/MS. *Toxins*, 2017, 9(3), 106.

- [26] Solfrizzo, M., Gambacorta, L., Bibi, R., Ciriaci, M., Paoloni, A., & Pecorelli, I. Multimycotoxin analysis by LC-MS/MS in cereal food and feed: Comparison of different approaches for extraction, purification, and calibration. *J. AOAC Int.*, 2018, 101(3), 647-657.
- [27] Martín-Esteban, A. Molecularly-imprinted polymers as a versatile, highly selective tool in sample preparation. *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 2013, 45, 169-181.
- [28] Bryła, M., Jędrzejczak, R., Roszko, M., Szymczyk, K., Obiedziński, M. W., Sękul, J., & Rzepkowska, M. Application of molecularly imprinted polymers to determine B 1, B 2, and B 3 fumonisins in cereal products. *J. Sep. Sci.*, 2013, 36(3), 578-584.
- [29] Lucci, P., David, S., Conchione, C., Milani, A., Moret, S., Pacetti, D., & Conte, L. Molecularly imprinted polymer as selective sorbent for the extraction of zearalenone in edible vegetable oils. *Foods*, 2020, 9(10), 1439.
- [30] Castilla-Fernández, D., Rocío-Bautista, P., Moreno-González, D., García-Reyes, J. F., & Molina-Díaz, A. Dilute-and-shoot versus clean-up approaches: A comprehensive evaluation for the determination of mycotoxins in nuts by UHPLC-MS/MS. *LWT-Food Sci. Technol.*, 2022, 169, 113976.
- [31] Sun, W., Han, Z., Aerts, J., Nie, D., Jin, M., Shi, W., & Wu, A. A reliable liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of multiple mycotoxins in fresh fish and dried seafoods. *J. Chromatogr. A*, 2015, 1387, 42-48.
- [32] Sun, D., Qiu, N., Zhou, S., Lyu, B., Zhang, S., Li, J., & Wu, Y. Development of sensitive and reliable UPLC-MS/MS methods for food analysis of emerging mycotoxins in China total diet study. *Toxins*, 2019, 11(3), 166.
- [33] Ren, Y., Zhang, Y., Shao, S., Cai, Z., Feng, L., Pan, H. Simultaneous determination of multi-component mycotoxin contaminants in foods and feeds by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 2007, 1143, 48-63.
- [34] Kokkonen, M., & Jestoi, M. Determination of ergot alkaloids from grains with UPLC-MS/MS. *J. Sep. Sci.*, 2010, 33(15), 2322-2327.
- [35] Luo, D., Guan, J., Dong, H., Chen, J., Liang, M., Zhou, C., & Xu, X. Simultaneous determination of twelve mycotoxins in edible oil, soy sauce and bean sauce by PRIME HLB solid phase extraction combined with HPLC-Orbitrap HRMS. *Front. Nutr.*, 2022, 9.
- [36] Scarpino, V., Reyneri, A., & Blandino, M. Development and Comparison of Two Multiresidue Methods for the Determination of 17 Aspergillus and Fusarium Mycotoxins in Cereals Using HPLC-ESI-TQ-MS/MS. *Front. Microbiol.*, 2019, 10, 361.
- [37] Sharmili, K., Jinap, S., & Sukor, R. Development, optimization and validation of QuEChERS based liquid chromatography tandem mass spectrometry method for determination of multimycotoxin in vegetable oil. *Food Control*, 2016, 70, 152-160.
- [38] Koesukwiwat, U., Sanguankaew, K., & Leepipatpi-boon, N. Evaluation of a modified QuEChERS method for analysis of mycotoxins in rice. *Food Chem.*, 2014, 153, 44-51.
- [39] Capriotti, A. L., Cavaliere, C., Foglia, P., Samperi, R., Stampachiachiere, S., Ventura, S., & Laganà, A. Multiclass analysis of mycotoxins in biscuits by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Comparison of different extraction procedures. *J. Chromatogr. A*, 2014, 343, 69-78.
- [40] Alcántara-Durán, J., Moreno-González, D., García-Reyes, J. F., & Molina-Díaz, A. Use of a modified QuEChERS method for the determination of mycotoxin residues in edible nuts by nano flow liquid chromatography high resolution mass spectrometry. *Food Chem.*, 2019, 279, 144-149.
- [41] Hidalgo-Ruiz, J. L., Romero-González, R., Martínez-Vidal, J. L., & Garrido-Frenich, A. Determination of mycotoxins in nuts by ultra high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Looking for a representative matrix. *J. Food Compos. Anal.*, 2019, 82, 103228.
- [42] Cerqueira, M. B. R., de Borba, V. S., Rodrigues, M. H. P., Silveira, C. O., Badiale-Furlong, E., & Kupski, L. Reliable and Accessible Method for Trichothecenes Type B Determination in Oat Products. *Food Anal. Methods*, 2023, 16(1), 83-95.
- [43] Martínez-Domínguez, G., Romero-González, R., Arrebola, F. J., & Frenich, A. G. Multi-class determination of pesticides and mycotoxins in isoflavones supplements obtained from soy by liquid chromatography coupled to Orbitrap high resolution mass spectrometry. *Food Control*, 2016, 59, 218-224.
- [44] Soares Mateus, A. R., Barros, S., Pena, A., & Sanches Silva, A. Development and Validation of QuEChERS Followed by UHPLC-ToF-MS Method for Determination of Multi-Mycotoxins in Pistachio Nuts. *Molecules*, 2021, 26, 5754.
- [45] Cunha, S. C., Sá, S. V. M., & Fernandes, J. O. Multiple mycotoxin analysis in nut products: Occurrence and risk characterization. *Food Chem. Toxicol.*, 2018, 114, 260-269.
- [46] Carbonell-Rozas, L., Gámiz-Gracia, L., Lara, F. J., & García-Campaña, A. M. Determination of the Main Ergot Alkaloids and Their Epimers in Oat-Based Functional Foods by Ultra-High Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Molecules*, 2021, 26, 12, 3717.
- [47] Prata, R., López-Ruiz, R., Petrarca, M. H., Godoy, H. T., Frenich, A. G., & Romero-González, R. Targeted and non-targeted analysis of pesticides and aflatoxins in baby foods by liquid chromatography coupled to quadrupole Orbitrap mass spectrometry. *Food Control*, 2022, 139, 109072.
- [48] Long, Y., Huang, Y., Zhu, M., Ma, Y., Gan, B., Wang, Y., & Chen, Y. Development of QuEChERS clean-up based on EMR-lipid for simultaneous analysis of 9 mycotoxins, acaylamide and 5-Hydroxymethylfurfural in biscuit by UHPLC-MS/MS. *Food Chem.*, 2023, 409, 135265.

NOTICIAS DE LA SECyTA

XXII REUNIÓN CIENTÍFICA DE LA SECyTA (51.ª REUNIÓN CIENTÍFICA DEL GCTA)

El Comité Organizador de la XXII Reunión Científica de la Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines (SECyTA2023) tiene el placer de invitarte a participar en esta edición que se celebrará en el Hipotel Convention Center Palma de Mallorca, en S'Arenal (Mallorca), entre los días 16 y 18 de octubre de 2023.

Programa científico

En esta XXII Reunión Científica de la SECyTA brindaremos una actualización sobre los últimos avances en cromatografía de gases, líquidos y técnicas afines. Las temáticas consideradas en esta reunión incluyen desarrollos sobre los fundamentos teóricos de la separación en columna, técnicas acopladas y ómicas, miniaturización y automatización, imágenes, métodos de separación verde, quimiometría y análisis ambiental, toxicológico, forense, alimentario y nutricional.

En colaboración con la Sociedad Española de Espectrometría de Masas habrá una sesión dedicada específicamente a las aplicaciones de imagen de MALDI (Espectrometría de masas de desorción/ionización láser asistida por matriz) en la que se han descrito importantes mejoras en los últimos años.

Además, se organizará una sesión especial para debatir críticamente las posibles alternativas disponibles ante la progresiva escasez y el aumento del coste del helio, uno de los gases más utilizados en la cromatografía de gases. De igual forma, el 15 de octubre, la jornada previa al inicio de la reunión, se impartirá un Curso Avanzado de Espectrometría de Masas a cargo de los profesores Encarnación Moyano (Universidad de Barcelona) y Juan Vicente Sancho (Universidad Jaume I).

Por último, pero no menos importante, también dedicaremos una sesión específica al análisis e identificación de micro/nanoplásticos, y contaminantes emergentes asociados a ellos, en aguas marinas como las de las costas de las Illes Balears, sistemas de agua dulce, biota y materias primas alimentarias.

Comité organizador

Chairmen:

- Joan O. Grimalt (IDAEA-CSIC).
- Manuel Miró (Universitat Illes Balears).

Miembros:

- Ana M.ª García Campaña (Universidad de Granada).
- Juan Vicente Sancho Llopis (Universidad Jaume I).
- Jordi Díaz Ferrero (Instituto Químico de Sarriá, Universitat Ramon Llull, Barcelona).
- Esther Marco (IDAEA-CSIC).
- Marinella Farré (IDAEA-CSIC).
- Denisse Riqueros (IDAEA-CSIC).
- Carolina Muñoz (IDAEA-CSIC).
- Lluçia García (Universidad Illes Balears).
- Ali Sahragard (Universidad Illes Balears).
- Enrique J. Carrasco (Universidad de Valencia y Universidad Illes Balears).
- Francisco A. Casado (Universidad de Córdoba y Universidad Illes Balears).

Comité científico

- Joan O. Grimalt (IDAEA-CSIC).
- Manuel Miró Lladó (Universidad Illes Balears).
- Ana M.ª García Campaña (Universidad de Granada).
- Jordi Díaz Ferrero (Universidad Ramon Llull).
- Mario Fernández Martín (IQOG-CSIC).
- Núria Fontanals Torroja (Universidad Rovira i Virgili).
- Manuel Gayo González (Agilent).
- Belén Gómara Moreno (IQOG-CSIC).
- María Elena González Peñas (Universidad de Navarra).
- José Antonio González Pérez (IRNASE-CSIC).
- Begoña Jiménez Luque (IQOG-CSIC).
- Marta Lores Aguín (Universidad de Santiago de Compostela).
- Miguel Ángel Pérez Alonso (Bruker).
- Juan Vicente Sancho Llopis (Universidad Jaume I).
- Josep Maria Sangenis (Scion Instruments Ibérica).
- Francisco Javier Santos Vicente (Universidad de Barcelona).

Conferenciantes invitados

- **Philippe Schmitt-Kopplin**, Technical University of Munich. *High resolution tailored metabolomics in the food-nutrition-health continuum.*

- **Kai-Uwe Hinrich**, MARUM & Department of Geosciences, University of Bremen. *MALDI-imaging for biogeochemical applications.*
- **Pavel Kuban**, Czech Academy of Science. *Direct coupling of sample pretreatment to capillary electrophoresis for complex sample analyses.*
- **Rafael Lucena**, University of Córdoba. *Biopolymer-based sorptive phases into stainless steel needles: microextraction and ambient mass spectrometry analysis in a single device.*
- **Ana María Agüera**, University of Almería. *Target and suspect analysis of contaminants of emerging concern in water reuse practices: challenges and future perspectives.*

Premios

Premio José Antonio García-Domínguez

Al igual que en otras reuniones científicas de la SECyTA, este año se convoca la XVI Edición de los Premios *José Antonio García-Domínguez*, cuyo objetivo es el reconocimiento del mérito científico de los trabajos presentados por los jóvenes investigadores, tanto en forma de cartel como en exposiciones orales. Como siempre, estos premios están patrocinados por Bruker y en esta edición tienen las siguientes modalidades:

- Premio a la mejor comunicación oral: 500 €.
- Premio a la segunda mejor comunicación oral: 400€.
- Premio a la mejor web communication: 300 €.
- Premio a la segunda mejor web communication: 200 €.

Premio a la mejor tesis doctoral en Cromatografía y Técnicas Afines

Este año se ha convocado la 2.^a edición de este premio para cualquier socio de SECyTA que haya defendido su tesis doctoral a lo largo del año 2022. El premio consiste en un diploma acreditativo y un cheque nominativo de 1.000 €. Con carácter excepcional, se podrá conceder, si así lo estima oportuno el jurado, un segundo premio, consistente en un diploma acreditativo y un cheque de 500 €. Se puede consultar las bases en la web de SECyTA (<https://www.secyta.es/es/newdescription/1047>).

Becas

Parta los jóvenes investigadores que deseen conseguir una ayuda para la asistencia a la reunión SECyTA 2023 de Mallorca, pueden solicitar una beca a la Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines.

Quienes la soliciten, deberán pagar la cuota de inscripción como cualquier otro participante. Los formularios y requisitos para la solicitud de la beca para asistir a la reunión SECyTA 2023, se encuentran en la web de la Sociedad (<https://www.secyta.es/es/grantssecyta>).

Fechas clave

- 12 de julio de 2023
Fecha límite de envío de resúmenes.
- 22 de julio de 2023
Comunicación de aceptación/rechazo de resúmenes.
- 1 de julio de 2023
Fecha límite para la solicitud de beca.
- 28 de julio de 2023
Fecha límite de inscripción temprana (early bird).

Inscripción y cuotas

La inscripción se debe realizar a través del enlace que hay en la web del congreso (<http://secyta2023.activacongresos.com/registration/>). La cuota de inscripción incluye los coffee breaks, las comidas de los días 16 y 17, la Cena de Gala, copia del libro de resúmenes (PDF) y el certificado de asistencia y/ participación.

Tarifa ¹	Hasta el 28 de julio	A partir del 29 de Julio
Miembros de SECyTA o SEEM	450 €	550 €
General	500 €	600 €
Estudiantes socios de SECyTA o SEEM*	250 €	300 €
Estudiantes	270 €	320 €

¹ IVA 21 % incluido.

NOTICIAS DE LA SECyTA

Número especial

Al igual que en ediciones anteriores, animamos a todos los participantes a presentar sus trabajos dentro de un volumen especial virtual en la revista especiali-

zada *Journal of Chromatography A* dedicado a la reunión SECyTA 2023 de Mallorca. Más información en la web de la reunión (<http://secyta2023.activacongresos.com/guideline-for-abstract-submission/>).



XXII Meeting of the Spanish Society of Chromatography and Related Techniques

S'Arenal, Mallorca, 16-18 October 2023

NUEVOS SOCIOS

- 2040
Sammani, Mohamad Subhi
Cotlliure, 35, 4 A
07010 Palma de Mallorca (Islas Baleares)
- 2041
Porras Torres, Marta
Laredo, 6, 4.º D
30004 Murcia
- 2042
González Ruiz, Ana Teresa
Doctor Mallafré Guasch, 3 (1.º-14.º)
43005 Tarragona
- 2043
Martín Ortiz, Andrea
Instituto de Química Orgánica General (IQOG-CSIC)
Juan de la Cierva, 3
28006 Madrid
- 2044
Amador Luna, Víctor Manuel
Puentedeume, 14, 2.º-2
28029 Madrid
- 2045
Duque Villaverde, Andrés
Rúa da Rosa, 27, 3.º A
15701 Santiago de Compostela (A Coruña)
- 2046
Sóñora Otero, Sergio
Sandrenzo de Arriba, 57
15930 Boiro (A Coruña)
- 2047
Rivas Piña, Marta
Caliza, 22, 4.º B
28032 Madrid
- 2051
Domínguez Rodríguez, Gloria
Universidad de Alcalá
Ctra. Madrid-Barcelona, Km 33,600
28805 Alcalá de Henares (Madrid)
- 2054
Segura Abarrategui, Julen
IDAEA-CSIC
Jordi Girona, 18-26
08036 Barcelona
- 2055
González Jiménez, Cristian
Avda. Castilla y León, 3, B.º D
28702 San Sebastián de los Reyes (Madrid)
- 2056
Sánchez Elvira, Andrea
Santa Catalina, 5, 1.º B
28801 Alcalá de Henares (Madrid)
- 2058
Gregorio Lozano, Sergi
La Lluna, 7, 5 F
12005 Castelló de la Plana (Castelló)
- 2059
Soria Prieto, Francisco
Cartagena, 3, 4.º A
12004 Castellón de la Plana
- 2060
Benedé Veig, Juan Luis
Dpto. Química Analítica
Edificio F, 4.º piso
Doctor Moliner, 50
46100 Burjassot (València)
- 2061
González Ruiz, Víctor
CEMBIO. Universidad CEU-San Pablo
Urbanización Montepríncipe, s/n
28925 Alcorcón (Madrid)
- 2063
Clivillé Cabré, Pol
Passeig Misericòrdia, 13A
43205 Reus (Tarragona)
- 2064
Granell Granell, Marcos
Palanques, 11, 3.º pta. 7
12006 Castellón

PREMIOS A SOCIOS

Distinción otorgada por la Asociación Catalana de Dirigentes del Deporte

La Dra. Rosa Ventury Alemany ha sido recientemente distinguida como mejor dirigente por la Asociación Catalana de Dirigentes del Deporte (ACDE).

Rosa Ventury, socia de la SECyTA, es la directora del Laboratorio Antidopaje de Catalunya. La distinción reconoce su labor al frente de este Laboratorio y como coordinadora del Grupo de Investigación en control del dopaje en el deporte. También reconoce la labor del Laboratorio en la realización de los controles antidopaje de los Juegos Mediterráneos de Tarragona de 2018, y en la gestión de los pasaportes biológicos de los deportistas. Por último, se han valorado también los resultados científicos más relevantes que ha conseguido en los últimos años el Grupo de Investigación liderado por la Dra. Ventura Alemany.

El Laboratorio Antidopaje de Catalunya forma parte del IMIM (Instituto Hospital del Mar de Investigaciones Médicas) en Barcelona, y es uno de los 30 laboratorios acreditados en el mundo por la Agencia Mundial Antidopaje para realizar controles antidopaje en deportistas. Cada año analiza cerca de 10.000 muestras de deportistas de todo el mundo. El acto de entrega de la distinción se celebró el pasado viernes 17 de febrero en el Hotel Catalonia Barcelona Plaza durante la celebración de la Noche del Dirigente, uno de los eventos principales de la ACDE, donde se reconoce la labor llevada a cabo por dirigentes y exdirigentes de clubs, federaciones y profesionales.

Desde SECyTA queremos felicitar muy sinceramente a Rosa Ventury por este éxito y por su consolidada trayectoria científica.



2.ª EDICIÓN DEL PREMIO SECyTA A LA MEJOR TESIS DOCTORAL EN CROMATOGRFÍA Y TÉCNICAS AFINES (Aprobado por la Junta de Gobierno de la SECyTA el 21 de marzo de 2023)

La Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas Afines (SECyTA) convoca, en su 2.ª edición en 2023, el premio SECyTA a la mejor Tesis Doctoral. Este premio tiene por objeto reconocer el mérito científico de las tesis doctorales realizadas por los socios de la SECyTA sobre Cromatografía y sus Técnicas Afines.

El premio se regirá por las siguientes bases:

1. Habrá un único premio indivisible en el que se entregará al ganador un diploma acreditativo y un cheque nominativo de 1.000 €. El premio podrá ser declarado desierto. El jurado podrá otorgar excepcionalmente un accésit, que consistirá en un diploma acreditativo y 500 €, en el caso que lo considere necesario.
2. Podrá optar al premio cualquier socio de la SECyTA que haya defendido su tesis doctoral entre el 1 de enero y el 31 de diciembre de 2022.
3. Los candidatos deben ser socios de SECyTA en la fecha de la defensa de la Tesis Doctoral, con una antigüedad mínima de un año en relación a la fecha de cierre de esta convocatoria y deberán estar al corriente del pago de la cuota de la Sociedad en la fecha de convocatoria del presente premio.
4. Las candidaturas deberán remitirse a la secretaria de la SECyTA por correo electrónico (secretaria@secyta.es) antes del **15 de junio de 2023** incluyendo la siguiente documentación en un fichero comprimido o a través de una plataforma de envío de grandes ficheros (WeTransfer, Google Drive, Dropbox, etc.):
 - Carta de solicitud de participación en el premio.
 - Certificado acreditativo de la fecha de defensa de la tesis doctoral.
 - Ejemplar de la tesis doctoral en formato pdf.
5. Curriculum Vitae del candidato.
6. Resumen de la tesis doctoral, destacando aquellos aspectos más relevantes de su aportación científica en el área de las técnicas separativas/cromatográficas y afines (máximo 2 páginas). Se acompañará de una foto del candidato con la finalidad de su publicación en el Boletín de SECyTA, caso de ser premiado.
7. Anexo con una relación de las publicaciones y comunicaciones a congresos relacionadas directamente con la tesis doctoral, incluyendo los indicios de calidad (área JCR, índice de impacto, posición en el área, n.º de citas) de las aportaciones que se presenten como artículos científicos.
5. El jurado del premio estará formado por entre 3-5 investigadores expertos, nombrados por la Junta de Gobierno de la Sociedad, que no tengan publicaciones comunes con los candidatos presentados.
6. Las decisiones del jurado se tomarán por votación secreta y serán inapelables.
7. Los criterios de concesión se basarán en la calidad y el carácter innovador de la investigación científica llevada a cabo por cada participante.
8. El fallo del jurado se comunicará con suficiente antelación antes de la reunión científica de SECyTA y en esta edición el premio se entregará durante la ceremonia de clausura de la XXII Reunión Anual de la SECyTA que se celebrará en S'Arenal (Mallorca) del 16 al 18 de Octubre de 2023.
9. La concurrencia a este premio supone la aceptación de las bases del mismo.

JUAN VICENTE SANCHO
Secretario de la SECyTA

PARTICIPACIÓN DE SECyTA EN EL EVENTO *INNOVAFORUM* EN EL MARCO DE *FARMAFORUM*

Como ya se informó en la última Junta General celebrada en la reunión de Almería en octubre de 2022, la propuesta de Bernabé Bodas sobre la participación de distintas sociedades científicas (SECyTA, SEEM, SEQA, SEProt y SESMet) en la reunión anual que tiene lugar en el marco de *FARMAFORUM* finalmente se ha concretado en estos meses. El evento de las sociedades se llamará *INNOVAFORUM* y tendrá lugar los días 20-21 de septiembre de 2023 en IFEMA (Madrid). La inscripción es gratuita.

El objetivo es poner en contacto a aquellos de nuestros socios interesados con las empresas del sector farmacéutico, nutracéutico, cosmético y biotecnológico para discutir posibles colaboraciones.

Podéis consultar la web de *FARMAFORUM* y el evento aquí: <https://farmaforum.es/eventos-paralelos/innovaforum/> (link is external)

Nuestra participación como sociedad consistirá en:

- **Zona de exposición:** se exhibirán algunas contribuciones en formato póster (A₀, apaisado) de

los miembros de las sociedades participantes durante los dos días del evento.

- **Jornada científica:** se presentarán de forma oral algunas contribuciones, una de ellas presentando la sociedad y el resto sobre aplicaciones desarrolladas por los socios, que puedan ser objeto de futura interacción con las empresas de los sectores presentes en *Farmaforum* (5-6 por sociedad de unos 10 min cada una).

En este sentido, os pedimos vuestra colaboración en caso de estar interesados en participar, enviando un correo electrónico (secretaria@secyta.es) con asunto (Participación en *Innovaforum*), antes del 10 de julio, especificando vuestro interés en una u otra modalidad del evento, incluyendo el título de la presentación/póster correspondiente. Si necesitáis algún detalle adicional, podéis consultarnos en esa misma dirección de email.

Es una oportunidad de favorecer la colaboración entre este tipo de empresas y nuestras universidades y centro de investigación.

Innovaforum

SECYTA

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
CROMATOGRAFÍA
Y TÉCNICAS AFINES

20 Y 21 SEPTIEMBRE 2023
PABELLÓN 14 IFEMA MADRID



INFORMACIONES

IN MEMORIAM PROFESOR JOSÉ LUIS BERNAL YAGÜE

Queridos socios,

Lamentamos comunicar el fallecimiento de nuestro compañero José Luis Bernal Yagüe, Profesor Emérito de la Universidad de Valladolid, y socio de SECyTA.

Químico analítico, especializado en el desarrollo y validación de métodos de preparación de muestra y análisis cromatográfico, de aplicación principalmente en el campo de los alimentos o del medio ambiente, el profesor Bernal fue catedrático de Química Analítica en la Universidad de Valladolid desde 1984 y hasta el año 2019 fue coordinador del grupo de investigación de Técnicas de Separación y Análisis Aplicado (TESEA) de la misma universidad.

Queremos transmitir nuestro sincero pésame a su esposa, hijos y demás familiares y amigos.

Descanse en paz.



CONGRESOS CELEBRADOS

33rd International Symposium on Chromatography – ISC 2022

The International Symposium on Chromatography (ISC) has been organized since 1956 and it is one of the oldest conferences on separation science. This conference represents one of the most important meeting for discussions of all modes of chromatography and separation science in pharmaceutical, environmental, food, and health fields. Its 33rd edition was celebrated in Budapest (Hungary) from 18th to 22nd September 2022. The event was organized by the Hungarian Society for Separation Sciences, and the chairman of the symposium was the Prof. Attila Felinger. The final program included communications about new technologies, instrumentations and separation media for chromatographic, electrodriven sep-

arations, miniaturized/lab-on-chip systems, mass spectrometry hyphenation, and applications.

The ISC 2022 started on Sunday afternoon with an Opening Ceremony and Award Ceremony in which different awards, including the Halász Medal Award, the Csaba Horváth Memorial Award, the Ervin Sz. Kováts Award (for Young Scientists), the Prism-award (Hungarian Society for Separation Sciences), the Martin and Jubilee Medals (Chromatographic Society), and the Joseph Huber Name Lecture Award (Austrian Society of Analytical Chemistry) were presented. After that, two plenary lectures were exposed by Philip J. Marriot and Csaba Szántay about "Journeys in

INFORMACIONES

GCxGC – Developing Ultra-High-Resolution Separations” and “The Human Factor in Scientific Thinking: The Illusions That We Live By”, respectively. To conclude the first day, a welcome reception was held, including a Palinka tasting sponsored by Shimadzu.

On Monday morning, three parallel sessions were held. Two keynotes and four or six oral communications were presented in each session. After lunch, Shimadzu presented its vendor seminar entitled “*Better Together – Reaching Higher Peaks*” and the first poster session took place. After a coffee break, other two keynotes and six oral communications were also presented. All the sessions were focused on fundamentals and different applications of single chromatography (HPLC, GC, SFC) and two-dimensional systems for chiral or achiral separations.

On Tuesday, the same schedule was followed: two parallel sessions with keynotes presented by Simona Felletti and by Michael Lämmerhofer followed by two or three oral communications. After a coffee break and exhibition of the ISC sponsor, another two sessions including two keynotes and six oral presentations concerning the analysis of oligonucleotides by LC, LC-MS/MS, or SFC, and new approaches of 2D-LC and detectors took place. After lunch, the second vendor seminar by Thermo Fisher Scientific (“*Semi-preparative LC purification and analytical characterization of genetic chemical scissors for impurity precision profiling and genomic fingerprinting*”) and the poster session were presented. The day concluded with the presentation of two new keynotes and six oral communications.

On Wednesday the conference continued with the same dynamic, starting at 9:00 h with two parallel sessions and sponsor exhibitions. Throughout the morning, 2 keynotes and 14 oral presentations were held related to metabolomics, proteomics, clinical analysis, HILIC retention mechanisms, anion exchange stationary phases in IC, new stationary phases in LC, and some environmental applications. Subsequently, all attendees enjoyed lunch and the third poster ses-

sion where the posters selected for the awards were presented. The conference ended with two keynotes and six oral presentations on different topics such as the analysis of intact protein by CZE-MS, the immobilization of enzymatic microreactors for Bottom-Up proteomic studies, or “*The Role of Universal Detection in Modern Liquid Chromatography*”. To conclude the day, a wonderful Gala Dinner was held aboard a boat on the Danube River.

The last day (Thursday) started with two keynote lectures about the use of supercritical fluid chromatography and the coupling of liquid chromatography with mass spectrometry, followed by three oral communication about similar topics. At 11 h, the last two sessions started with keynotes related to isotachopheresis and proteomic analysis of cell lung cancer, and 3 oral communications in each session. The conference reached its final point after lunch, when the three last plenary lectures presented by Peter Schoenmakers (“*Separations, Dimensions, Actions and Reactions*”), Michal Holčapek (“*UHPSFC/MS in Lipidomic Quantitation: Towards the Clinical Screening of Pancreatic Cancer*”) and Tony Edge (“*An Assessment of Stationary Phase Selectivity in SFC*”) took place. The closing ceremony was celebrated with the presentation of the five poster awards, an introduction to the next ISC event in Liverpool (6 - 10th October 2024), and a farewell reception.

In summary, during these successfully four days (you can enjoy the photos of the congress at the following link: <https://isc2022.hu/gallery/>), 5 plenary lectures, 22 keynotes, 72 oral presentations, 2 vendor seminars, and more than 200 posters dealing with different aspects of separation techniques, extraction techniques, mass spectrometry detection, metabolomics approaches, biomedical diagnostics, etc. were presented.

SANDRA SALIDO FORTUNA

*Department of Analytical Chemistry, Physical Chemistry and Chemical Engineering
University of Alcalá*

SETAC Europe 33rd Annual Meeting. “Data-Driven Environmental Decision-Making”

The SETAC Europe 33rd Annual Meeting took place from April 30th to May 4th, 2023, in Dublin, Ireland, marking the first hybrid conference with both in-person and online components.

This year's meeting achieved a record attendance, reaching the maximum capacity of the convention centre. A total of 2,379 presenters participated in the five-day event, delivering 554 platform presentations, presenting 1,747 posters, and hosting 78 virtual presentations. The meeting facilitated crucial discussions on various topics, including the EU Green Deal, the UNEP science-policy panel for chemicals and waste management, and the ongoing efforts to monitor, measure, and mitigate the impacts of microplastics, among others.

The 33rd Annual Meeting was inaugurated on Sunday with several training Courses and Seminars. To foster social connections, a meeting guide gathering was organized to facilitate interactions between young scientists' first-time attendees and experienced SETAC members. After that, the Opening and Award Ceremony took place, followed by a warm welcome from the organizers. The opening session continued with a plenary lecture by Pamela Byrne, a renowned food safety authority in Ireland, who delivered a plenary lecture titled “From Policy to Regulatory Decisions – Why Data Matters? – A Regulators Perspective.” The day concluded with a Welcome reception, where an atmosphere of camaraderie and networking was created among participants.

On Monday 1st, the meeting started with 10 parallel presentation sessions on different topics including climate change, micro(nano) plastics occurrence and fate, antimicrobials in the environment, environmental risk assessment of UV filters, biomonitoring approaches, circularity systems, the fate of contaminants in the soil-plant continuum and a special session about effect modelling. At the same time, posters were exhibited up to the end of the day. After the coffee break, the second presentation session included interesting talks about POPs and emerging pollutants, LCA of recycling abiotic and biobased materials, exposure of ionic and ionisable organic chemicals and a special session entitled “Establishment of a science-policy panel to contribute further to the sound management of chemicals and waste and prevent

pollution”. The last part of the session was dedicated to short poster spotlights for PhD students. Lunch break took place both at the exhibition hall and in the form of a packed lunch with the option of a nice walking tour in Dublin, but other options were also available for those interested in learning more about specific topics, including a special Student Lunch about different career perspectives and the participation in different seminars. In the afternoon, it was the time for the last presentation session, topical discussions and the daily plenary, given by Peter Fantke from the Technical University of Denmark. The last part of the meeting was dedicated to poster corners.

On Tuesday morning, 10 new parallel sessions took place. There were remarkable platform presentations about 6-PPD quinone as a polymer additive of emerging concern, as well as the latest findings about polyfluoroalkyl substances (PFAs). After the coffee break with the poster exhibition, new oral presentations about environmental fate and exposure to pesticides, the state-of-art of plastics in terrestrial environments and insect ecotoxicology were performed. In addition, there were notable talks about wastewater analysis for assessing public health status that encompassed different perspectives. In the afternoon sessions, talks about old and new plastic additives and their implications for the environment and human health were remarkable, aside from those about climate change in Arctic and Antarctica and its effect on contaminants in the abiotic and biotic matter. Julio Fernández talked about the impact of alternative plasticizers through diet. Regarding the topical discussions, particular attention was drawn to “The Global Biodiversity Framework: How can we reconcile the chemical sector with a nature-positive future”. This day was the SETAC Science Slam, where some of the conference attendees presented their work in a creative and informal way, highlighting the performance of “Daphnia Dating in Dublin: Sensing the Water” by Katie Reilly. After the conference ended, the Student Mixer took place in the Dining Hall of Trinity College.

Wednesday 3rd of May started again with 10 parallel sessions with different hot topics including pharmaceuticals in the environment, micro and nano plastics, life cycle assessment and various sessions concerning ecotoxicology and risk assessment. There was a total of 141 platform presentations, 9 poster

INFORMACIONES

spotlight presentations and 447 posters exposed throughout the day. During the first morning session, there were remarkable platform presentations: “Innovations in analytical methods used for monitoring emerging contaminants in marine and freshwater aquatic environments”, mainly led by Fiona Regan. The session entitled “Human and veterinary pharmaceuticals in the environment – risk, prioritisation and new insights”, took place during the whole day, and enabled many presenters to share their research with interesting presentations such as “Sewage overflows and historical landfills affecting pharmaceutical pollution in Scottish rivers: spatiotemporal distribution and hazards” by John Wilkinson. In the afternoon, there was another interesting session concerning non-target screening advances. In parallel, another session covered the hot topic of tire wear and micro rubber particles, where both the impact of their presence and the need for environmental regulations and mitigations were discussed. The day was finalized with the daily plenary by Anja Gladbach, from Bayer AG who gave an interesting talk entitled: 5 years of experience in sharing industry safety studies: Where did we start, where are we now and what have we learnt? A reflection about Open Science, trust and the way ahead of us.

The final SETAC 33rd day was Thursday 4th of May, which began with the now typical 10 simultaneous sessions addressing current issues of concern such as PFAS, nano plastics, and life cycle assessment among other hot topics. As a personal remark, there was a session called “HR-MS Analysis of Metabolites and transformation products of organic pollutants – What remains unknown” which was held by our colleagues Nicola Montemurro, Maria Vittoria Barbieri, Serge Chiron and Sandra Pérez and where two teammates presented a poster spotlight, Olga Gómez and Sandra Callejas. Moving forward, the Coffee break and the Poster break come out, and more than 400 posters were presented simultaneously. Thursday held four of our posters, Olga, Sandra, Maria Vittoria and Francesc presented their research with a successful day with

loads of questions and contacts to share knowledge in the future. After the break, another 10 platform sessions were conducted, the “PMT/vPvM substances: Assessment, Management and Regulation” session chaired by Michael Neumann, Hans Peter Arp and Anna Lenquist, was plenty of interesting talks and was also very nicely conducted by the chairmen, giving an atmosphere of informality that was appreciated by the audience allowing smooth participation. Finally, the last lunch and poster break arrived with the following closing ceremony and awards, which consisted of a 20-minutes presentation where the best platform and poster award were provided.

In summary, the conference was exciting and had plenty of new knowledge to apply to our research. We would like to mention the high-quality platform sessions we lived, with loads of new research focused on the environment. We are grateful to attend such a huge conference and we encourage everyone involved in environmental research to assist to the next SETAC conference that will be held in Seville. This opportunity would not have been possible without the help of the SECyTA, their work is essential to expand national knowledge through the rest of the world, thank you for the collaboration in the name of the five researchers involved, Maria Vittoria, Sandra, Julio, Olga and Francesc.

MARIA VITTORIA BARBIERI
University of Montpellier

SANDRA CALLEJAS MARTOS
IDAEA-CSIC

JULIO FERNÁNDEZ ARRIBAS
IDAEA-CSIC

OLGA GÓMEZ NAVARRO
IDAEA-CSIC

FRANCESC LABAD ROIG
IDAEA-CSIC

CALENDARIO DE ACTIVIDADES

1. **Metabolomics: 19th Annual International Conference of the Metabolomics Society**
18-22 de junio de 2023. Niagara Falls (Canadá)
Chairs: **P. Britz-McKibbin y D. Vuckovic**
<https://www.metabolomics2023.org/>
2. **HPLC 2023: 51st International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques**
18-23 de junio de 2023. Düsseldorf (Alemania)
Chairs: **M. Lämmerhofer y O. J. Schmitz**
<https://www.hplc2023-duesseldorf.com/>
Congreso patrocinado por SECyTA
3. **PBA2023: 33rd International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Analysis**
2-6 de julio de 2023. Ankara (Turquía)
Chair: **S. A. Ozkan**
<https://pba2023.com/>
4. **ExTech2023: 25th International Symposium on Advances in Extraction Technologies**
18-21 de julio de 2023. Tenerife (Canarias)
Chairs: **Verónica Pino y Javier Hernández-Borges**
<http://extech2023.ull.es/>
Congreso patrocinado por SECyTA
5. **Euroanalysis XXI**
27-31 de agosto. Ginebra (Suiza)
Chairs: **E. Bakker, M. Suter, F. Kalman y B. Hattendorf**
<https://www.euroanalysis2023.ch/>
6. **DIOXIN 2023: 43rd edition of the International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants**
10-14 de septiembre de 2023. Lieja (Bélgica)
Chair: **J.-F. Focant**
www.dioxin2023.org
7. **ITP 2023: 29th International Symposium on Electro- and Liquid Phase-Separation Techniques**
13-17 de septiembre de 2023. Roma (Italia)
Chair: **Alessandra Gentili**
<https://itp2023.com/>
8. **Innovaforum 2023**
20-21 de septiembre de 2023. Madrid (España)
<https://farmaforum.es/eventos-paralelos/innovaforum/>
9. **27th International Symposium on Separation Sciences**
24-27 de septiembre de 2023. Cluj-Napocca (Rumanía)
Chairs: **V. Coman y S. Beldean-Galea**
<https://iss2023.conference.ubbcluj.ro/>
10. **µTAS 2023: 27th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences**
15-19 de octubre de 2023. Katowice (Polonia)
Chairs: **Z. Brzózka y E. Jastrzębska**
<https://www.microtas2023.org/>
11. **XXII Reunión Científica de la SECyTA**
16-18 de octubre de 2023. S'Arenal, Mallorca
Chairs: **J. O. Grimalt y M. Miró**
<http://secyta2023.activacongresos.com/>
12. **42nd International Symposium and Exhibition on the Purification of Proteins, Peptides and Polynucleotides (ISPPP)**
5-8 de noviembre de 2023. Viena (Austria)
Chair: **N. Lingg**
<https://www.isppp.net/>

NUEVAS TESIS DOCTORALES



“Desarrollo de nuevas metodologías multianalíticas para la obtención de extractos bioactivos y detección de fraudes en complementos alimenticios”

Autor: **Adal Mena García**

Directoras: Dra. Ana Isabel Ruiz Matute y Dra. Marina Díez Municio

Grupo de Investigación: Departamento de Análisis Instrumental y Química Ambiental (IQOG, CSIC) y Pharmactive Biotech Products S. L.

Día y lugar defensa: 22 de marzo de 2023. Universidad Autónoma de Madrid

Resumen:

Durante las últimas décadas, en las sociedades desarrolladas, cada vez más conscientes de la relación existente entre la alimentación y la salud, se ha despertado un gran interés por la obtención de diferentes ingredientes bioactivos para el desarrollo de nuevos alimentos funcionales o su uso como complementos alimenticios. Además, en el contexto de la economía circular, la obtención de dichos compuestos bioactivos a partir de residuos o subproductos agroalimentarios derivados de vegetales es de especial interés, al suponer un grave problema medioambiental, y su aprovechamiento desempeña un papel fundamental en la sostenibilidad del sistema alimentario. Por tanto, el desarrollo de nuevas metodologías de extracción eficientes y rápidas, así como de análisis para la caracterización de los compuestos de interés son fundamentales para poder evaluar posteriormente sus propiedades bioactivas y ser utilizados como ingredientes alimentarios. Por otro lado, el gran auge que está experimentando en los últimos años el mercado de los complementos alimenticios de origen vegetal (CAVs), unido a un escaso control y a una falta de estandarización adecuada de dichos productos, está propiciando la aparición de distintos tipos de fraudes. Por ello, y debido a la complejidad de la composición de los CAVs, es de gran interés el desarrollo de metodologías basadas en técnicas instrumentales de alta capacidad de separación e identificación, como son las técnicas cromatográficas y sus acoplamientos a la espectrometría de masas, para la evaluación de su calidad y la detección de adulteraciones.

El objetivo de esta Tesis Doctoral, se ha centrado en el desarrollo de nuevos métodos de extracción y análisis de compuestos bioactivos a partir de subproductos agroalimentarios, así como para la detección eficaz de fraudes de calidad y autenticidad en CAVs. Para ello, se han desarrollado metodologías para la obtención, mediante la extracción asistida por microondas (MAE), de extractos enriquecidos en inosítoles bioactivos de subproductos de lechugas y legumbres, así como para la obtención de extractos multifuncionales de inosítoles y polifenoles de subproductos de alcachofa, demostrando el potencial que presentan como fuentes de compuestos bioactivos. Los métodos desarrollados por MAE han permitido mejorar la reproducibilidad y rendimientos de extracción en menores tiempos respecto a técnicas convencionales (extracción sólido-líquido, SLE), empleando disolventes GRAS y medioambientalmente sostenibles. Por otro lado, se ha puesto de manifiesto la ventaja del uso de las estrategias multianalíticas desarrolladas en esta tesis doctoral para la evaluación de la calidad y autenticidad de CAVs de alcachofa, *Garcinia cambogia* y azafrán, solventando las deficiencias que puedan tener las metodologías que emplean las técnicas de forma independiente. Además, el empleo de herramientas estadísticas de análisis multivariante ha resultado de gran utilidad para la evaluación de la calidad de dichos CAVs.



“Desarrollo y validación de métodos cromatográficos ajustados a propósito para la monitorización de antimicrobianos de interés clínico. Aplicación a estudios farmacocinéticos”

Autor: **Carlos Ezquer Garin**

Directores: M.^ª José Medina, Laura Escuder y Rafael Ferriols

Grupo de Investigación: Dpto. de Química Analítica de la Facultad de Farmacia, Universitat de Valencia. Grupo de Investigación en Farmacia del Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA

Día y Lugar de la defensa: 8 de marzo de 2023. Facultad de Farmacia de la Universitat de Valencia

Resumen:

La infección en el entorno hospitalario es a día de hoy uno de los mayores desafíos en el ámbito sanitario. La elevada incidencia a nivel mundial en la aparición de estas infecciones incrementa la tasa de morbimortalidad y el gasto sanitario, y es considerado un problema de salud pública. Las infecciones tanto en pacientes críticos como oncohematológicos trasplantados presentan una incidencia elevada y se asocian a un incremento en la tasa de mortalidad hospitalaria. El tratamiento de estas infecciones se basa en el uso racional de antimicrobianos como antibacterianos y antifúngicos capaces de eliminar al patógeno.

Las pautas empleadas para la dosificación de antimicrobianos en este tipo de pacientes pueden no ser adecuadas, ya que éstas derivan de estudios realizados con sujetos sanos con características diferentes a las de los pacientes a tratar. Esto puede dar lugar a concentraciones inadecuadas de fármaco en el organismo, con consecuencias no deseadas. La optimización de estas terapias mediante la individualización posológica es un objetivo en el tratamiento de estas infecciones. Así, la implementación de programas para la monitorización de antimicrobianos y su estudio farmacocinético ha demostrado ser efectiva en este tipo de pacientes.

Para conseguir este objetivo, existen guías publicadas por parte de diferentes sociedades científicas que recomiendan el empleo de métodos validados basados en cromatografía de líquidos de alta resolución, que sean capaces de dar un resultado analítico con rapidez para ser útiles en el ámbito asistencial (~24 h desde la extracción de la muestra hasta la notificación de los resultados analíticos). El objetivo general de esta Tesis Doctoral es el desarrollo, puesta a punto y validación de métodos cromatográficos ajustados a propósito para la monitorización de antimicrobianos de interés en muestras de plasma de pacientes tratados en el Hospital Clínico Universitario de Valencia. Los antimicrobianos monitorizados incluyen antibacterianos (meropenem, piperacilina, ceftolozano combinado con tazobactam y amikacina) y antifúngicos (voriconazol, caspofungina y anidulafungina). Se realizó una validación completa de las características analíticas de cada uno de los métodos desarrollados siguiendo las recomendaciones descritas en la guía publicada por la Agencia Europea del Medicamento. Los métodos cromatográficos desarrollados y validados en la presente Tesis Doctoral se emplearon en la monitorización clínica de pacientes bajo tratamiento antimicrobiano, así como en el estudio del perfil farmacocinético de ciertos antimicrobianos en pacientes sometidos a técnicas de depuración extracorpórea.

NUEVAS TESIS DOCTORALES



“Nuevas aproximaciones para el análisis de contaminantes orgánicos en matrices alimentarias con elevado contenido graso”

Autor: **Delia Castilla Fernández**

Directores: Dr. Juan Francisco García Reyes y Dr. David Moreno González

Grupo de Investigación Química Analítica de la Universidad de Jaén (FQM-323), Departamento de Química Física y Analítica, Universidad de Jaén

Día y lugar defensa: 24 de enero de 2023. Universidad de Jaén

Resumen:

Esta tesis se enfoca en el desarrollo de metodologías analíticas para la determinación de xenobióticos en matrices alimentarias complejas. La Unión Europea regula el contenido máximo de contaminantes y residuos en alimentos a niveles de $\mu\text{g kg}^{-1}$, por lo que son necesarias técnicas analíticas altamente sensibles y selectivas. Concretamente, en esta tesis doctoral se han desarrollado métodos para la cuantificación multirresiduo de diferentes familias de plaguicidas, medicamentos de uso veterinario, micotoxinas o contaminantes ambientales empleando cromatografía de líquidos de ultra elevada eficacia (UHPLC) o cromatografía de gases (GC) acopladas a espectrometría de masas (MS).

La fuente de ionización es el elemento clave en el acoplamiento entre el sistema cromatográfico y el espectrómetro de masas, sin embargo, es donde se origina el denominado efecto matriz. Éste consiste en un cambio de la señal instrumental del analito debido a compuestos co-eluyentes que compiten con él en el proceso de ionización. El efecto matriz es mucho más problemático en alimentos con un alto contenido graso, por encima de 2 % de lípidos, ya que parte de los componentes de la matriz pueden ser co-extraídos con los analitos en la etapa de extracción.

Para minimizar el efecto matriz en alimentos grasos, en esta tesis se propusieron varias estrategias. En primer lugar, la inclusión de una etapa de limpieza basada en extracción en fase sólida (SPE) o en extracción en fase sólida dispersiva (d-SPE) empleando diferentes sorbentes. Tres de los trabajos evaluaron el uso de sorbentes específicos, los cuales fueron capaces de retirar los lípidos co-extraídos y minimizar el efecto matriz en el análisis de plaguicidas y/o medicamentos de uso veterinario en leche, huevo y salmón mediante UHPLC-MS/MS. Sin embargo, para la determinación de micotoxinas en nueces mediante UHPLC-MS/MS, la inclusión de una etapa de limpieza no fue efectiva, por lo que se estudió el efecto de una mayor dilución de un extracto, enfoque *Dilute-and-Shoot*. Se concluyó que si la separación cromatográfica tiene una resolución aceptable y la instrumentación es lo suficientemente sensible, un factor dilución alto es suficiente para eliminar el efecto matriz. Por último, para la determinación de hidrocarburos aromáticos monocíclicos en aceite de oliva mediante headspace-GC-MS, se evaluó el empleo de una fuente de ionización suave basada en un diseño de descarga miniaturizado llamada *Controlled-Atmosphere Flexible Microtube Plasma* (CA-F μ TP) frente a la fuente por impacto electrónico (EI). Se demostró el potencial del sistema GC-CA-F μ TP-MS para la obtención de un efecto matriz despreciable y la cuantificación de estos compuestos muy por debajo de los límites europeos.



“Evaluation of novel mixed-mode ion-exchange materials to address environmental analytical problems”

Autor: **Joan Carles Nadal Lozano**

Directoras: Prof. Rosa Maria Marcé y Dr. Núria Fontanals

Grupo de investigación “Cromatografía. Aplicaciones medioambientales (CROMA)”, Departamento de Química Analítica y Química Orgánica, Facultat de Química, Campus Sescelades, Universitat Rovira i Virgili

Día y lugar defensa: 20 de abril del 2023. Facultat de Química de la Universitat Rovira i Virgili

Resumen:

En la actualidad, existe la necesidad de determinar contaminantes orgánicos emergentes en muestras ambientales debido a su uso generalizado y los problemas de contaminación que provocan en el medio ambiente. Por ello, se deben desarrollar métodos analíticos selectivos y sensibles para determinar estos contaminantes.

Dentro de los métodos analíticos, la preparación de muestras es una etapa crítica. Se pueden utilizar varias técnicas de extracción, siendo la extracción en fase sólida (SPE) o extracción por sorción en barra agitadora (SBSE), entre otras de reciente desarrollo, las más utilizadas para el tratamiento de muestras líquidas. Además, en los últimos años, la preparación de materiales que combinan elevada retención y selectividad ha sido el foco de interés en la investigación de técnicas de extracción por sorción.

Esta Tesis Doctoral se centra en el desarrollo y evaluación de materiales de intercambio iónico de modo mixto para diferentes técnicas de extracción para abordar problemas analíticos ambientales.

La primera sección se centra en la preparación de materiales de intercambio iónico de modo mixto *hypercross-linked* y su evaluación por SPE para extraer analitos ionizables de aguas ambientales. La novedad de estos estudios se basa en la introducción del carácter zwitteriónico al sorbente que permite extraer analitos ácidos y básicos de forma simultánea y selectiva de la muestra.

En la sección dedicada a las técnicas SBSE y microextracción en fase de cápsula (CPME), se sintetizaron materiales de intercambio iónico en modo mixto para ser utilizados como recubrimientos para el SBSE y CPME de un grupo de compuestos ionizables.

Los métodos desarrollados que utilizan cromatografía líquida seguida de espectrometría de masas en tándem se validaron y aplicaron para determinar selectivamente los compuestos estudiados en diferentes muestras de agua ambiental.

NUEVAS TESIS DOCTORALES



“Estrategias analíticas avanzadas para controlar la seguridad alimentaria. Aplicación de nuevos materiales y técnicas de micro-extracción para el análisis de tóxicos naturales y de procesado en los alimentos”

Autor: **Lorena González Gómez**

Directora: Dra. María Isabel Sierra Alonso

Grupo de investigación: Química Analítica Aplicada a Medioambiente, Alimentos y Fármacos de la Universidad Rey Juan Carlos (GQAA-MAF).

Día y lugar defensa: 19 de enero de 2023. Escuela Superior de Ciencias Experimentales y Tecnología, Universidad Rey Juan Carlos

Resumen:

Los contaminantes químicos, como los tóxicos naturales o los contaminantes generados por el procesado, son un problema que preocupa a nivel mundial debido a las consecuencias que generan sobre la salud humana cuando se consumen a través de los alimentos. Por esta razón, el control de estas sustancias desarrollando nuevas metodologías analíticas sensibles, rápidas, efectivas y sostenibles es primordial para conseguir una adecuada seguridad alimentaria.

El objetivo principal de esta Tesis Doctoral ha sido desarrollar nuevas estrategias analíticas basadas en la aplicación de nuevos materiales a base de sílice mesoestructurada funcionalizada con diferentes ligandos para ser aplicados como adsorbentes de la extracción en fase sólida (SPE) o la extracción en fase sólida dispersiva (dSPE). Por otro lado, un segundo objetivo se ha centrado en desarrollar estrategias basadas en técnicas micro-extractivas, como son el μ -QuEChERS y la técnica μ SPEed[®]. La combinación de estas técnicas con la cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas en tándem (HPLC-MS/MS) ha permitido el control de contaminantes químicos, concretamente de algunos contaminantes del procesado como son la acrilamida, el hidroximetilfurfural, el furfural y el 5-metilfurfural, y de toxinas naturales de la familia de los alcaloides tropánicos, como son la atropina y la escopolamina, en diferentes tipos de alimentos. Estas metodologías han contribuido al conocimiento acerca de la presencia de los contaminantes químicos mencionados en muestras no estudiadas, como son los alimentos a base de insectos, barritas de cereales, harinas sin gluten, cereales, pseudocereales, legumbres, hierbas aromáticas, especias, infusiones y verduras.

De manera general, las metodologías analíticas desarrolladas junto con los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral suponen un avance en el campo de la Química Analítica permitiendo contribuir a un mejor control de la seguridad alimentaria.



“Seafood as a link between high production volume chemicals contamination and population health”

Autor: **Óscar Castro Serrano**

Directores: Prof. Eva Pocurull y Prof. Francesc Borrull

Grupo de investigación: Cromatografía. Aplicaciones medioambientales (CROMA), Dpto. de Química Analítica y Química Orgánica, Facultat de Química, Universitat Rovira i Virgili
 Día y lugar defensa: 11 de mayo del 2023. Facultat de Química de la Universitat Rovira i Virgili

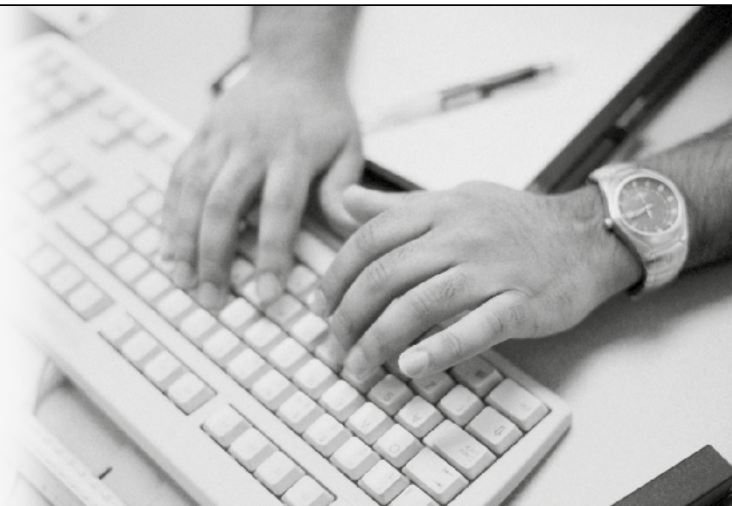
Resumen:

Las sustancias químicas de alto volumen de producción (AVPs) se producen o fabrican en más de 1000 toneladas al año en el Espacio Económico Europeo. Las fragancias sintéticas de almizcle, los ésteres de ftalato, los ésteres organofosforados, los benzotiazoles, los benzotriazoles y las benzosulfonamidas son sólo algunas de las familias de compuestos etiquetados como AVPs. Su extenso uso tanto en productos industriales como del día a día ha dado lugar a una presencia generalizada de estos compuestos, que, una vez liberados, llegan al medio acuático y, en consecuencia, a los organismos que lo habitan. La bioacumulación de los AVPs en pescado y marisco se ha convertido en motivo de preocupación debido a su posible ingesta alimentaria a través del consumo de estos alimentos. Los efectos negativos para la salud asociados a estos compuestos han despertado la necesidad de monitorizar su presencia en estos especímenes. Para ello, se necesitan métodos analíticos fiables y sensibles.

La presente Tesis Doctoral se centra en el desarrollo y aplicación de metodologías analíticas para la determinación de diferentes familias de AVP en muestras de pescado y marisco utilizando procedimientos novedosos de extracción seguido de cromatografía de gases-espectrometría de masas en tándem. Para ello se han desarrollado métodos que implican técnicas de extracción como SPME Arrow o alternativas más ecológicas, fáciles y rápidas a las metodologías anteriormente descritas. Los métodos se han aplicado a muestras de pescado y marisco, incluyendo las especies más consumidas de Cataluña y Canarias, para proporcionar datos útiles sobre la presencia de AVPs en especies de consumo habitual. Se han realizado también evaluaciones de exposición y riesgo para dilucidar el posible riesgo asociado al consumo de estos alimentos. Además, se ha llevado a cabo un estudio preliminar sobre la bioaccesibilidad de los AVPs más relevantes en pescado crudo y cocinado.

NOTA DE REDACCIÓN

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





EMPRESAS colaboradoras

PROTECTORAS

- AGILENT TECHNOLOGIES SPAIN, S. L.
Parque Empresarial Alvia
José Echegaray, 8. Edif. 3, Planta 1.^a
28232 LAS ROZAS (Madrid)
- BRUKER ESPAÑOLA, S. A.
Avda. Marie Curie, 5
Edificio Alfa – Pta. Baja
(Parque Empresarial Rivas Futura)
28529 RIVAS-VACIAMADRID
(Madrid)
- PERKIN ELMER ESPAÑA, S. L.
Avda. de los Encuartes, 19
28760 TRES CANTOS (Madrid)
- SCIEX SPAIN, S. L.
Valgrande, 8
Edificio Thanworth II, Nave B1A
28108 ALCOBENDAS (Madrid)
- TEKNOKROMA ANALÍTICA, S. A.
Camí de Can Calders, 14
08173 SANT CUGAT DEL VALLÈS (Barcelona)
- THERMO FISHER SCIENTIFIC
Avda. de la Vega, n.º 1. Edif. 1 Planta 4
28108 ALCOBENDAS (Madrid)
- WATERS CROMATOGRAFÍA, S. A.
Ronda Can Fatjó, 7-A
Parc Tecnologic del Vallès
08290 CERDANYOLA DEL VALLÈS (Barcelona)

ASOCIADAS

- INGENIERÍA ANALÍTICA, S. L.
Avda. Cerdanyola, 73
08172 SANT CUGAT DEL VALLÈS (Barcelona)
- IZASA SCIENTIFIC, S. L. U.
Plaza de Europa, 21-23
08908 L'HOSPITALET DE LLOBREGAT (Barcelona)
- LECO INSTRUMENTOS, S. L.
Avda. de la Industria, 43
28760 TRES CANTOS (Madrid)
- SCHARLAB, S. L.
Gato Pérez, 33
Polígono Industrial Mas D'en Cisa
08181 SENTMENAT (Barcelona)
- SCION INSTRUMENTS IBÉRICA
Forjadores, 16
28660 BOADILLA DEL MONTE (Madrid)
- SYMTA, S. L. L.
San Máximo, 31
28041 MADRID
- SUGELABOR
Sicilia, 36
28038 MADRID



NOTAS TÉCNICAS



BRUKER; NEW PARADIGM IN REAL TIME ANALYSIS

DART-MS combined with LCMSMS gives the full picture

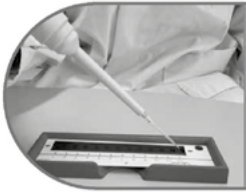
Introduction


The growing demand for forensic analytics is driven by the increasing number of targets, including emerging new psychoactive substances (NPS). This has put pressure on labs to handle larger caseloads while also improving the selectivity and sensitivity of analyses to reduce sample preparation and analysis time, ultimately shortening response time and increasing throughput. Direct-Analysis-in-Real-Time Mass Spectrometry (DART-MS) as Bruker's unique Point-of-Need (PoN) workflow is meeting these demands, allowing for quick and easy generation of useful information and increased productivity in labs.

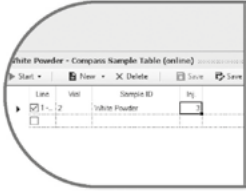
But how can you interpret your data?


When it comes to interpreting DART-MS results, it can be a difficult task if you don't have access to forensic MS database tools. However, Bruker has developed an automated library search for DART-MS/MS data that solves this problem. Therefore, home-built libraries as well as external databases such as those from NIST can be used to generate sample reports in under 15 seconds, making it highly efficient. As a result, this feature improves the workflow, reduces cycle times, and enhances screening accuracy cycle times, and enhances screening accuracy.

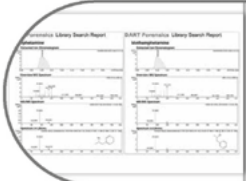
Access your report through just 5 simple steps

- 

1
Pipette your sample onto the QuickStrip
Let the drop dry at room temperature
- 

2
Put the QuickStrip at your sample holder of the DART source
- 

3
Create sample table
- 

4
Start DART acquisition after setting the parameters
- 

5
A sample report is created automatically, and you're done!

By utilizing this chromatography-free workflow, you can reduce the sample preparation required and achieve a rapid analysis. Once the sample is introduced to the instrument and method initiated, a report is automatically and rapidly generated.

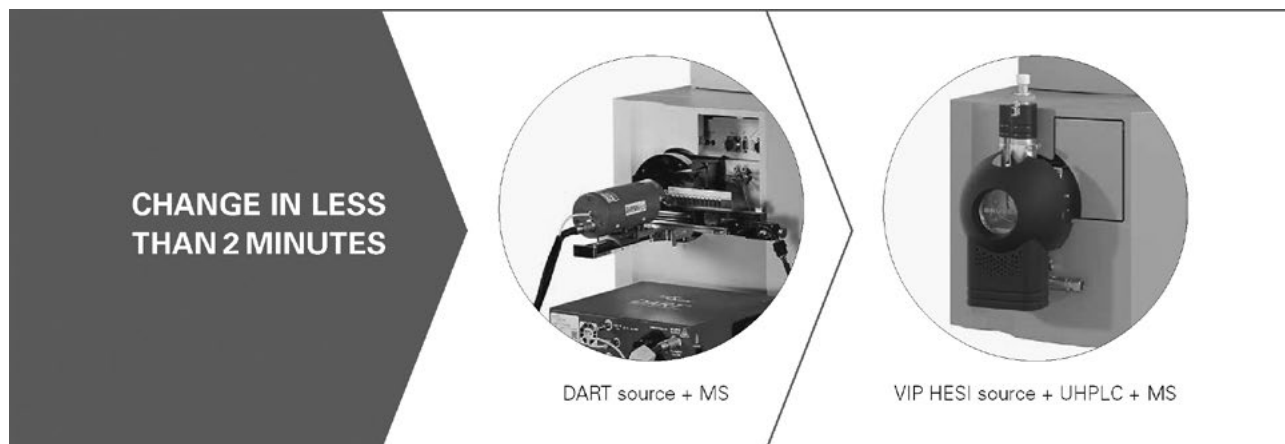
In just a few seconds, you can get from sample to report, using the automation capabilities in Bruker's software.

NOTAS TÉCNICAS

What if further detailed analysis is required

In forensic cases, chromatographic information is frequently required for your analysis to be defensible in court.

You can easily switch from chromatography-free DART-MS analysis to liquid chromatography (LC) analysis in under 2 minutes.

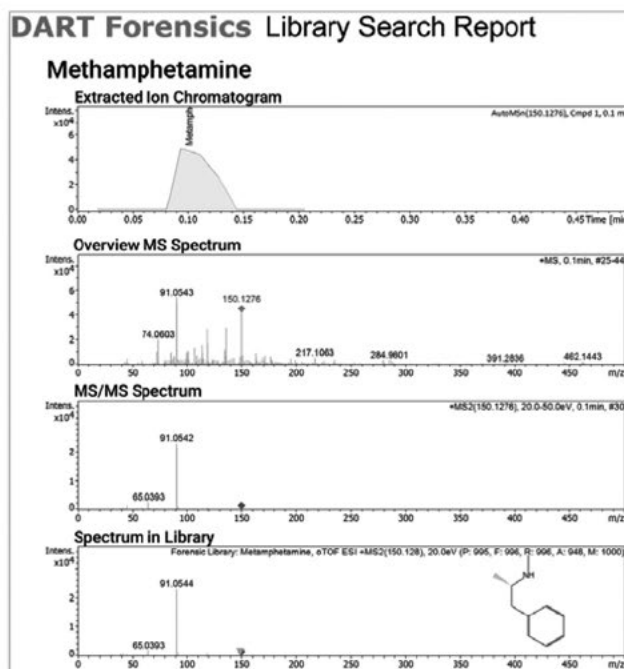
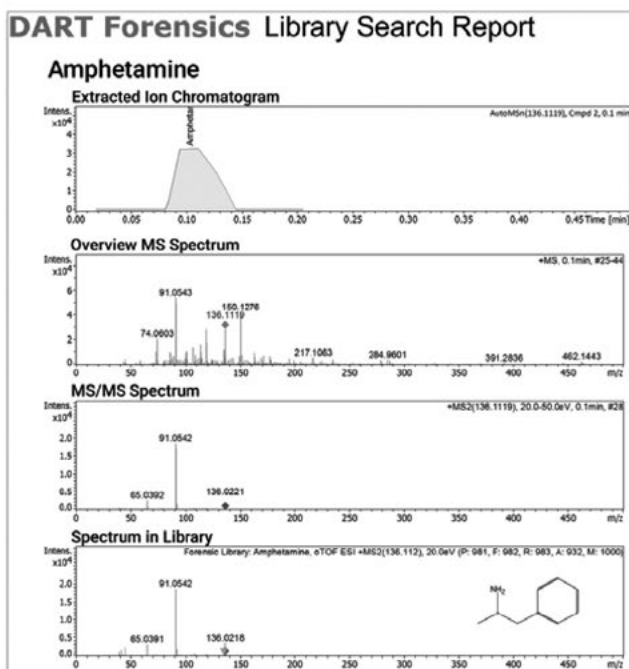


Switch between DART and LCMSMS in Bruker QTOF, an extraordinary versatility.

Confidence in your analytical results

Without any need of extraction, you can directly measure your sample. With the MS/MS spectral information

and accurate mass provided by the QTOF instrument, confidence in your analytical results is improved. With Bruker's automated library search, your report will be delivered to you directly.



Automatic identification by library search and reporting with confirmation MS and MS/MS.

Conclusion

The unique combination proposed offers fast analysis for high throughput, easy of use with direct analysis from sampling to report. The versatility to combine the LC/MSMS analysis and DART, allows to change in less than 2 minutes and complete the full picture for ID and quantification in forensic samples or any other application, which needs easy unknown compounds identifications.

Contact with us if you want to see more details, or design your own experiment with your samples.

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

Bruker Española, S.A.

Parque Empresarial Rivas Futura
C/ Marie Curie, 5. Edificio Alfa
28521 Rivas-Vaciamadrid
Madrid – Spain
Tel.: 91 499 46 34 / 40 80
Fax: 91 656 62 37
Info-bcad-spain@bruker.com



DISTINGUISHING OXIDATIVE IMPURITIES FROM IONIZABLE LIPIDS USED IN LNP FORMULATIONS USING ELECTRON ACTIVATED DISSOCIATION

Achieving structural elucidation and distinction of oxidative isomer impurities of lipids with electron-activated dissociation (EAD) and the ZenoTOF 7600 system

Adam Crowe¹, Nikita Jain¹, Rehan Higgins¹, Robert Proos², Matthew Stone² and Kerstin Poh²

¹ Precision NanoSystems Inc., Canada; ² SCIEX, USA

In this technical note, the comprehensive characterization of impurities from the ionizable lipid (6Z,9Z,28Z,31Z)-heptatriaconta-6,9,28,31-tetraene-19-yl- (dimethylamino)butanoate, commonly known as DLin-MC3-DMA (MC3), is presented. Deep structural elucidation, including the localization of different oxidation products and saturation of double bonds in MC3, was achieved using EAD.

Lipid nanoparticles (LNPs) that are comprised of ionizable lipids are used to deliver oligonucleotides to work as therapeutics or to stimulate the immune system, as in the initial mRNA-based COVID vaccines. A recent study reported that N-oxidation of ionizable lipids might lead to covalent modification of ribonucleotides and a loss of mRNA potency.¹ To ensure product quality, detailed and sensitive characterization of the ionizable lipid and its related impurities is necessary. However, obtaining the level of detail needed is challenging with current liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS)-based methodologies. Collision-induced dissociation (CID) provides head group and acyl or alkyl chain sum composition information but does not provide structural details. Data from alternative fragmentation techniques can help localize double bond positions within acyl or alkyl chains but alternative methods suffer from inefficient fragmentation, especially for singly charged species. They require long duty cycles or collision cell modifications to allow for the introduction of ozone. Only EAD has efficiently provided complete characterization of different naturally occurring lipids in a single LC-MS run.^{2,3}

Here, the applicability of this novel fragmentation mode for the detailed characterization of lipids used for LNPs was tested using MC3 and its related impurities as a model. Within a single experiment, the exact locations of oxygen incorporation of 2 isomeric species and the double bond reduction of another re-

lated impurity were pinpointed using the unique fragment ions produced by EAD. This information can be used to determine drug efficacy and safety from formulated LNPs. Additionally, it can be used to aid rational design of new synthetic lipids.

Key features of lipid impurity characterization with EAD

- Confident detection of low-level impurities with the ZenoTOF 7600 system and more than 5 orders of dynamic range
- Information-rich MS/MS spectra for definitive and distinct structural elucidation of related and isomeric singly charged lipid species with EAD
- Detection and identification of lipid impurities at levels below 0.01 % relative abundance of the main peak by greatly enhanced fragment detection with the Zeno trap

Methods

Sample preparation: A stock solution of MC3 (2 mg/mL) was diluted 1:10 in mobile phase A, consisting of 15:30:55, water/acetonitrile/methanol with 10mM ammonium acetate.

Chromatography: Two μL of the diluted MC3 sample (0.2 mg/mL) was injected onto an ExionLC AD system equipped with a reversed-phase column (C18,

1.7 μm , 2.1 \times 150 mm). The column oven was set to 70 $^{\circ}\text{C}$. A total runtime of 27 min was used with a flow rate of 0.5 mL/min. Mobile phase A is described above and mobile phase B was 60:40, acetonitrile/methanol with 10 mM ammonium acetate. Chromatographic conditions are described in Table 1.

Table 1. LC conditions.

Time (min)	% A	% B
Initial	100	0
2.0	100	0
11	0	100
21	0	100
21.1	100	0
27	100	0

Mass spectrometry: Data were acquired using SCIEX OS software on the ZenoTOF 7600 system in positive polarity. Data were collected from a single injection, using a combination of data-dependent acquisition (DDA) and a targeted approach that implemented an inclusion list. To compare the information generated from CID with EAD, both fragmentation techniques were used in separate experiments. Relevant MS parameters for the EAD method are described in Tables 2 and 3. CID fragmentation was acquired using a collision energy of 40 V and a 10 ms accumulation time.

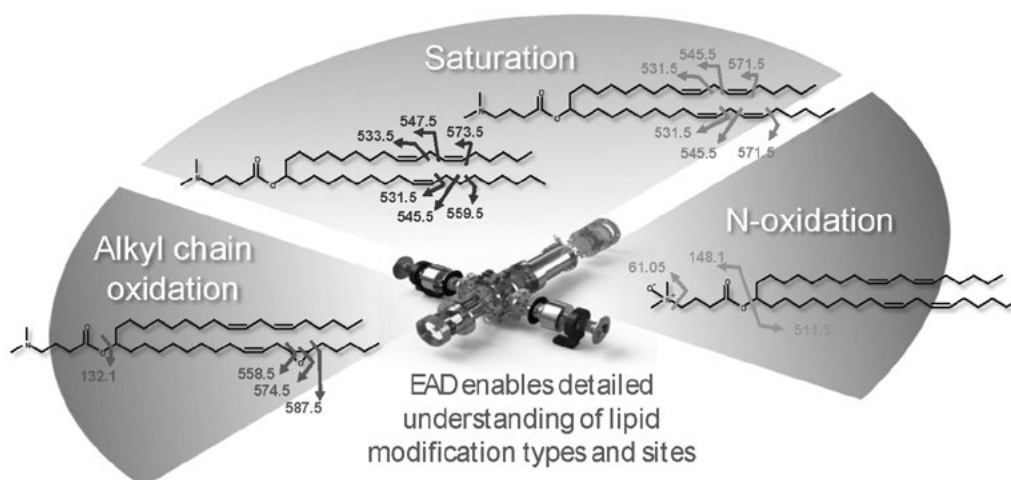


Figure 1. Location of bonds uniquely fragmented by EAD within the structure of MC3 and its related impurities. Arrows point to bonds in MC3 and its related impurities that were unique bond cleavages using EAD. These sites were used to localize specific sites of oxygen incorporation and double bonds to elucidate compound structures.

Table 2. TOF MS and EAD MS/MS parameters.

Parameter	MS	MS/MS
Scan mode	TOF-MS	DDA
Polarity	positive	
Gas 1	60 psi	
Gas 2	80 psi	
Curtain gas	35 psi	
Source temperature	450 °C	
Ion spray voltage	5500 V	
Declustering potential	60 V	
Collision energy	10 V	12 V
CAD gas	7	
Workflow	Small molecule	
Maximum candidate ion	2-5*	
Intensity threshold	10,000 cps	
Exclusion time	5 s after 3 occurrences	
Inclusion list	Intensity threshold 1000 cps (see Table 3)	
Exclusion list	Active (common background ions)	
Start mass	300 <i>m/z</i>	20 <i>m/z</i>
Stop mass	1,000 <i>m/z</i>	1,000 <i>m/z</i>
Electron KE	N/A	15 eV
Electron beam current	N/A	5000 nA
ETC	N/A	100
Reaction time	N/A	30 ms
Zeno trap	N/A	ON
Accumulation time	0.1 s	0.095-0.605 s*
Time bins to sum	6	6

* Initial screening was performed with 5 candidate ions and 0.095 s accumulation time. For highest data quality, 2 candidate ions and 0.605 s accumulation time were used.

Data processing: Structural elucidation was performed and relative quantification was determined using the Explorer and Analytics modules of SCIEX OS software, respectively.

Detection of MC3 and low abundance impurities

MC3 is the ionizable lipid used in LNP formulations for the therapeutic siRNA, patisiran. Like other ionizable lipids, its structure (Figure 1) contains a tertiary amine. The amine is on a 3-carbon head group that is bonded via an ester linkage to 2 separate but identical alkyl chains, each containing double bonds at C6 and C9. A preparation of MC3 was subjected to reversed-phase LC-MS analysis using the ZenoTOF 7600 system.

Table 3. Inclusion list for MS/MS method.

Compound	<i>m/z</i>
[MC3 - 2H + H] ⁺	640.6027
[MC3 + H] ⁺	642.6184
[MC3 + 2H + H] ⁺	644.6340
[MC3 + O + H] ⁺	658.6133
[MC3 + 2O + H] ⁺	674.6082
[MC3 - CH ₂ + H] ⁺	628.6027
[MC3 + H ₂ O + H] ⁺	660.6289

Chromatographic separation showed a main peak (MP MC3) at 15.46 min (Figure 2, top). In addition, several low abundance impurity peaks were observed at less than 0.3 % relative intensity of the MP at 13.1, 13.4 and ~1 % at 16.9 min. Peaks at less than 0.01 % relative intensity of the MP were also observed (data not shown), demonstrating the wide interscan dynamic range of the ZenoTOF 7600 system for lipid impurity analysis. Table 4 summarizes various impurities identified and their abundances, based on TOF MS peak area relative to the MP.

Table 4. Compounds identified in the MC3 sample using EAD and their relative abundances based on TOF MS peak area.

Compound	Relative abundance [%]	<i>m/z</i> error [ppm]
MC3	97.9	0.2
Saturation at C6 of alkyl chain	1.11	-1.1
Desaturation at C3 of alkyl chain	0.41	-0.5
N-de-methylation	0.19	-1.6
Oxidation of head group	0.15	-0.3
De-methylation of alkyl chain	0.10	-1.3
Oxidation at C6 of alkyl chain	0.06	-0.4
De-ethylation of alkyl chain	0.03	-3.2

Confirmation of MC3 structure

The *m/z* observed by TOF MS for the singly charged MP (Figure 2, bottom left) matched the theoretical *m/z* of MC3 within 1 ppm. This *m/z* was selected for fragmentation using either CID (Figure 2, middle right) or EAD (Figure 2, bottom right). Compared to CID, EAD provided a more information-rich spectrum,

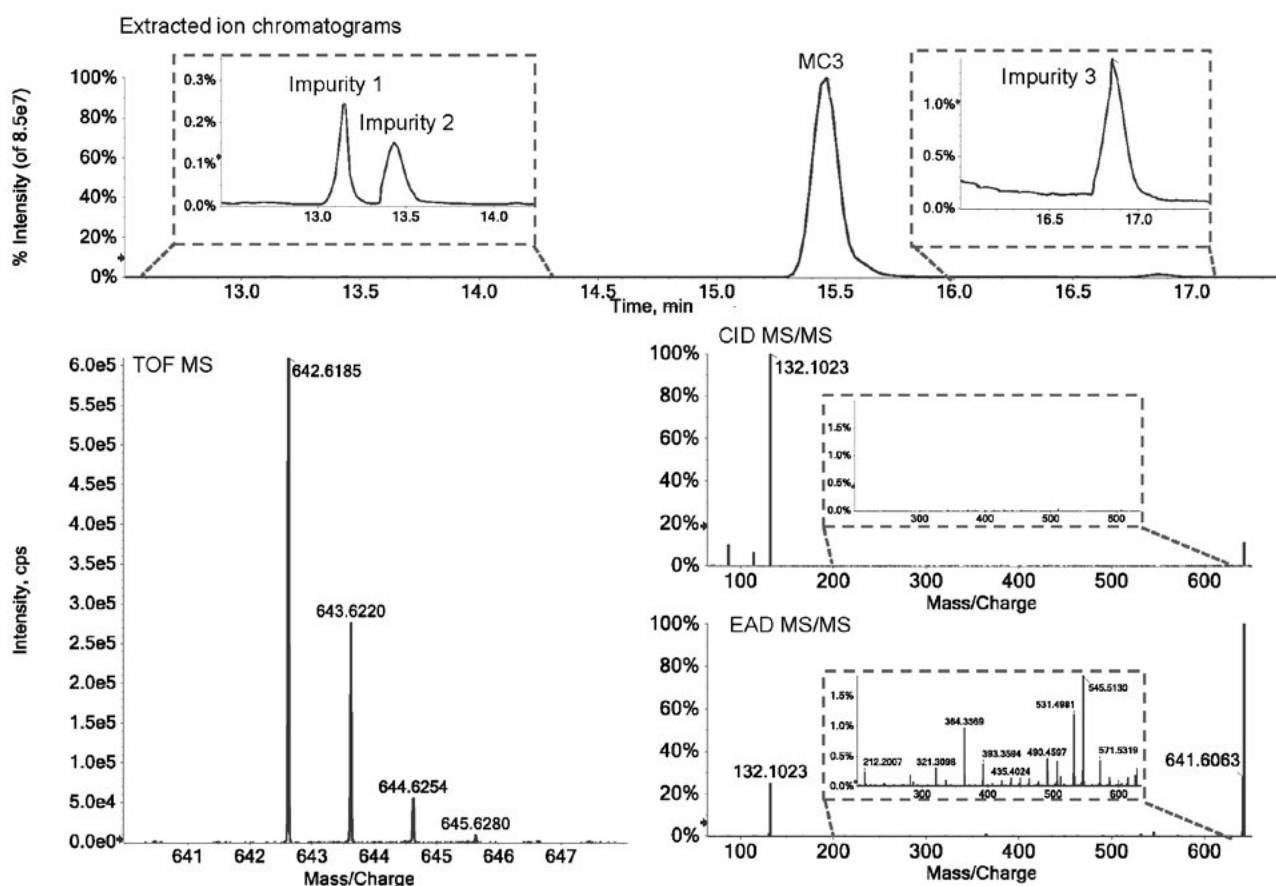


Figure 2. Structural confirmation of MC3 by LC-MS/MS using EAD. Top) Extracted ion chromatograms of the MC3 main peak and select detected impurities, shown in insets. Bottom left) TOF MS of the MC3 main peak and bottom right) MS/MS spectra of MC3 acquired by CID or EAD are shown. The insets in the MS/MS spectra demonstrate the richness of spectral depth that is generated from EAD but not CID.

as evident by comparison of both insets. More than 100 peaks generated by EAD could be assigned to structures from in silico-derived fragments within less than 0.01 mDa mass error, compared to approximately 10 fragment ions generated from CID. The fragments generated by EAD were used to define discreet parts of MC3 to confirm its structure more confidently than with CID. For example, fragment ions at m/z 505.5, 531.5, 545.5 and 571.5 were used to confirm localization of double bonds at C6/C31 and C9/C28 (m/z were rounded to facilitate readability). Although CID and EAD both produced a product ion at m/z 132.1 that represents the dimethylamino butanoate head group, only EAD produced the complementary fragment ion at m/z 511.5 that represents the 2 identical alkyl chains. Overall, EAD could uniquely provide the fine structural details to confirm the exact structure of the MP as the singly charged MC3.

Site-specific localization of oxygen incorporation from 2 isomeric impurities

In addition to the MP, several impurity peaks were observed from the LC-MS chromatogram. Two peaks that eluted at 13.1 and 13.4 (Impurity 1 and Impurity 2, respectively) had the same precursor m/z of ~659 and isotopic distribution (Figure 3, top). An increase of ~16 amu was observed for these peaks compared to the MP MC3, indicating that these isomers each contained the addition of an oxygen atom. To elucidate the structures of these isomers, MS/MS was performed with either CID (Figure 3, bottom) or EAD (Figure 4). Despite the relatively low abundance of these impurity peaks (0.1-0.3% of the MP), high spectral quality was observed for both fragmentation modes, which can be attributed to the use of the Zeno trap.

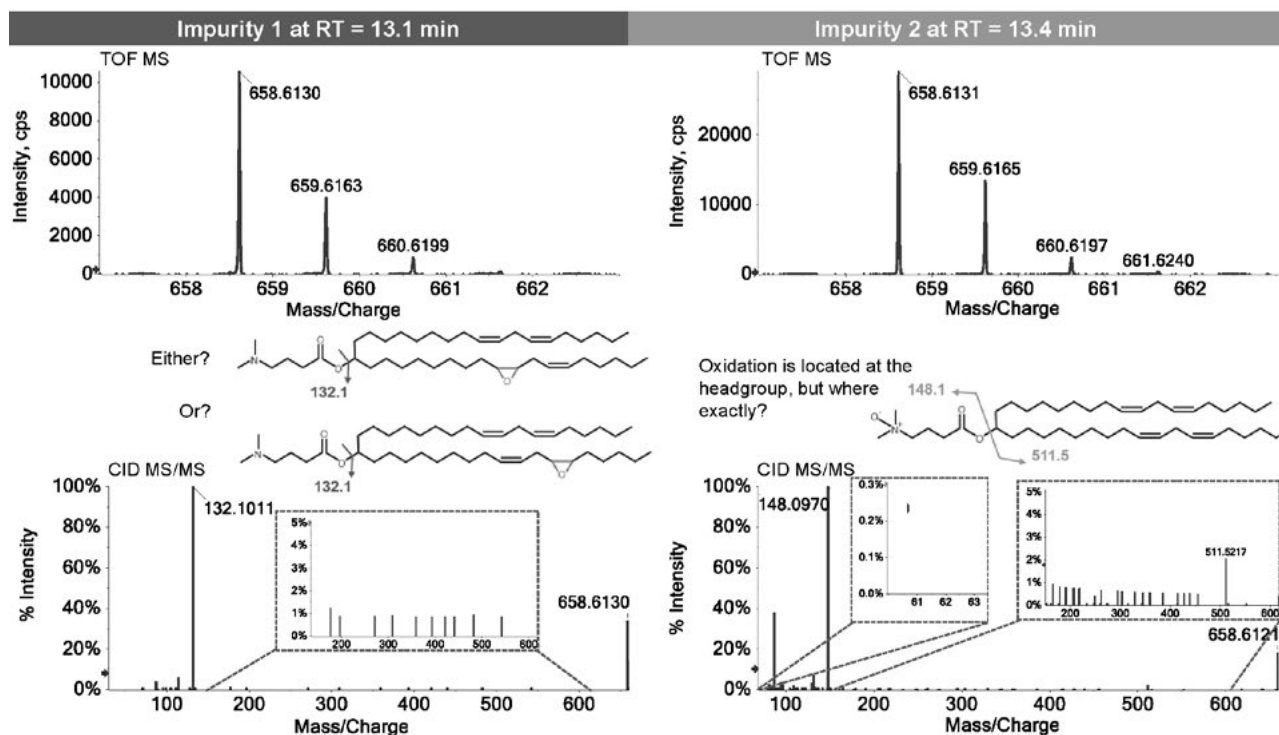


Figure 3. Data from 2 oxidative impurity isomers of MC3. Top) TOF MS data of 2 MC3-related impurities that elute before MP MC3 at 13.1 and 13.4 min (see Figure 2). Both impurities show highly similar MS1 data with an increase in ~16 amu compared to MP MC3. The earlier elution time and the ~16 amu mass shift suggest oxygen incorporation. Bottom) CID MS/MS spectra of the 2 impurities. The insets show the limited fragment ion data acquired by CID. For both impurities, the exact location of the suggested oxygen incorporation remained unclear using CID MS/MS. For readability purposes, fragment m/z values were rounded.

The CID spectrum for Impurity 1 (Figure 3, left) provided the previously discussed m/z 132.1 of the head group, suggesting that the increase of ~16 amu occurred on the alkyl chains.

However, the position of the potential oxygen incorporation could not be determined based on the marginal MS/MS information derived from CID. Impurity 2 contained a unique peak at m/z 148.1 that was not observed in the MP MC3 MS/MS spectra. A peak at m/z 132.1 representing the dimethylamino butanoate head group was not observed. The increase of ~16 amu suggested that oxygen incorporation occurred somewhere within the head group but further information to confirm a specific position was missing in the CID spectrum.

In contrast to CID, EAD resulted in comprehensive fragmentation of both oxidated isomers (Figure 4). These results were similar to those observed for the MP MC3, further demonstrating the spectral quality

of EAD for low abundance species and the excellent sensitivity of the ZenoTOF 7600 system.

The fragment ion at m/z 132.1 of Impurity 1 in the EAD spectrum suggested that oxygen incorporation resided on the alkyl chains and not within the dimethylamino butanoate head group. In addition, several unique fragment ions between m/z 500-600 (Figure 4, top) were generated with EAD, that were not found for the MP MC3. The CID spectra of Impurity 1 did not contain these ions or other ions to define the structural details of the alkyl chains (Figure 3, bottom). The presence of these ions could only be explained by the addition of oxygen between C5/C32 and C6/C31. From these data, an epoxide at this position in the structure of Impurity 1 was proposed (Figure 4, top). The lack of diagnostic ions at m/z 61.05 and m/z 511.5, described below, further confirmed that the addition of oxygen did not reside within the head group.

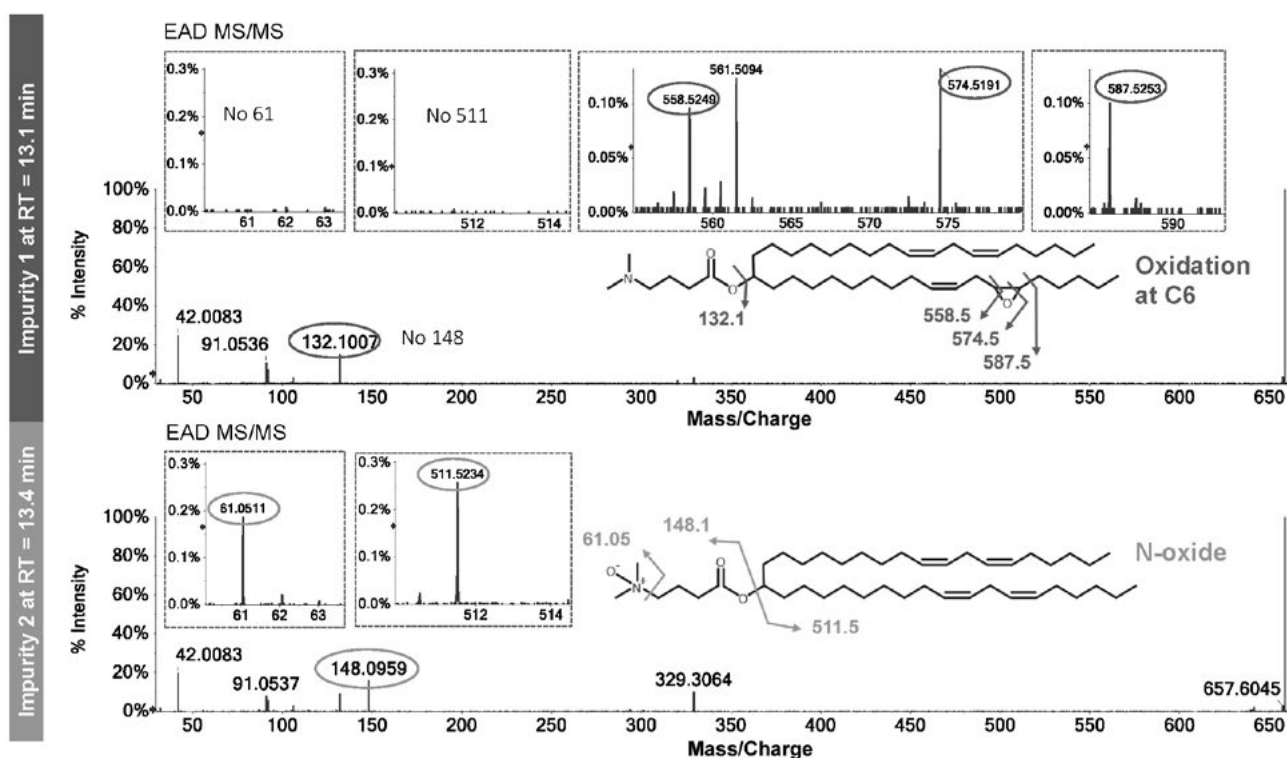


Figure 4. Distinction of 2 oxidative impurity isomers of MC3 by EAD. The EAD MS/MS spectra and the unique ions that were generated and used to identify and discriminate between the 2 oxygenated isomers are shown. Specific ions observed at m/z 558.5, 574.5 and 587.5 show oxygen incorporation at C6/C31 of the alkyl chain for Impurity 1 (top). The specific fragment ion at m/z 61.05 showed that oxygen incorporation was in the tertiary amine (N-oxide) of Impurity 2 (bottom). For readability purposes, fragment m/z values were rounded.

Both CID and EAD product ion spectra for Impurity 2 contained a unique peak at m/z 148.1 that was not observed in the MP MC3 product ion spectra. A peak at m/z 132.1 representing the dimethylamino butanoate head group was not observed. The increase of ~16 amu suggested an oxygen incorporation within the structure of the dimethylamino butanoate head group. The EAD spectra of Impurity 2 showed the presence of the m/z 511.5 ion, which was also observed in the MP MC3 EAD spectra (data not shown). The lack of any mass shift by ~16 amu for this ion and other ions assigned to other structures within the alkyl chains further substantiated oxygen incorporation within the head group. A unique ion at m/z 61.05 within the EAD fragment ion spectra of Impurity 2 was also observed. This ion could only be explained by a structure in which oxygen was incorporated within the dimethylamino group itself, thereby greatly restricting possible structures that could represent Impurity 2. As such, Impurity 2 was identified as the N-oxide species. Only EAD

could provide this level of detail for both low level impurities.

Site-specific determination of a saturation impurity of MC3 using EAD

In addition to oxygen incorporation, other impurities were observed within the chromatogram of the MC3 preparation. The impurity peak that eluted at 16.9 min showed a gain of ~2 amu compared to the MP MC3. Fragmentation of this impurity peak by EAD resulted in unique ions at m/z 533.5, 547.5, 559.5 and 573.5 (encircled m/z in Figure 5). These ions had an increase of ~2 amu compared to ions from the MP MC3. The EAD data for MC3 showed a unique ion at m/z 571.5 (encircled m/z Figure 5). Common fragment ions at m/z 531.5 and 545.5 were observed for both species. Taken together, these data demonstrated that the impurity was a result of 1 double bond reduction by the gain of 2 protons specifically at the C6/C31 position (Figure 5).

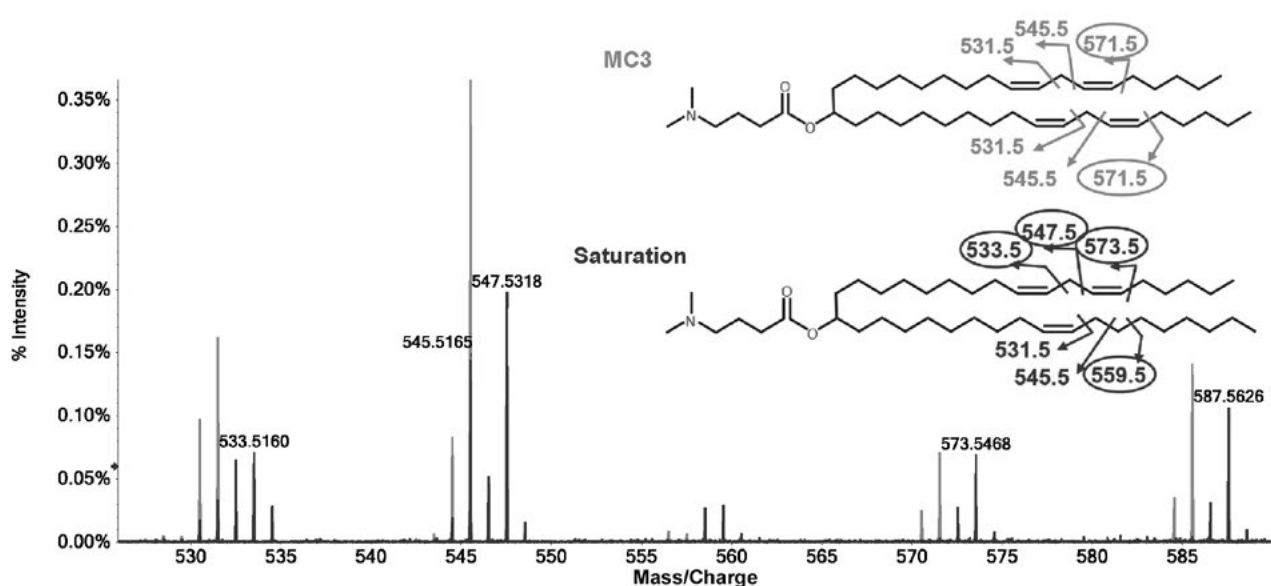


Figure 5. Specific localization of a reduced double bond on an MC3 impurity using EAD. Overlay of EAD MS/MS spectra of the main peak MC3 and impurity peak that eluted at 16.9 min (see Figure 2). Unique ion pairs at m/z 558.5/559.5 and 572.5/573.5 indicated the location of 1 double bond reduction at C6/C31. For readability purposes, fragment m/z values were rounded. Unique fragment ions for each species are encircle.

Outlook

EAD was used to characterize the structures of the ionizable lipid MC3 and low-level related impurities. This was achieved in a single-injection LC-MS/MS experiment that used a 20 min gradient. Compared to other fragmentation techniques, the resulting product ion data were comprehensive and provided in-depth structural detail throughout the lipid species analyzed. Data from EAD were used to distinguish structural isomers of 2 MC3 oxidative impurities and determine specific sites of oxygen incorporation. These data were also used to localize specific sites of double bonds and related saturation impurities.

Complete structural analysis of lipids using EAD is not limited to MC3. It has also been used to provide complete structural details of glycerophospholipids^{2,3} and other ionizable lipids and their related impurities. This technique can be used to provide rapid, sensitive and detailed structural analysis of lipids within LNP formulations for liability studies and for raw material testing. No other MS-based fragmentation technique can provide this level of structural detail for singly charged species. Overall, the information provided by EAD can enhance product quality and safety of LNP-formulated products. Additionally, it can help guide synthesis and development of novel ionizable lipids that have higher quality, stability and therapeutic

efficacy to further unlock the potential of RNA-based therapeutics and vaccines.

Conclusions

- Increased efficiency by obtaining in-depth structural characterization of singly charged, ionizable lipids and related impurities within a single LC-MS/MS run
- Improved risk assessment of raw material and formulated LNPs through structural distinction and site-specific localization of molecular oxygen incorporation of MC3 structural isomer impurities with Zeno EAD
- Increased confidence in product quality assessment by determination of exact double bond locations in MC3 and specific sites of double bond saturation from related impurities using Zeno EAD
- Decreased risk of missing critical low abundance impurities due to great interscan dynamic range and relative quantification capabilities of the ZenoTOF 7600 system
- Accelerating lipid formulation assessment by extension of the Zeno EAD method to other lipid species for detailed structural elucidation of main compound and impurities

NOTAS TÉCNICAS

References

1. Packer, M., Gyawali, D., Yerabolu, R. et al. 2021: A novel mechanism for the loss of mRNA activity in lipid nanoparticle delivery systems. *Nat Commun* 12, 6777.
2. Complete structural elucidation of lipids in a single experiment using electron activated dissociation (EAD). SCIEX technical note, RUO-MKT-02-13050-B.
3. Systematic determination of lipid structure using electron activated dissociation (EAD). SCIEX technical note, RUO-MKT-02-14182-A.

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

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

© 2022 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-14983-A.



Headquarters

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

International Sales

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



MULTI-DETECTOR PLATFORM FOR COMPREHENSIVE IDENTIFICATION AND QUANTITATION OF EXTRACTABLES AND LEACHABLES

Paulina Pinedo-Gonzalez¹, Chongming Liu¹, Danny Hower¹, Dujuan Lu¹, Sven Hackbusch², Aaron Lamb³, Jon Bardsley³, Min Du⁴

¹SGS Health Science, Fairfield, NJ, USA; ²Thermo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA; ³Thermo Fisher Scientific, Hemel Hempstead, UK; ⁴Thermo Fisher Scientific, Cambridge, MA, USA

Keywords

Extractables, leachables, E&L methods pharma, Orbitrap Exploris 120 mass spectrometer, high-resolution accurate mass (HRAM), Vanquish Duo UHPLC system, Hypersil GOLD column, HRMS, charged aerosol detection (CAD), multi-detector, compound identification.

Application benefits

- Simultaneous acquisition of orthogonal UV, CAD, and MS data enables comprehensive untargeted extractables and leachables (E&L) screening.
- Mass proportional response of charged aerosol detection reduces the need for analytical uncertain factors (UF).
- Thermo Scientific™ Vanquish™ Duo system for Inverse Gradient allows higher confidence in semi-quantitation by providing uniform signal response for CAD.
- The workflow provides increased confidence and completeness of E&L analysis by extracting more data from a single injection and enabling coverage of nearly all semi-volatile to non-volatile compounds.

Goal

To develop a comprehensive multi-detection workflow utilizing LC, UV, CAD, and HRAM MS for confident extractables screening and HRAM MS-based compound identification. By utilizing universal mass proportional response detectors such as CAD, elimination of analytical uncertainty factors will be explored.

Introduction

The goal of an extractables study is the unbiased detection of all compounds contained in the different extracts obtained from the drug packaging, medical device, or component thereof, to allow the determination of an extractable profile that will guide the design of the subsequent leachables study (in the case of drug packaging) and toxicological risk assessment. To cover the wide range of organic and inorganic potential extractable compounds, multiple separation and detection techniques are used, most commonly utilizing LC/MS, GC/MS, and ICP/MS for non-volatile, volatile and semi-volatile, and inorganic species, respectively. LC/MS, often hyphenated with UV detection, is commonly used to detect and annotate the non-volatile fraction of extractable compounds. Due to the untargeted nature of the experiment and the need to determine confident elemental composition in the identification process, high-resolution accurate-mass (HRAM) mass spectrometry is routinely employed.

While it is not generally possible or feasible to determine the identity of all extractables in a study, relevant industry guidance and regulatory requirements indicate an analytical evaluation threshold (AET), above which the identification of the compounds in question is necessary for toxicological risk assessment. The AET is a sample- and analysis-specific threshold that can be derived, e.g., for drug packaging materials, from the safety concern threshold and the dose form and frequency, among others.¹ The use of AET requires quantitation of compounds during the identification process, which, due to the unavailability of reference standards, is commonly carried out with surrogate standards. Multiple such standards are used to provide estimated quantitation of unknown MS

peaks. However, MS signal intensity, while typically linear across large concentration ranges for a given analyte, can vary significantly between different compounds. UV detection is often employed as an alternative technique; however, it requires that the analyte contains a chromophore. Due to the uncertainty of the analyte response for unknown/unspecified compounds, the AET is adjusted using an uncertainty factor.

To overcome these limitations and lower the uncertainty of the concentration estimate of unknowns, charged aerosol detection (CAD) has been proposed as an orthogonal detector of non-volatile compounds. One benefit of CAD is that with constant mobile phase composition, the signal response is more uniform, enabling surrogate quantitation of unknown compounds based on an internal standard in a more confident way than using MS or UV response.^{2,3} To facilitate the use of CAD for semi-quantitation of unknown non-volatile compounds in the analysis of E&L samples, an inverse gradient setup can be used to compensate for the change in mobile phase composition during gradient separations of complex extractable mixtures. This is made possible in a compact and straightforward way using the Vanquish Duo UHPLC system for Inverse Gradient.³ Briefly, the Vanquish Duo system setup utilizes two UHPLC pumps incorporated into one module in the Thermo Scientific™ Vanquish™ Dual Pump F, with one pump generating the gradient flowing through autosampler and the analytical column and the other pump generating the inverse of the gradient in terms of the mobile phase composition (i.e., if the gradient pump provides a 1:9 ratio of mobile phases A:B, the inverse pump is set to 9:1). The two flow paths are merged behind the diode array detector (DAD) to result in a constant mobile phase composition at the CAD detector.

Here, we demonstrate the combination of the three detection techniques in one system to allow the concurrent measurement of UV absorption, CAD signal, and high-resolution accurate mass (HRAM) mass spectra from one injection. The performance of this system for extractables analysis is demonstrated in the analysis of an E&L standard mixture. Additionally, the application to the analysis of a sample extract and the workflow for identification of compounds prioritized based on CAD response is highlighted.

NOTAS TÉCNICAS

Experimental

Reagents and consumables	Part number
Water, UHPLC grade, Thermo Scientific™	W81
Acetonitrile, UHPLC grade, Thermo Scientific™	A9561
Formic acid, 99.0+%, Optima™ LC/MS grade, Fisher Chemical™	A117-50
Thermo Scientific™ SureSTART™ screw glass vial, 2 mL, Level 3	6PSV9-1PSS
Thermo Scientific™ SureSTART™ 9 mm screw caps, Level 3	6PSC9TST
TraceCERT™ Extractables and Leachables Screening Standard for LC, MilliporeSigma™ Supelco™	95636-1ML

- Thermo Scientific™ Vanquish™ System Base (P/N VF-S01-A-02)
- Thermo Scientific™ Vanquish™ Dual Pump F (P/N VF-P32-A-01)
- Thermo Scientific™ Vanquish™ Split Sampler FT (P/N VF-A10-A-02)
- Thermo Scientific™ Vanquish™ Column Compartment H (P/N VH-C10-A-03)
- Thermo Scientific™ Vanquish™ Diode Array Detector HL (P/N VH-D10-A) with Vanquish™ LightPipe™ flow cell, 60 mm (P/N 6083.0200B)
- Thermo Scientific™ Vanquish™ Charged Aerosol Detector H (P/N VH-D20-A)

Inverse gradient instrument setup

The setup discussed hereafter utilized a Thermo Scientific™ Vanquish™ Duo UHPLC system for Inverse Gradient, consisting of:

The UHPLC system was connected to a Thermo Scientific™ Orbitrap Exploris™ 120 mass spectrometer (P/N BRE725531). The flow path and the utilized components to enable the inverse gradient and simultaneous acquisition of CAD and MS data are detailed in Figure 1 and Table 1.

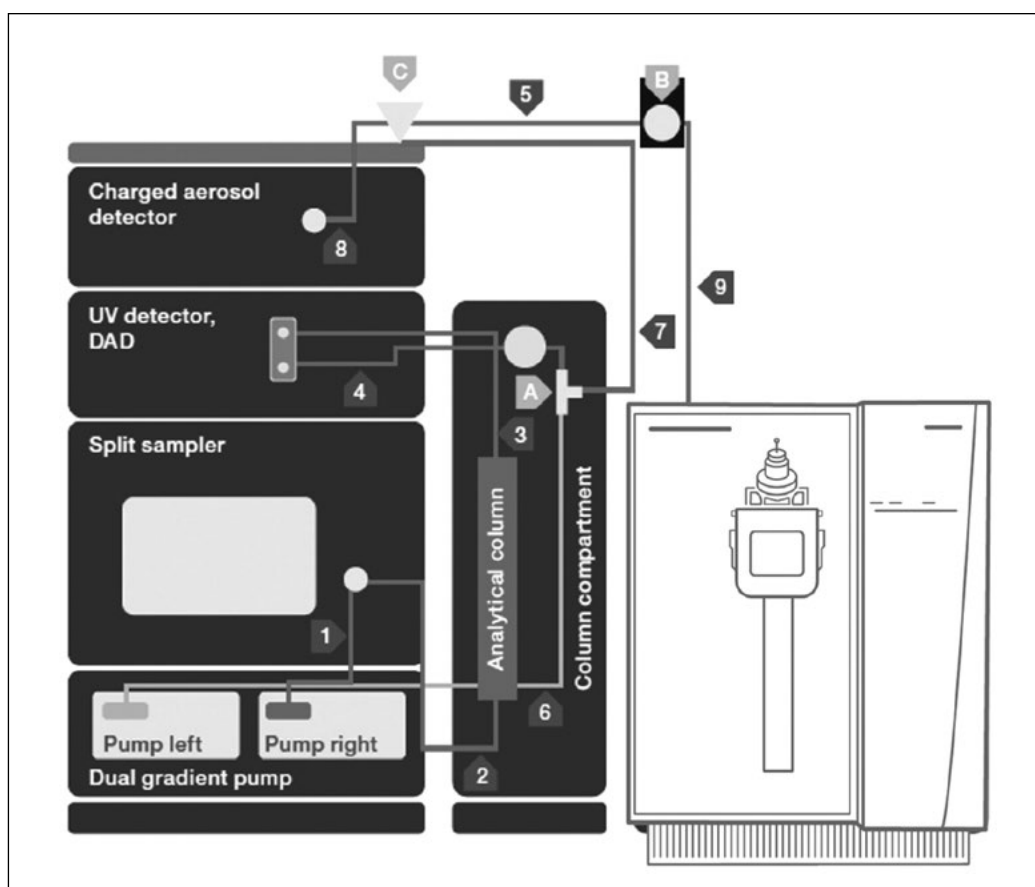


Figure 1. Inverse gradient setup schematic, with labeled flow path components described in Table 1.

Table 1. Flow path components used in the inverse gradient setup, as depicted in Figure 1.

No.	Description	Part number
1	Thermo Scientific™ Viper™ capillary, ID x L, 0.1 × 350 mm, MP35N	6042.2340
2	Active preheater, 0.1 × 380 mm, MP35N	6732.0110
3	Viper capillary, 0.1 × 250 mm, MP35N	6042.2330
	Overpressure relief valve 60 bar VH-D1	6083.9260
	Viper capillary, 0.1 × 65 mm, MP35N	6042.2306
4	Viper capillary, 0.1 × 65 mm, MP35N	6042.2306
5	Viper capillary, 0.1 × 750 mm, MP35N	6042.2390
6	Viper capillary, 0.1 × 950 mm, MP35N and	6042.2395
	Thermo Scientific™ nanoViper™ capillary, 75 μm × 650 mm (to provide additional backpressure)	6041.5775
	connected by Viper union	6040.2304
7	Viper capillary, 0.1 × 150 mm, MP35N	6042.2320
8	Viper capillary, 0.1 × 350 mm, MP35N	6042.2340
9	Viper capillary, 0.1 × 300 mm, MP35N	6042.7950
A	T-piece 500 μm ID	6263.0035
B	Divert valve for Orbitrap Exploris series, 2 position – 6 port, Thermo Scientific™ Rheodyne™ MXT715-004	00109-99-00046
C	Adjustable analytical flow splitter, 1:1 to 20:1, ASI	70-6337A

Sample preparation

The TraceCERT Extractables and Leachables Screening Standard compound mixture (50 μg/mL solution in methanol (MeOH)) was diluted in 50 % MeOH to working solutions ranging from 10 μg/mL to 1 ng/mL and placed in the autosampler. A representative extract was prepared from commercially available rubber stoppers for pharmaceutical applications by extraction using isopropanol at 50 °C for 72 h, alongside a blank extraction.

Liquid chromatography–mass spectrometry

The LC/UV/CAD/MS2 analysis was carried out using the following conditions:

Mass spectrometry analysis was carried out on an Orbitrap Exploris 120 mass spectrometer equipped with a Thermo Scientific™ OptaMax™ NG HESI ion source. Initial method development experiments and dilution series experiments using the Supelco TraceCERT Extractables and Leachables Screening Standard mixture were carried out using Full Scan experiments employing polarity switching at a resolution setting of 60,000 (at *m/z* 200).

Untargeted screening experiments on the representative extract were carried out using single polarity data-dependent MS² (ddMS²) experiments and the optional Thermo Scientific™ AcquireX™ intelligent data acquisition workflow (iterative precursor exclusion workflow).⁴ The MS source conditions for both methods and important MS experiment parameters are detailed in Tables 4 and 5.

Data processing software

The Thermo Scientific™ Xcalibur™ 4.5 software was used for data acquisition and Thermo Scientific™ Freestyle™ 1.8 SP2 software for initial data review. For qualitative data processing, data were imported into Thermo Scientific™ Compound Discoverer™ 3.3 SP1 software for spectral deconvolution and compound identification using the workflow template “E and L Unknown ID with Online and Local Database Searches” with modifications to create additional analog traces and addition of the ‘Fill Gaps’ node.

Results and discussion

In this study, data acquisition was carried out using the Vanquish Duo system for Inverse Gradient with

Table 2. UHPLC experiment conditions

Parameter	Value
Column	Thermo Scientific™ Hypersil GOLD™ Vanquish C18, 1.9 μm, 2.1 × 100 mm (P/N 25002-102130-V)
Mobile phase	A: 0.1 % formic acid in water
	B: 0.1 % formic acid in acetonitrile
Flow rate	0.4 mL/min
Column temperature	45 °C (still air mode)
Autosampler temperature	6 °C
Injection volume	2 μL
Needle wash solvent	25 % acetonitrile
Mixer volume	300 μL (250 μL static + 50 μL capillary mixer)
Flow split ratio	1:10 (MS:CAD)
Divert valve timing	Flow to waste from 0-0.9 min and 25.1-30 min
DAD settings	Wavelength 200–680 nm, 10 Hz acquisition speed
CAD settings	2 Hz acquisition speed, 35 °C Evaporator temperature,
	1.00 Power function

Table 3. UHPLC gradient conditions

Time (min)	Analytical gradient pump mobile phase B (%)	Inverse gradient pump mobile phase B (%) – delay time offset of 0.755 min*
0.0	5	99
1.0	5	99
18.0	99	5
25.0	99	5
25.1	5	99
30.0	5	99

* Time offset for the Inverse Gradient was calculated based on the difference in flow paths with the help of the Chromeleon Inverse Gradient Wizard, as described in more detail in the Results section.

Table 4. MS source conditions

Parameter	Value
Spray voltage	+3,250 V / –3,000 V
Sprayer position	1.2, M/H, center
Vaporizer temperature	75 °C
Ion transfer tube temperature	325 °C
Sheath gas	25 arbitrary units
Aux gas	5 arbitrary units
Sweep gas	0 arbitrary units

Table 5. MS experiment parameters

Parameter	Value
Polarity switching MS1 method	
MS1 mass range	<i>m/z</i> 120–1,200
RF level (%)	70
Easy-IC	Scan-to-Scan
Single polarity ddMS2 method (Top 4)	
MS1 mass range	<i>m/z</i> 120–1,200
MS2 isolation window (<i>m/z</i>)	1.5
HCD collision energies (Normalized, %)	20, 50, 80
MS2 resolution	15,000 @ <i>m/z</i> 200
Maximum injection time (ms)	100
Easy-IC	Scan-to-Scan
Intensity threshold	2.0e4
Dynamic exclusion	5 s, Exclude Isotopes
Targeted mass exclusion	<i>m/z</i> and RT determined by AcquireX software

DAD and CAD detection, coupled to the Orbitrap Exploris 120 MS for HRAM full scan and ddMS2 acquisition. This system effectively uses two UHPLC pumps within one module, with one pump providing the analytical gradient to separate the analytes using the analytical column, which is merged with the inverse gradient flow from the second pump. As detailed in Figure 1, the flow path of the analytical and inverse gradient pump was merged after the UV detector to avoid diluting the analyte concentration. The difference in the flow paths can be calculated with the help of the Chromleon Inverse Gradient Wizard.⁵ Taking into account the differences between the capillary configuration used here and the Vanquish Inverse Gradient Capillary kit, a time offset of 0.755 min was determined. Alternatively the difference in the flow paths can be determined by sending an acetonitrile plug through the two. During the method file creation, the gradient delay parameter was entered in the Inverse Gradient options, facilitating the automatic calculation of the inverse gradient based on the parameters of the analytical gradient conditions (Table 3). After the two flow paths merge, they are split using a variable flow splitter to provide a 1:10 split ratio with the lower flow passing to the HESI source of the Orbitrap Exploris 120 MS and higher flow passing to the CAD emitter. This split ratio was employed to optimize the mass-dependent CAD signal without reducing the concentration-dependent ESI signal, as shown in Figure 2.

Standard analysis

The TraceCERT Extractables and Leachables Screening Standard for LC (MilliporeSigma) was used to demonstrate the performance of the system. This mixture of 21 compounds relevant to E&L analyses contains compounds of different physical and chemical properties, covering a range of compound classes. Some of the compounds in the mixture, such as 2,4-di-tert-butylphenol, were not expected to give a CAD response due to their volatile nature.³ However, these compounds would be captured in the separate analysis of volatile compounds by GC/MS, as described in a previous application note.⁶ Figure 3 gives an overview of the elution profile obtained from the injection of 2 μ L of the standard mixture at 1 μ g/mL (1 ppm).

Some compounds, such as dibenzylamine (peak at 6.13 min in the ESI(+) trace), which showed high ionization efficiencies, were readily detected in the total

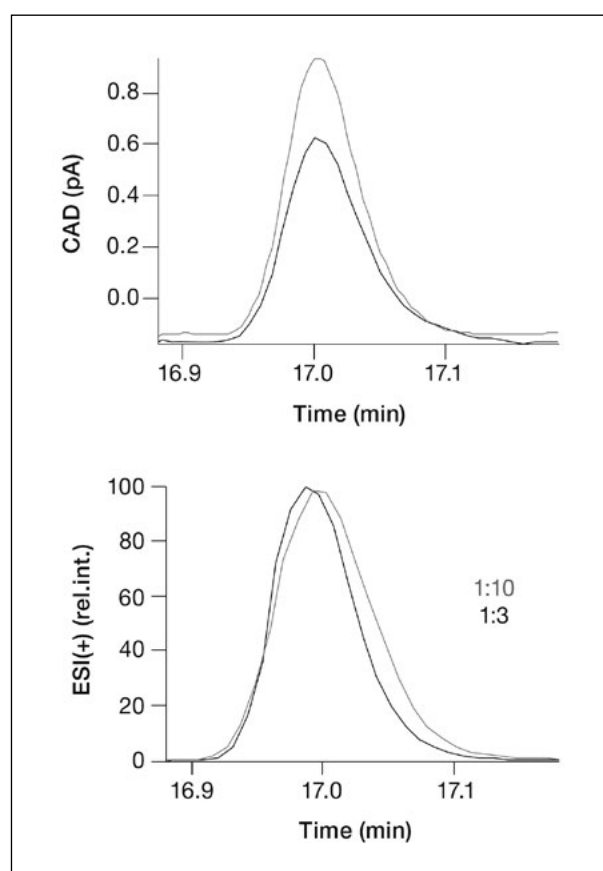


Figure 2. Comparison of CAD (top) and ESI(+) (bottom) signals for oleamide ($[M+H]^+$ m/z 282.2791, 17.0 min) at split ratios of 1:10 (grey) and 1:3 (black). Higher slit ratio results in stronger signal at the CAD detector without impacting the MS signal.

ion chromatograms. Due to the high data quality of the fast polarity switching HRAM MS data from the Orbitrap Exploris 120 MS, 16 of the 21 compounds could be detected with electrospray ionization (ESI) in either positive or negative mode at 1 μ g/mL (with three additional compounds detected at higher concentration). Two compounds, namely 1,3-di-tert-butylbenzene and 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol, were not detected in this analysis, however both are expected to show better response using GC/MS. As indicated in Table 6, those compounds carrying chromophores, such as aromatic or conjugated double bonds, were detectable by UV, while 11 compounds were detectable by CAD. Those compounds not detectable at 1 μ g/mL with CAD had lower molecular weights, indicating higher volatility. Notably, of the 19 compounds detected in this analysis, 15 were detectable by at least two detectors.

NOTAS TÉCNICAS

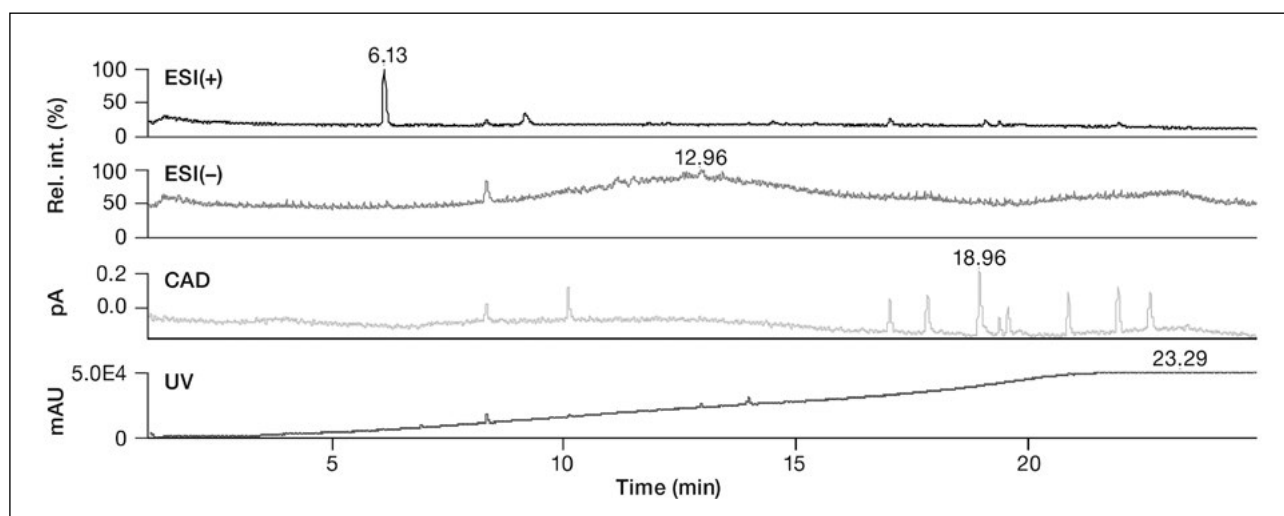


Figure 3. Overview of ESI(+) total ion chromatogram, ESI(-) total ion chromatogram, CAD and UV traces for E&L standard mixture injected at 1 ppm.

Table 6. Summary of results for analysis of E&L standard mixture at 1 µg/mL.

Compound	MW	RT	Detected by ESI(+)	Detected by ESI(-)	Detected by CAD	Detected by UV (200–680 nm)
Caprolactam	113.16	3.7	X			
Dibenzylamine	197.28	6.1	X			X*
Benzoic acid	122.12	7.0		X		X
2-Mercaptobenzothiazole	167.25	8.3	X	X	X	X
Bisphenol A	228.29	10.1		X*	X	X
2-Ethylhexanoic acid	144.21	10.4		X*		
3,5-Di- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxybenzyl alcohol	236.35	12.3	X	X*		X
Bis(4-chlorophenyl) sulfone	287.16	13.0	X	X		X
2-(2-Hydroxy-5-methylphenyl)benzotriazole	225.25	14.0	X			X
2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol	206.32	15.9	X			X
Oleamide	281.48	17.0	X		X	
Palmitic acid	256.42	17.8	X*	X	X	
Stearic acid	284.48	19.0	X*	X	X	
Bis(2-ethylhexyl) phthalate	390.56	19.1	X		X	X*
Erucamide	337.58	19.4	X		X	
Irganox™ 3114	784.08	19.6	X		X	X
Irganox™ 1010	1177.63	20.9	X	X	X	X
Tris(2,4-di- <i>tert</i> -butylphenyl)phosphate	662.92	22.0	X	X	X	X*
Irganox™ 1076	530.86	22.7	X	X*	X	X*
1,3-Di- <i>tert</i> -butylbenzene	190.32	n.d.				
2,6-Di- <i>tert</i> -butyl-4-methylphenol	220.35	n.d.				

* Detected only in higher concentration sample.

To assess the sensitivity of the different detectors, the standard mixture was injected at different concentrations ranging down to 1 ng/mL. As illustrated for

2-mercaptobenzothiazole in Figure 4, MS sensitivity was generally higher than UV or CAD, with the latter having detection limits in the range of 0.1–1 µg/mL.

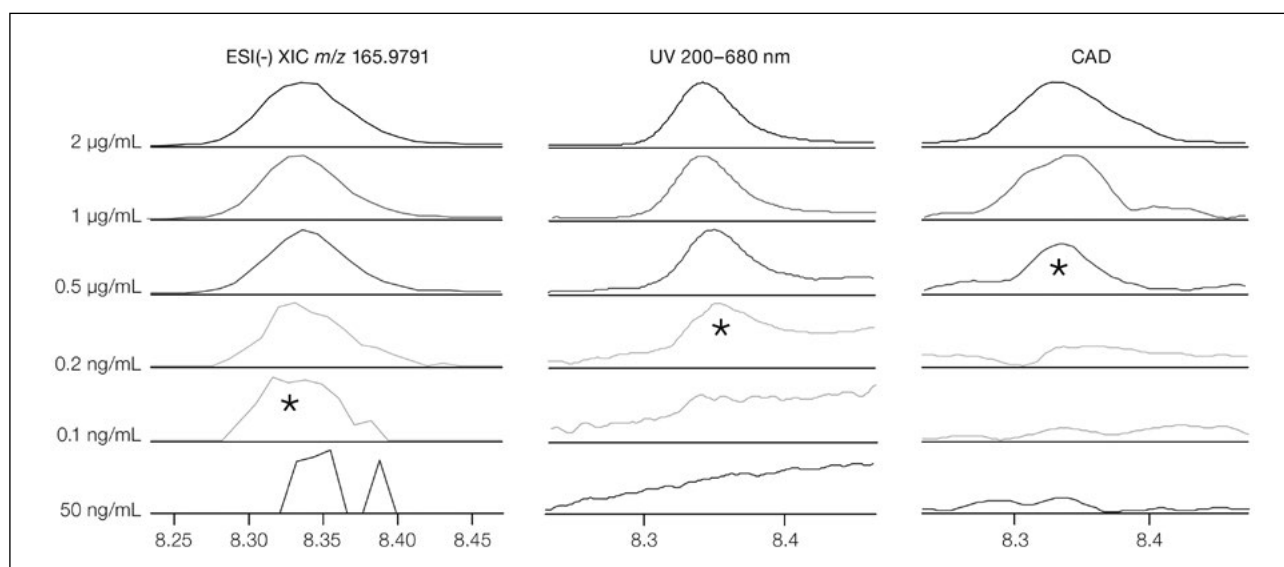


Figure 4. Comparison of signal response from the different detectors at varying concentrations for 2-mercaptobenzothiazole, with ESI(-) showing the highest sensitivity and approximate detection limit denoted with an asterisk.

Table 7. Summary of relative response factors calculated for the E&L standard mixture at 1 µg/mL relative to Irganox 1010, with ESI relative response calculated for most abundant ion in positive polarity, unless noted otherwise.

Compound	MS base ion	Relative response factor		
		ESI	UV	CAD
Caprolactam	[M+Na] ⁺	0.54		
Dibenzylamine	[M+H] ⁺	375.13		
Benzoic acid	[M-H] ⁻	0.25 (-)	9.62	
2-Mercaptobenzothiazole	[M-H] ⁻	23.35 (-)	39.46	0.52
Bisphenol A	[M-H] ⁻	—	6.69	0.75
3,5-Di- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxybenzyl alcohol	[M-H ₂ O+H] ⁺	13.71	1.99	
Bis(4-chlorophenyl) sulfone	[M+H] ⁺	0.03	18.63	
2-(2-Hydroxy-5-methylphenyl)benzotriazole	[M+H] ⁺	10.38	35.24	
2,4-Di- <i>tert</i> -butylphenol	[M+H] ⁺	0.08	1.23	
Oleamide	[M+H] ⁺	34.91		0.81
Palmitic acid	[M-H] ⁻	0.38 (-)		1.03
Stearic acid	[M-H] ⁻	0.03 (-)		1.91
Bis(2-ethylhexyl) phthalate	[M+H] ⁺	18.10		0.20
Erucamide	[M+H] ⁺	12.47		0.45
Irganox 3114	[M+NH ₄] ⁺	2.18	1.46	0.65
Irganox 1010	[M+NH ₄] ⁺ / [M-H] ⁻	1.00 (+/-)	1.00	1.00
Tris(2,4-di- <i>tert</i> -butylphenyl)phosphate	[M+H] ⁺	11.90		1.31
Irganox 1076	[M+NH ₄] ⁺	4.14		1.01
Standard deviation		89.21	14.39	0.46

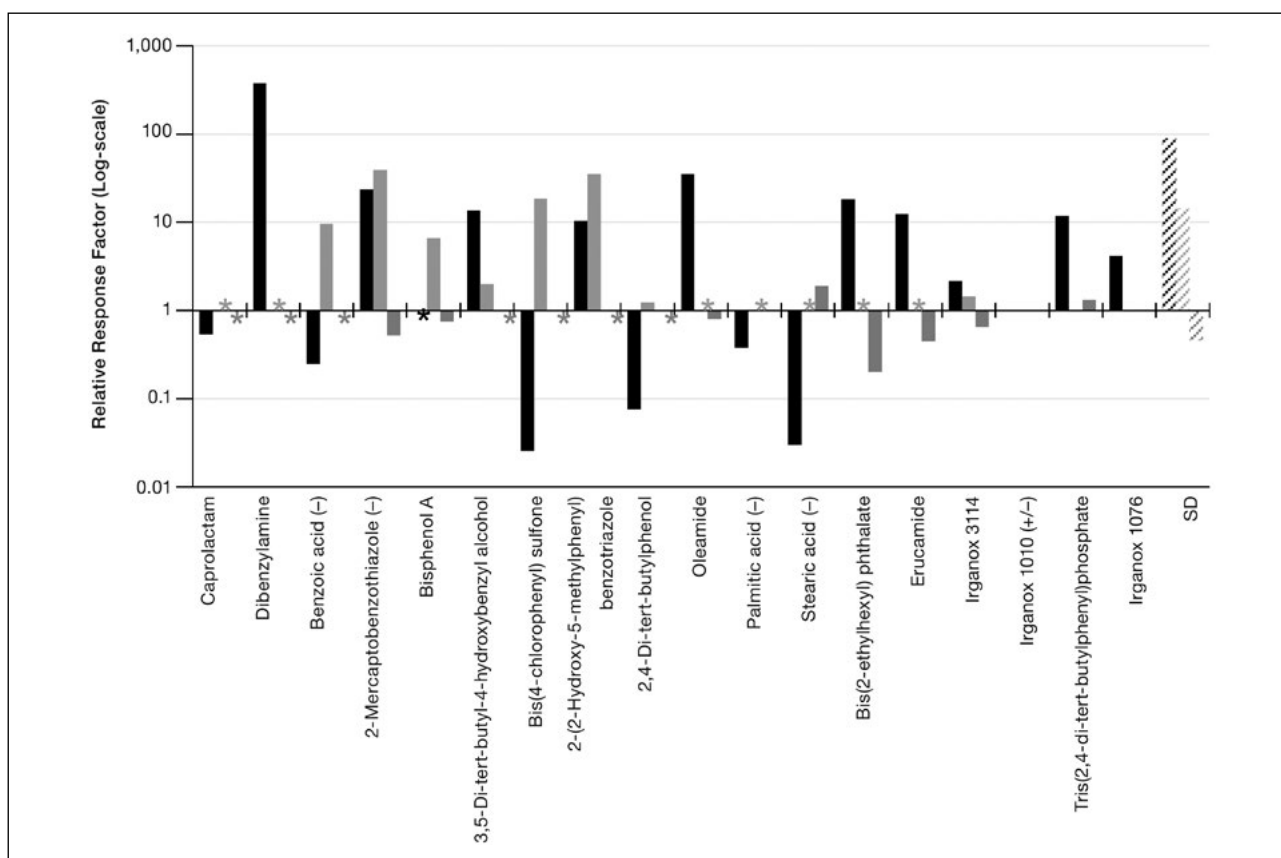


Figure 5. Plot of relative response factors (Log scale) for all compounds in the standard mixture from the MS, UV, and CAD detectors, determined at 1 µg/mL compared to the response of Irganox 1010, with the standard deviation (SD) plotted on the far right, illustrating the lower deviation in CAD response between the different analytes. (*denotes compounds without response from the respective detector.)

For all detected compounds in the standard mixture, their response factor was calculated relative to Irganox 1010, and the respective values are given in Table 7 and plotted in Figure 5. Notably, the MS response (black) shows the largest variance in response across the different compounds, with dibenzylamine giving over 300-fold response, while the response from CAD was much more uniform with smaller variance, as demonstrated previously.³

Sample analysis

To demonstrate the application of the multidetector system to the analysis of an extractables solution, it was used to analyze the isopropanol extract of pharmaceutical-grade rubber stoppers. While, as described above, any volatile extractables are expected not to show significant CAD response, the more universal

nature of this detector can guide the identification process. Given an exemplary AET of 0.5 µg/mL, the CAD signal from the E&L standard mixture analyzed previously was used to estimate a threshold based on CAD response. Figure 6 shows the CAD response for the extract sample along with that for the 0.5 µg/mL level of the standard mixture. Comparing the response levels, compounds that showed detectable CAD peaks in the rubber stopper extract at or above the peak areas for the standard mixture components could be prioritized for annotation, such as the peaks highlighted at RT 19.38 min and 21.51 min.

Compound identification based on the collected HRAM-MS and MS/MS data was performed using Compound Discoverer 3.3 SP1 software using the workflow template “E and L Unknown ID with Online and Local Database Searches” with modifications to create.

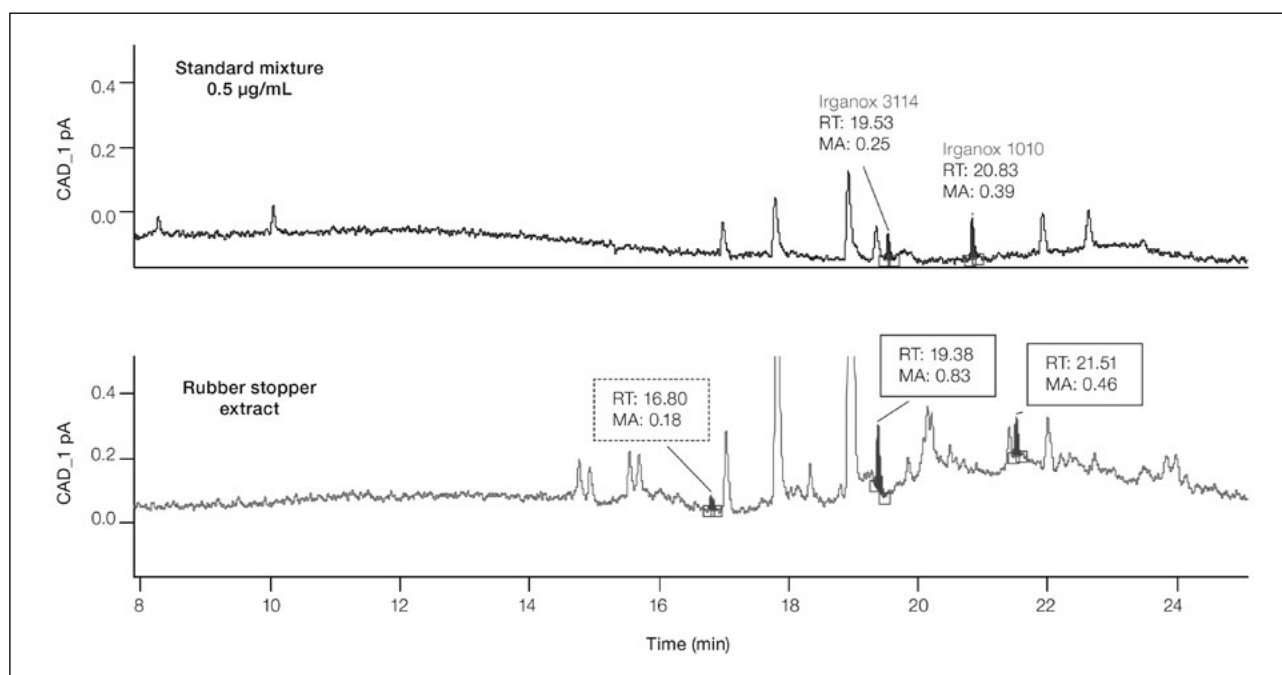


Figure 6. Comparison of CAD response from analysis of E&L standard mixture at a level corresponding to an exemplary AET (0.5 µg/mL) and the sample extract – zoomed to the retention time range from 8 to 25 min. Comparing to the labeled peak for Irganox 1010 with a peak area (denoted MA in figure) of 0.39, several compounds in the rubber extract, such as those denoted at 19.38 min and 21.51 min, have larger peak areas and can thus be prioritized for identification over those with smaller peak areas (e.g., the highlighted peak at RT 16.80).

Specialized Traces from the UV and CAD data. The databases used for compound annotation in this workflow included the Thermo Scientific™ mzCloud™ spectral library, the NIST HRMS ESI tandem mass spectral library, ChemSpider™, and an E&L compound mass list. A more detailed description of the data processing and tools available for E&L compound annotation in Compound Discoverer software can be found in a separate application note.⁷

In the Result View, the CAD traces could be manually investigated to integrate peaks, which could then be correlated with detected compounds from the mass spectral data. Figure 7 shows the example of a peak at RT 19.38 min, which correlated with two co-eluting compounds with monoisotopic MW 338.3344 Da (“compound A”) and 227.1885 Da (“compound B”), respectively. Based on the accurate mass and relative isotopic peak abundance of the adducts detected in ESI(+), the elemental compositions were determined as $C_{22}H_{43}NO$ and $C_{13}H_{25}NO_2$ for compounds A and B, respectively, and MS/MS fragmentation of the $M+H^+$ precursor for the former compound resulted in a spectral library match to eu-

camide with high confidence, as shown in Figure 8. Additionally, the observed retention time matched that of the reference standard in the standard mixture (Table 6).

Notably, erucamide (compound A) was not initially listed in the Compounds table, as its MS peak area in the sample did not exceed the Sample/Blank area ratio of 5 set in the Mark Background Compounds node, and it was automatically filtered from view. For the co-eluting compound B, there was no library match based on the fragmentation spectrum, however the Compound Discoverer software determined multiple potential candidate structures from the included Extractables and Leachables HRAM Compound Database and ChemSpider database based on the determined elemental composition of $C_{13}H_{25}NO_2$. These compounds were ranked using the Thermo Scientific™ mzLogic™ algorithm, which rank-orders candidate structures based on their structural similarity to compounds in the mzCloud spectral library and gives similarity matches to the experimental fragmentation spectrum.⁸ Based on this ranking, the compound was putatively identified as 1-aminocyclododecanecarboxylic acid.

NOTAS TÉCNICAS

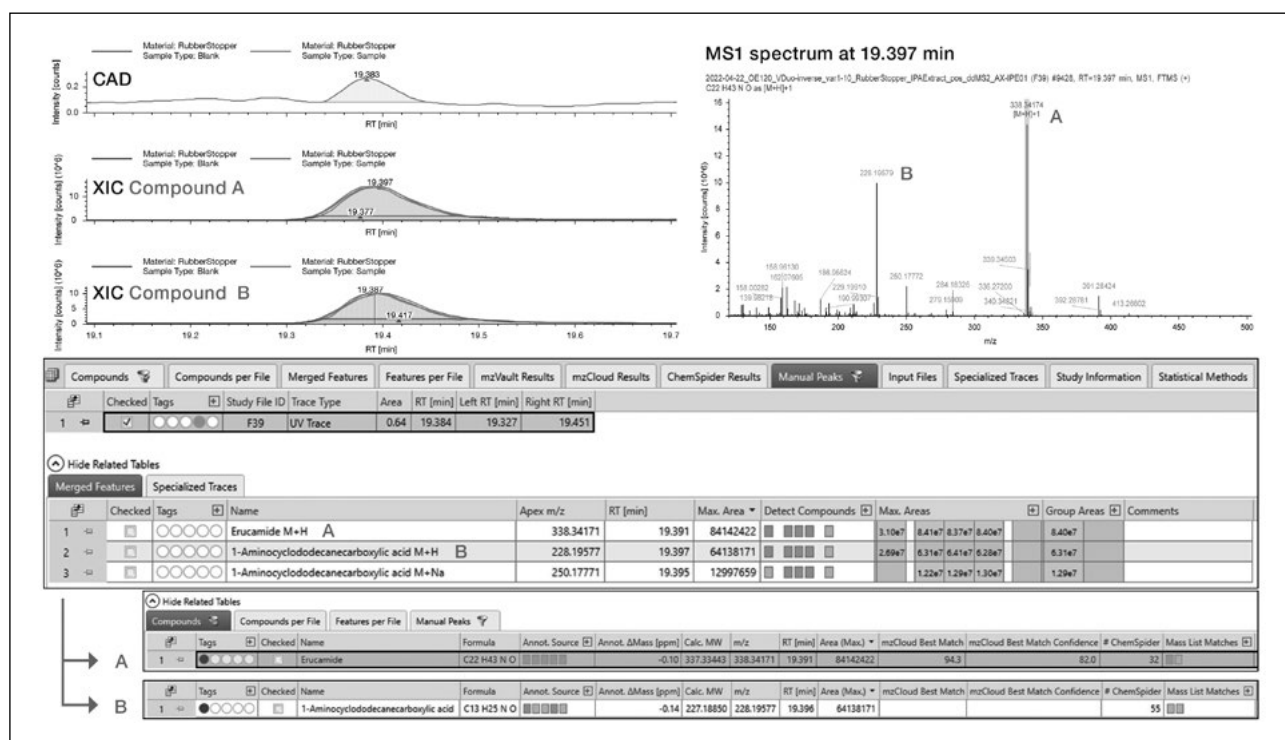


Figure 7. Correlation of CAD peak at 19.38 min with MS compounds with monoisotopic molecular weight of 337.3344 Da ($C_{22}H_{43}NO$, erucamide, identified based on MS/MS spectral match) and 227.1885 Da ($C_{13}H_{25}NO_2$, 1-aminocyclododecanecarboxylic acid, putative annotation based on mzLogic ranking of mass list and ChemSpider matches) with their XICs and MS1 spectrum shown.

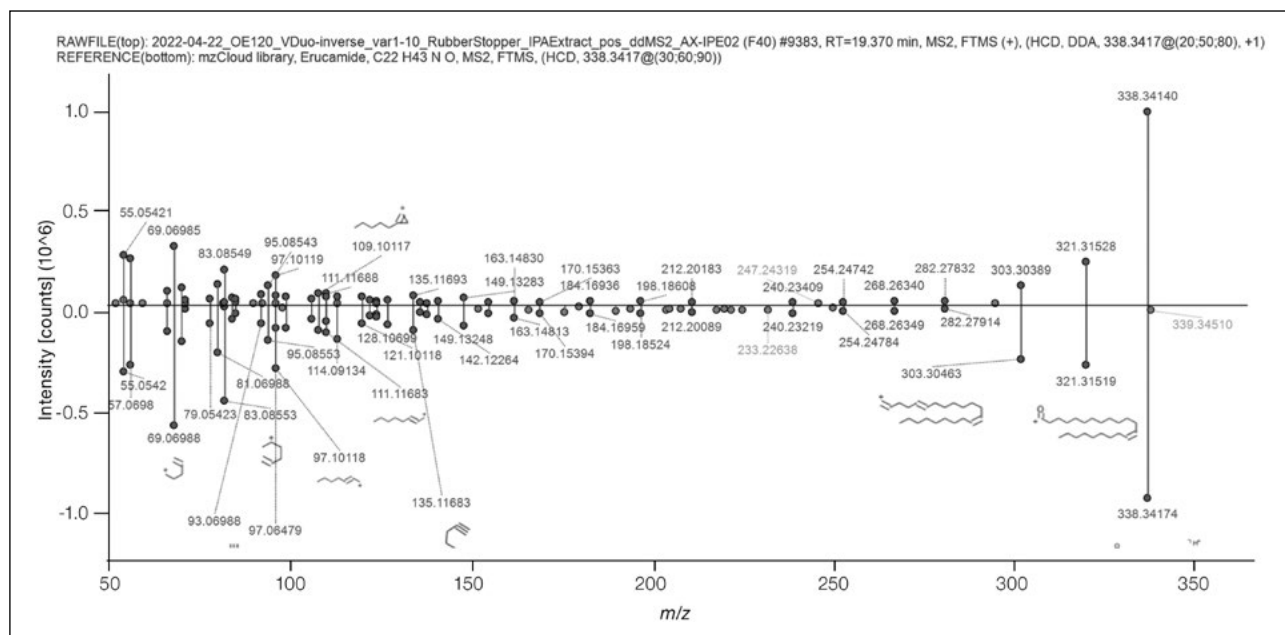


Figure 8. Mirror plot of experimental MS2 spectrum for compound A with a molecular weight of 337.3344 Da @ 19.38 min and the library spectrum for erucamide, showing a confident match with a match score of 94.3 and confidence score of 82.0.

Conclusion

- UV, CAD, and HRMS provide orthogonal detection based on different properties, which increases compound coverage and annotation confidence.
- The universal response of the CAD detector, when used with the Vanquish Duo for inverse gradient system, enables semi-quantitation of unknown compounds against surrogate standards, aiding in determining which compounds need to be identified in the context of extractables studies.
- The HRAM MS/MS data provided by the Orbitrap Exploris 120 MS together with Compound Discoverer software enable identification of unknown extractables based on elemental composition, fragmentation spectral library, and compound database matches.

References

1. Safety thresholds and best practices for extractables and leachables in orally inhaled and nasal drug products. PQRI Leachables and Extractables Working Group, 2016. https://pqri.org/wp-content/uploads/2015/08/pdf/LE_Recommendations_to_FDA_09-29-06.pdf
2. Menz, M.; Eggart, B.; Lovejoy, K.; Acworth, I.; Gamache, P.; Steiner, F. Charged aerosol detection – factors affecting uniform analyte response. Thermo Fisher Scientific Technical Note 72806, 2018.
3. Meding, S.; Lovejoy, K.; Swart, R.; Steiner, F.; Ruehl, M. A multi-detector platform comprising UV/Vis, charged aerosol, and single quadrupole mass spectrometric detection for comprehensive sample analysis. Thermo Fisher Scientific Application Note 72869, 2018.
4. Thermo Scientific AcquireX intelligent data acquisition workflow is a factory installed OPTON for the Orbitrap Exploris 120 MS (BRE0026990, AcquireX License for Orbitrap Exploris 120 - factory installed), and included by default with the Thermo Scientific Orbitrap Exploris 240 MS and Thermo Scientific Orbitrap IQ-X™ Tribid™ MS. For additional information, visit thermofisher.com/AcquireX
5. Installation Guide: Thermo Scientific Vanquish Duo for Inverse Gradient, Rev. 1.0, March 2018. https://knowledge1.thermofisher.com/@api/deki/files/432/4820.3616_-_Rev_1.0_-_Installation_Guide_-_Vanquish_Duo_for_Inverse_Gradient.pdf?revision=1
6. Lu, D.; Hower, D.; Liu, C.; Comstock, K. Extractable analysis of rubber stoppers for pharmaceutical applications. Thermo Fisher Scientific Application Note 419, 2021.
7. Cooper, J.; Cojocariu, C.; Roberts, D. Non-targeted screening of extractables from vial septa using high-resolution Orbitrap GC-MS. Thermo Fisher Scientific Application Note 206, 2021.
8. Smart Note: Accelerating small-molecule unknown identification with mzLogic. Thermo Fisher Scientific, 2019. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/brochures/sn-65387-ms-mzlogic-data-analysis-algorithm-sn65387-en.pdf>

Learn more at thermofisher.com

General Laboratory Equipment – Not For Diagnostic Procedures. © 2022 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. MillipoerSigma, Supelco, and TraceCERT are trademarks belonging to Merck KGaA. Irganox is a trademark of BASF. ChemSpider is a trademark of ChemZoo Inc. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries. This information is presented as an example of the capabilities of Thermo Fisher Scientific products. It is not intended to encourage use of these products in any manners that might infringe the intellectual property rights of others. Specifications, terms and pricing are subject to change. Not all products are available in all countries. Please consult your local sales representatives for details. **AN001401-EN 1022C**

izasa
scientific
a werfen company



LabSolutions™ MD: Efficient method development based on Analytical Quality by Design

DESARROLLO EFICIENTE DE MÉTODOS PARA ANALIZAR IMPUREZAS FARMACÉUTICAS UTILIZANDO UN ESPECTRÓMETRO DE MASAS DE SIMPLE CUADRUPOLO

Shinichi Fujisaki and Masataka Nikko

- El seguimiento de picos con un espectrómetro de masas de simple cuadrupolo LCMS-2050 permite el desarrollo de métodos altamente confiables mediante el seguimiento preciso de impurezas que tienen espectros UV similares.
- LabSolutions MD es capaz de desarrollar de manera eficiente un método que proporcione una resolución excelente y un tiempo de análisis más corto.

Introducción

Dado que las impurezas farmacéuticas requieren un control estricto para garantizar la seguridad, es esencial desarrollar un método analítico altamente confiable. LabSolutions MD, un nuevo software de Shimadzu, permite el desarrollo de métodos eficientes basados en la Calidad Analítica por Diseño (AQbD, del inglés *Analytical Quality by Design*). El desarrollo de métodos analíticos basados en AQbD consta de las fases de selección inicial, optimización y evaluación de robustez. Este artículo presenta un ejemplo de su uso para el desarrollo de un método de LC robusto para impurezas en Montelukast (un medicamento utilizado en el tratamiento de mantenimiento del asma). Al cambiar cada parámetro del programa de gradiente, se evaluó la resolución de Montelukast y de cada impureza visualizando a través del "espacio de diseño". Durante el desarrollo del método, y presentando espectros UV similares, era difícil rastrear con precisión cada impureza utilizando un

detector de matriz de fotodiodos (PDA), y el LCMS-2050 resuelve este problema. Además, al utilizar el espacio de diseño de resolución y el tiempo de retención (RT) del último pico de elución, es posible desarrollar de manera eficiente un método que proporcione una resolución excelente y un tiempo de análisis más corto.

Condiciones analíticas

La Tabla 1 muestra las condiciones analíticas utilizadas en el estudio de optimización para la separación de Montelukast y sus impurezas (de Imp1 a Imp6). Al

Tabla 1. Condiciones analíticas para la optimización.

Sistema LC	Nexera™ X3 (Method Scouting System)
Fase móvil:	
Bomba A: 0,15 % ácido fórmico en agua	
Bomba B: 0,1 % ácido fórmico en acetonitrilo	
Columna:	
Shim-pack™ Scepter Phenyl-120 (100 mm × 3.0 mm I.D., 1.9 μm)* ¹	
Condiciones analíticas:	
Conc. B inicial:	45 %
Conc. B final:	75, 80, 85 % (3 niveles)
Pendiente gradiente:	8, 13, 18 min (3 niveles)
Programa de tiempo:	Conc. B 45 % (0-3 min) → 75 % (11 min) → 85 % (11,01-13 min) → 45 % (13,01-18 min) Nota: Si Conc. B final es 75 %, la pendiente del gradiente son 8 min
Temp. columna:	30 °C
Flujo:	0,5 mL/min
Vol. inyección:	10 μL (1000 mg/L)
Detección (PDA):	238 nm (SPD-M40, celda UHPLC)
Sistema MS	LCMS-2050
Ionización:	ESI/APCI (DUIS™), modo positivo y negativo
Modo:	SCAN (m/z 400-800)
Flujo gas nebulizador:	2,0 L/min
Flujo gas secado:	5,0 L/min
Flujo gas calentamiento:	7,0 L/min
Temp. DL:	200 °C
Temp. desolvatación:	450 °C
Voltaje interfase:	+3,0 kV / -2,0 kV
Voltaje Qarray:	+20 V

*¹ P/N 227-31064-03.

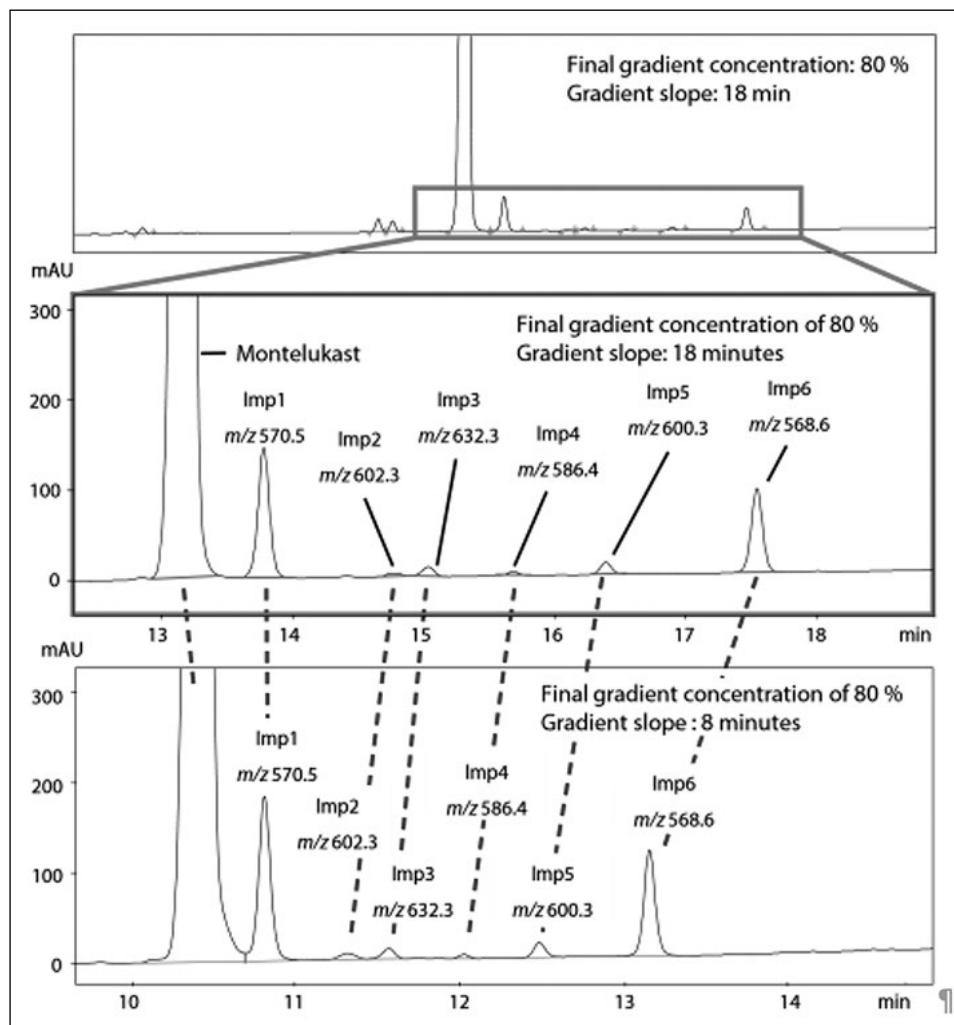


Figura 1. Cromatogramas LC con concentración final del gradiente de 80 % y pendientes del gradiente de 8 (inferior) y 18 (superior) minutos.

variar la concentración final y la pendiente del programa de gradiente, se examinó la resolución de Montelukast y sus impurezas para encontrar las condiciones óptimas. En concreto, la concentración final se varió de 75 % a 85 % en incrementos de 5 % (3 niveles), y la pendiente de gradiente de 8 min a 18 min en incrementos de 5 min (3 niveles).

Seguimiento preciso de los picos con el LCMS-2050

Los cromatogramas de LC obtenidos con una concentración de gradiente final del 80 % y pendientes de gradiente de 8 min y 18 min, junto a los valores m/z para las impurezas, se muestran en la Figura 1. Los espectros UV de Imp1 a Imp6 se muestran en la Figura 2. La similitud entre los espectros UV para Imp1 e

Imp6 (similitud >0,99), para Imp2 e Imp4 (similitud >0,9) y para Imp3 e Imp5 (similitud >0,999) sugiere que el seguimiento de picos basado en el espectro UV

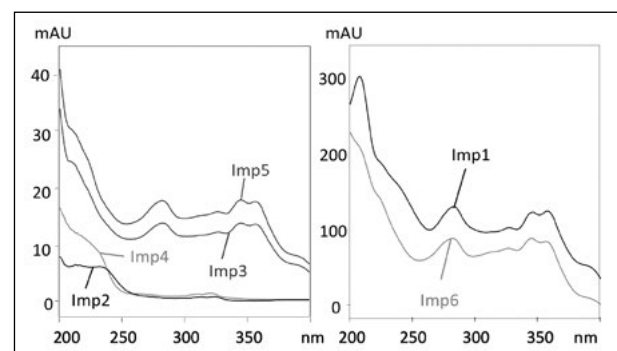


Figura 2. Espectros UV de las impurezas de Montelukast.

NOTAS TÉCNICAS

sería difícil. No obstante, LabSolutions MD también permite el seguimiento de picos basado en m/z con un LCMS-2050 para una identificación precisa de las impurezas que tienen espectros UV similares.

A continuación, para identificar las condiciones analíticas óptimas, se visualiza la resolución cuando cambia la concentración final y la pendiente del gradiente a través del espacio de diseño.

Evaluación del espacio de diseño para obtener las condiciones analíticas óptimas

La Figura 3 muestra el espacio de diseño para la resolución de Montelukast e Imp1. Según la escala de colores, la región roja indica una resolución más alta y la región azul indica una resolución más baja, con regiones amarilla y verde para los valores intermedios. En este caso en concreto, la región roja se corresponde con la zona superior del gráfico y la región azul se encuentra en torno a la esquina inferior derecha. Al visualizar la resolución a través del espacio de diseño, se determinó que una concentración final más baja y una pendiente de gradiente más larga podían lograr una mejor separación.

LabSolutions MD puede simplificar la búsqueda de condiciones analíticas óptimas al superponer espa-

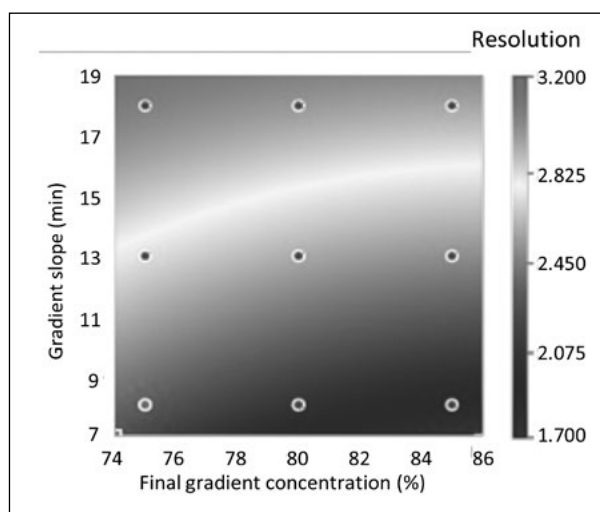


Figura 3. Espacio de diseño para la resolución de Montelukast e Imp1.

cios de diseño. La Figura 4 muestra las condiciones analíticas que cumplen con una resolución entre Montelukast y la Imp1 mayor que 2,6, una resolución mínima de cada compuesto de 1,2 y un RT del último pico (Imp6) menor a 17 min. En la imagen se delimitan con colores las áreas de condiciones que no cumplen, y la región restante (mostrada por la trama negra) es la que satisface todos los criterios. Dentro de esta, el punto óptimo con el tiempo de análisis más

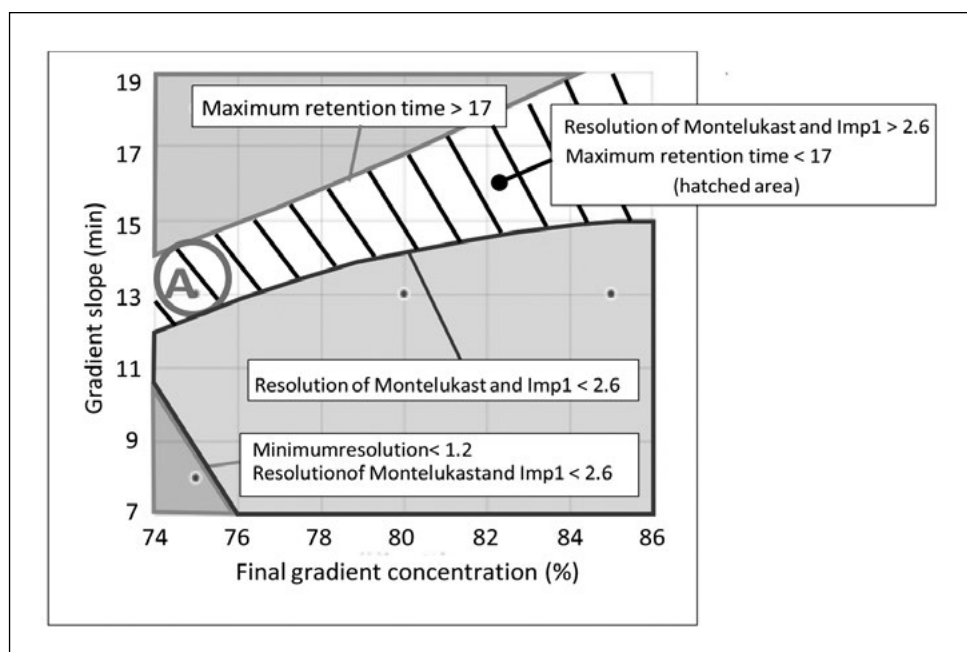


Figura 4. Superposición de los espacios de diseño para la resolución y el último pico eluido.

corto está alrededor del punto A, que está en un círculo rojo. Por tanto, al superponer los espacios de diseño de resolución y RT del último pico, se pueden encontrar fácilmente las condiciones óptimas que proporcionan suficiente resolución y un tiempo de análisis más corto.

El uso del espacio de diseño permite comprender fácilmente cómo los parámetros de LC afectan a las respuestas, como la resolución y el RT. Esto significa que se puede definir un método robusto sin depender de la experiencia del usuario.

Cromatograma con las condiciones analíticas óptimas

El cromatograma obtenido con las condiciones óptimas determinadas (punto A de la Figura 4) se muestra en la Figura 5. Se observa que la resolución de Montelukast e Imp1 es 2,7, la resolución mínima de cada impureza es 1,4 (Imp3) y el RT del último pico de elución es inferior a 17 minutos, lo que cumple satisfactoriamente los criterios.

ción es inferior a 17 minutos, lo que cumple satisfactoriamente los criterios.

Conclusión

Este artículo presenta el desarrollo de métodos eficientes para el análisis de impurezas farmacéuticas mediante el uso de LabSolutions MD y LCMS-2050. El seguimiento de picos basado en m/z permite identificar cada impureza con precisión incluso en casos con espectros UV similares. Visualizar y superponer los patrones de resolución para cada compuesto y el RT del último pico de elución permite desarrollar fácilmente un método más eficiente (resolución) y rápido (tiempo de análisis), independientemente de la experiencia del usuario.

Puede encontrar esta información en la Nota de Aplicación 01-00443-EN de Shimadzu. En la Nota de Aplicación 01-00335-EN se profundiza en la comprobación de la robustez del método.

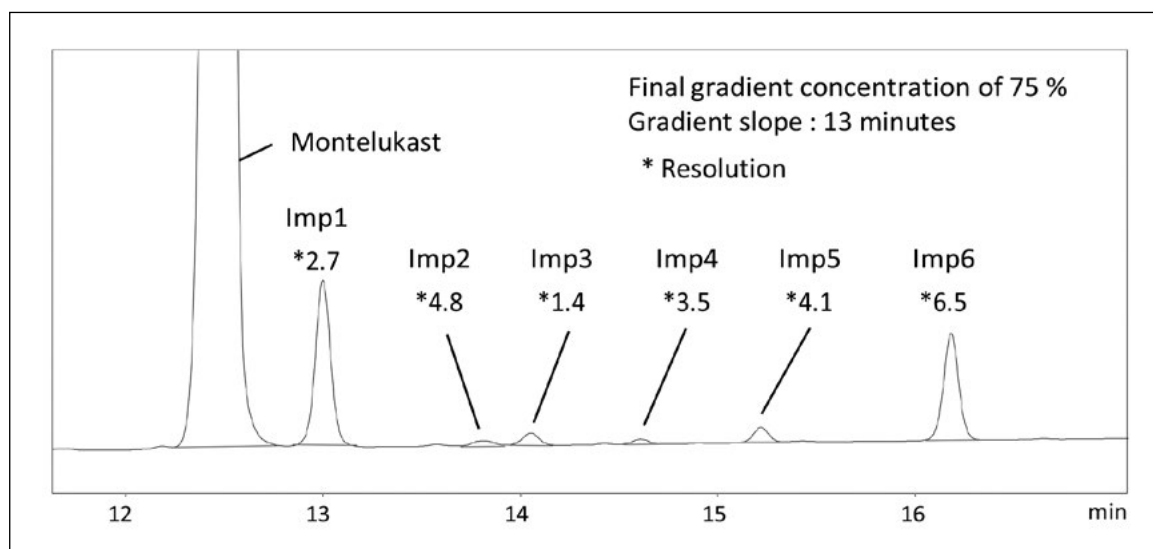


Figura 5. Cromatograma LC obtenido con las condiciones determinadas mediante AQbD. Concentración final del gradiente de 75 % y pendiente del gradiente de 13 minutos.



INSTRUMENTO: PEGASUS® BT Y CHROMATOF® SYNC EMPOWERING RESULTS

A Comprehensive GC-TOFMS Metabolomics Workflow

LECO Corporation; Saint Joseph, Michigan USA

Key Words: Diabetes, Time-of-Flight Mass Spectrometry, ChromaTOF Sync

Introducción

La diabetes crónica se produce como resultado de un irregular metabolismo de la glucosa que conduce a hiperglucemia debida a la secreción deficiente de insulina, a la resistencia a la insulina o a ambas.¹ La

diabetes ha alcanzado niveles de epidemia afectando a más de 420 millones de adultos en todo el mundo. Se considera que este número aumentará hasta los 630 millones para el año 2045.² La Diabetes Mellitus Tipo 2 (T2DM) involucra al 90 % de todos los casos de diabetes. Es la mayor causa de ceguera, fallo renal, ataque al corazón y amputaciones de miembros inferiores. Su diagnóstico precoz es crítico para iniciar los tratamientos adecuados para su prevención. Su predicción precoz puede ser facilitada por la implementación de un método metabolómico para la identificación de biomarcadores T2DM. La aproximación requiere la generación de datos exhaustivos que pueden ser estadísticamente procesados para identificar metabolitos clave que puedan ser asociados con individuos enfermos. Esta nota de aplicación describe un flujo de trabajo completo para la derivatización automatizada de extractos de plasma procedentes de sujetos sanos y enfermos, la adquisición de datos empleando cromatografía de gases (GC) acoplada a espectrometría de masas con analizador de Tiempo de Vuelo (TOFMS), y el procesamiento con ChromaTOF Sync para la detección de los candidatos a marcadores de esta enfermedad.

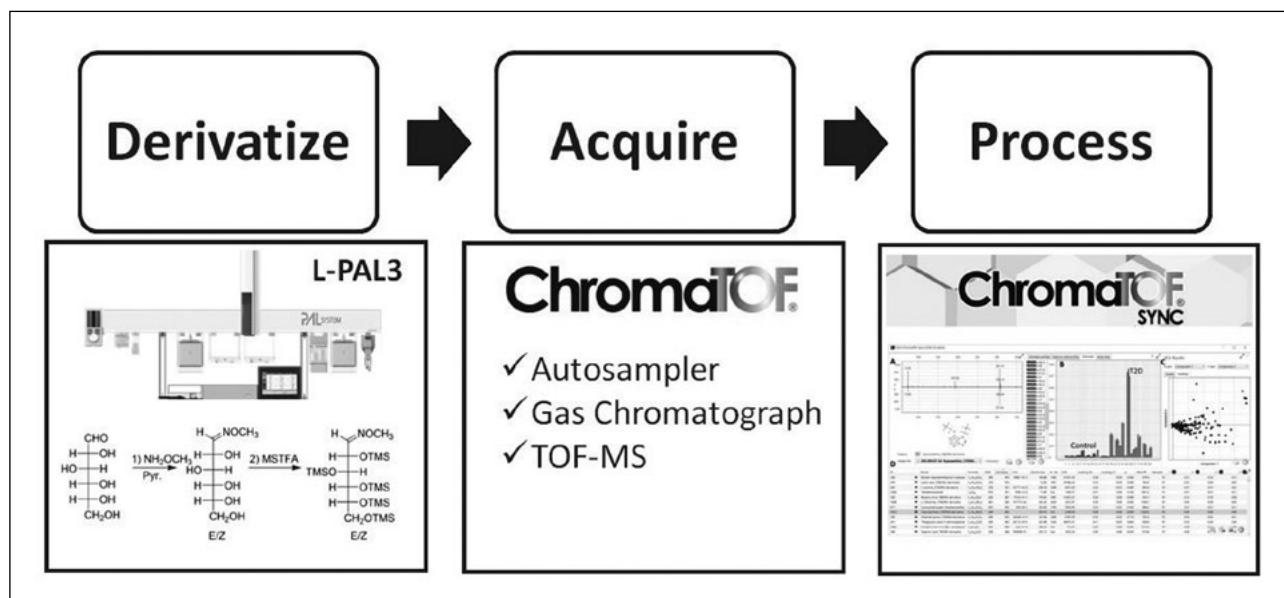


Figura 1. Flujo de trabajo GC-TOFMS completo en metabolómica: 1) Autoderivatización, 2) adquisición de datos, y 3) procesado estadístico.

Experimental

BioIVT (Westbury, NY; www.bioivt.com) proporcionó 15 muestras control y 15 de enfermos para el desarrollo y evaluación de un flujo de trabajo exhaustivo en metabolómica. Los donantes de plasma incluyeron hombres y mujeres de diferentes grupos de edad. Los pacientes con T2DM también padecían otras alteraciones como hipertensión, enfermedad renal y enfermedades cardiovasculares. La extracción de la muestra se realizó transfiriendo alícuotas de 100 μ L de plasma a microtubos de 1,5 mL. Posteriormente se añadió metanol (400 μ L) formando una solución turbia. Cada muestra se agitó durante 1 minuto, se centrifugó durante 10 minutos (5000 rpm) y el sobrenadante de la

mezcla heterogénea resultante se transfirió a viales de 2 mL. Los viales destapados se desecaron a temperatura ambiente bajo condiciones de baja presión durante 2 horas. Luego, se llevaron a un liofilizador y se secaron durante 30 minutos ($T = -50$ °C, $P < 0,1$ mBar). El residuo seco se derivatizó empleando el automuestreador L-PAL3 de LECO añadiendo 80 μ L de N-metil-N [tert-butildimetilsilil trifluoroacetamida] con un 1 % de tert-butildimetilclorosilano (MTBSTFA w/1 % TBDMCS, RESTEK, Bellefonte, PA) y calentando a 75 °C durante 45 minutos. Las muestras derivatizadas se analizaron por triplicado en un GC-TOFMS (*Pegasus* BT de LECO), bajo los parámetros instrumentales listados en la Tabla 1. Los datos fueron procesados y analizados con los softwares *ChromaTOF* Sync y *ChromaTOF* BT.

Tabla 1. Parámetros instrumentales.

Gas Chromatograph	Agilent 7890 & L-PAL 3 Autosampler
Injection 1 μ L (Split 20:1, 250 °C)	
Carrier Gas	He @ 1.4 mL/min, Constant Flow
Columns (1 st Dimension)	Rxi-5MS, 30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 μ m (Restek)
Temperature Program	50 C (0.5 min), ramped 10 C/min to 300 C (10 min)
Mass Spectrometer	LECO Pegasus BT
Ion Source Temperature	250 °C
Ionization Mode	El
Mass Range (<i>m/z</i>)	45-650
Acquisition Rate	10 spectra/s

Resultados y discusión

La adquisición de datos de las muestras de plasma mediante el empleo de cromatografía de gases y espectrometría de masas de Tiempo de Vuelo condujo a una información exhaustiva. Los archivos fueron procesados inicialmente con *ChromaTOF* Sync. El procesamiento de *ChromaTOF* Sync incluye la búsqueda de picos, el alineamiento de datos, las comparaciones con bases de datos y el análisis estadístico (p. ej., análisis de componentes principales (PCA)). El procesamiento y análisis de los datos condujo a la anotación de diversos compuestos que distinguían las muestras de control y las de plasma T2DM ($p < 0,01$). Los biomarcadores candidatos incluían aminoácidos ramificados, ácidos carboxílicos de cadena corta hidroxisustituidos y metabolitos purínicos (Tabla 2). Estos compuestos han sido previamente señalados como biomarcadores potenciales de diabetes o como monitores de cetosis por varios grupos de investigación.³⁻⁵

Los resultados del procesamiento de *ChromaTOF* Sync incluye nombres, fórmulas, tiempos de retención, masas de cuantificación y valores P de los metabolitos en las muestras de plasma (Figura 2). Las áreas para los metabolitos seleccionados (p. ej., hipoxantina) se muestran en el centro de la figura. Los correspondientes valores de área se listan de forma numérica en la tabla inferior (D). Además, la figura incluye la

Tabla 2. Potenciales Biomarcadores T2DM.

Metabolite	p-value
Leucine	0.000
Isoleucine	0.000
Valine	0.018
Uric Acid	0.000
3-Hydroxybutyric acid	0.002
Hypoxanthine	0.000

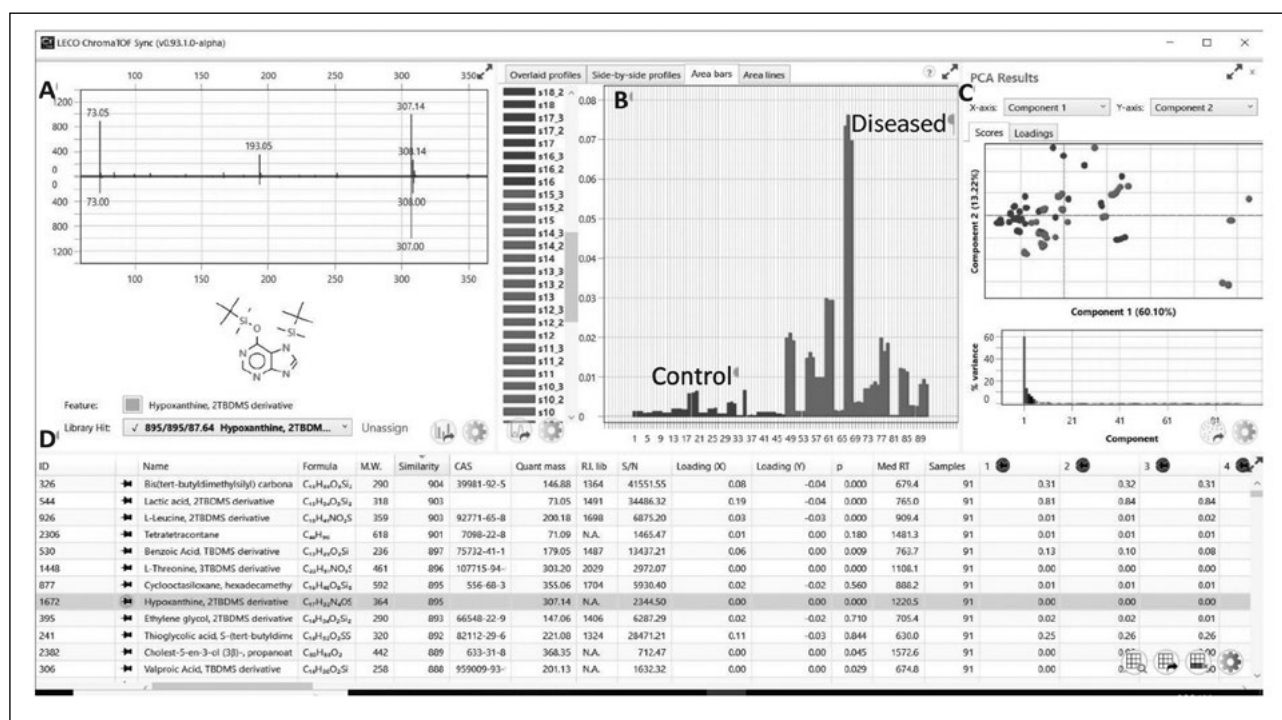


Figura 2. Resultados de *ChromaTOF Sync* para la comparación de plasma humano T2DM y de control. La imagen incluye los resultados de la búsqueda en la librería espectral para el metabolito seleccionado, hipoxantina (A), un gráfico de barras de la hipoxantina en muestras de control y enfermos (B), un gráfico PCA y una tabla que contiene los resultados de los metabolitos en las muestras (D).

puntuación de similitud espectral para el metabolito seleccionado, así como el espectro observado y el correspondiente a la librería (A). Finalmente, *ChromaTOF Sync* incluye un diagrama PCA para la comparación de las muestras (C).

ChromaTOF Sync es una poderosa herramienta de procesamiento; sin embargo, el registro de metabolitos se mejora significativamente mediante la combinación del software *ChromaTOF Sync* y *ChromaTOF BT*. En este flujo de trabajo, también se procesaron archivos de datos con el software *ChromaTOF BT* para una caracterización segura de los compuestos. El software *ChromaTOF BT* dispone de potentes capacidades de deconvolución, que producen datos espectrales mejorados para obtener mejores coincidencias con la base de datos y en los cálculos del delta de masa. El procesamiento automatizado condujo a la anotación de varios

metabolitos en los extractos de plasma incluyendo ácidos, diácidos, aminoácidos, ácidos grasos y esteroides. La puntuación media de similitud espectral para el conjunto de compuestos representativos listados en la Tabla 3 fue de 820 sobre 1000.

A continuación, se muestran los cromatogramas analíticos de iones (AICs) para plasma procedente de una persona enferma (rojo) y de un control (azul), con tres picos etiquetados como biomarcadores candidatos según los resultados de *ChromaTOF Sync* (Figura 3). Los compuestos incluyen ácido 3-hidroxi-butírico, ácido hipúrico e hipoxantina. Estos metabolitos aparecen en mayor cantidad en las muestras T2DM, como demuestran los cromatogramas XICs en las figuras 4, 5, y 6. En las figuras también se muestra el *Peak True* y la coincidencia con los datos espectrales de la librería, así como la puntuación de similitud asociada.

Tabla 3. Compuestos representativos en una muestra control.

Name	Fórmula	R.T. (s)	Similarity
Neophytadiene	C ₂₀ H ₃₈	520	725
Carbamic acid, N,N-dimethyl-, TBDMS	C ₉ H ₂₁ NO ₂ Si	525	957
3,3-Dimethylacrylic acid, TBDMS	C ₁₁ H ₂₂ O ₂ Si	560	746
3-Methyl-2-ketobutyric acid, TBDMS	C ₁₁ H ₂₂ O ₃ Si	564	753
3-Pyridinol, TBDMS derivative	C ₁₁ H ₁₉ NOSi	587	792
Maltol, TBDMS	C ₁₂ H ₂₀ O ₃ Si	603	766
2-Butoxyethanol, TBDMS	C ₁₂ H ₂₆ O ₂ Si	604	743
Phenol, TBDMS	C ₁₂ H ₂₀ OSi	605	801
Hexanoic acid, TBDMS	C ₁₂ H ₂₂ O ₂ Si	611	923
Levulinic acid, TBDMS	C ₁₁ H ₂₂ O ₃ Si	665	835
m-Cresol, TBDMS	C ₁₃ H ₂₂ OSi	685	936
Tiglic acid, TBDMS	C ₁₁ H ₂₂ O ₂ Si	723	750
2-Octenoic acid, TBDMS	C ₁₄ H ₂₈ O ₂ Si	759	718
Benzoic Acid, TBDMS	C ₁₃ H ₂₀ O ₂ Si	764	948
Lactic acid, 2TBDMS	C ₁₅ H ₃₄ O ₃ Si ₂	765	871
Glycine, 2TBDMS	C ₁₄ H ₃₃ NO ₂ Si ₂	796	736
Glycolic acid, 2TBDMS	C ₁₄ H ₃₂ O ₃ Si ₂	776	862
Phenylacetic acid, TBDMS	C ₁₄ H ₂₂ O ₂ Si	792	851
L-Alanine, 2TBDMS	C ₁₅ H ₃₅ NO ₂ Si ₂	799	903
Oxalic acid, 2TBDMS	C ₁₄ H ₃₀ O ₄ Si ₂	807	894
Uracil, 2TBDMS	C ₁₆ H ₃₂ N ₂ O ₂ Si ₂	842	708
a-Hydroxybutyric acid, TBDMS	C ₁₆ H ₃₆ O ₃ Si ₂	814	900
DL-Glyceraldehyde, 2TBDMS	C ₁₅ H ₃₄ O ₃ Si ₂	819	839
3-Hydroxypropionic acid, 2TBDMS	C ₁₅ H ₃₄ O ₃ Si ₂	828	809
Nonanoic acid, TBDMS	C ₁₅ H ₃₂ O ₂ Si	832	881
Urea, 2TBDMS	C ₁₃ H ₃₂ N ₂ O ₂ Si ₂	878	786
3-Hydroxybutyric acid, 2TBDMS	C ₁₆ H ₃₆ O ₃ Si ₂	838	912
2-Hydroxyisovalerate, 2TBDMS	C ₁₇ H ₃₈ O ₃ Si ₂	846	794
2-Aminobutanoic acid, TBMS	C ₁₆ H ₃₇ NO ₂ Si ₂	848	884
Decanoic acid, TBDMS	C ₁₆ H ₃₄ O ₂ Si	899	724
Benzenepropanoic acid, TBDMS	C ₁₅ H ₂₄ O ₂ Si	870	704
Benzophenone-d10 (ISTD)	C ₁₁ H ₁₆ N ₂ O	872	637
(±)-2-Phenylpropanoic Acid, TBDMS	C ₁₅ H ₂₄ O ₂ Si	875	754
L-Valine, 2TBDMS	C ₁₇ H ₃₉ NO ₂ Si ₂	882	797
Succinic acid, 2TBDMS	C ₁₆ H ₃₄ O ₄ Si ₂	948	705
1-Dodecanol, TBDMS	C ₁₈ H ₄₀ OSi	968	752
L-Leucine, 2TBDMS	C ₁₈ H ₄₁ NO ₂ Si ₂	909	912
Isoleucine, 2TBDMS	C ₁₈ H ₄₁ NO ₂ Si ₂	930	885
3,4-Dimethylbenzoic acid, TBDMS	C ₁₅ H ₂₄ O ₂ Si	934	854
3-methyl-2-oxopentanoic acid, 2TBDMS	C ₁₈ H ₃₈ O ₃ Si ₂	946	738
L-Proline, 2TBDMS	C ₁₇ H ₃₇ NO ₂ Si ₂	955	852
L-Serine, 3TBDMS	C ₂₁ H ₄₉ NO ₃ Si ₃	1090	725

Name	Fórmula	R.T. (s)	Similarity
Glycerol, 3TBDMS	C ₂₁ H ₅₀ O ₃ Si ₃	1024	908
Dodecanoic acid, TBDMS	C ₁₈ H ₃₈ O ₂ Si	1025	866
Erythrono-1,4-lactone, 2TBDMS	C ₁₆ H ₃₄ O ₂ Si ₂	1027	865
L-Aspartic acid, 3TBDMS	C ₂₂ H ₄₉ NO ₄ Si ₃	1181	825
L-Pyrogutamic acid, 2TBDMS	C ₁₇ H ₃₅ NO ₃ Si ₂	1067	887
Glyceric acid, 3TBDMS	C ₂₁ H ₄₈ O ₄ Si ₃	1069	786
Salicylic acid, 2TBDMS	C ₁₉ H ₃₄ O ₃ Si ₂	1076	839
L-Cysteine, 3TBDMS	C ₂₁ H ₄₉ NO ₂ SSi ₃	1208	715
N-Acetylaspartic acid, 2TBDMS	C ₁₈ H ₃₇ NO ₅ Si ₂	1080	715
L-Glutamic acid, 3TBDMS	C ₂₂ H ₅₁ NO ₄ Si ₃	1242	842
L-Threonine, 3TBDMS	C ₂₂ H ₅₁ NO ₃ Si ₃	1108	900
2-Hydroxybenzeneacetic acid, 2TBDMS	C ₂₀ H ₃₆ O ₃ Si ₂	1112	706
Malic acid, 3TBDMS	C ₂₂ H ₄₈ O ₅ Si ₃	1119	701
Myristoleic acid, TBDMS	C ₂₀ H ₄₀ O ₂ Si	1136	812
L-Lysine, 3TBDMS	C ₂₄ H ₅₆ N ₂ O ₂ Si ₃	1295	795
Myristic acid, TBDMS	C ₂₀ H ₄₂ O ₂ Si	1141	942
L-Phenylalanine, 2TBDMS	C ₂₁ H ₃₉ NO ₂ Si ₂	1147	878
Hippuric acid, 2TBDMS	C ₁₅ H ₂₃ NO ₃ Si	1148	905
4-Hydroxybenzoic acid, 2TBDMS	C ₁₉ H ₃₄ O ₃ Si ₂	1160	784
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, TBDMS	C ₂₄ H ₄₆ O ₂ Si	1332	774
Pentadecanoic acid, TBDMS	C ₂₁ H ₄₄ O ₂ Si	1195	827
L-Histidine, 3TBDMS	C ₂₄ H ₅₁ N ₃ O ₂ Si ₃	1396	737
Hypoxanthine, 2TBDMS	C ₁₇ H ₃₂ N ₄ O ₂ Si ₂	1220	910
Arachidonic Acid, TBDMS	C ₂₆ H ₄₆ O ₂ Si	1406	829
Isovanillic acid, 2TBDMS	C ₂₀ H ₃₆ O ₄ Si ₂	1232	719
9-Hexadecenoic acid, (Z)-, TBDMS	C ₂₂ H ₄₄ O ₂ Si	1238	886
Palmitic Acid, TBDMS	C ₂₂ H ₄₆ O ₂ Si	1247	944
Doconexent, TBDMS	C ₂₈ H ₄₆ O ₂ Si	1491	796
Uric acid, 4TBDMS	C ₂₉ H ₆₀ N ₄ O ₃ Si ₄	1517	792
Margaric acid, TBDMS	C ₂₃ H ₄₈ O ₂ Si	1297	880
L-Glutamine, 3TBDMS	C ₂₃ H ₅₂ N ₂ O ₃ Si ₃	1317	795
Lignoceric acid, TBDMS	C ₃₀ H ₆₂ O ₂ Si	1608	763
Oleic Acid, (E)-, TBDMS	C ₂₄ H ₄₈ O ₂ Si	1334	948
Vaccenic acid, (E)-, TBDMS	C ₂₄ H ₄₈ O ₂ Si	1337	808
Stearic acid, TBDMS	C ₂₄ H ₅₀ O ₂ Si	1345	950
2-Hydroxyhippuric acid, 2TBDMS	C ₂₁ H ₃₇ NO ₄ Si ₂	1374	842
3,5-Dihydroxybenzoic acid, 3TBDMS	C ₂₅ H ₄₈ O ₄ Si ₃	1402	710
Citric acid, 4TBDMS	C ₃₀ H ₆₄ O ₇ Si ₄	1408	813
L-Tyrosine, 3TBDMS	C ₂₇ H ₅₃ NO ₃ Si ₃	1417	793
L-Tryptophan, 3TBDMS	C ₂₉ H ₅₄ N ₂ O ₂ Si ₃	1509	829
Cholesta-3,5-diene	C ₂₇ H ₄₄	1573	889
Cholesterol, TBDMS	C ₃₃ H ₆₀ OSi	1865	935

NOTAS TÉCNICAS

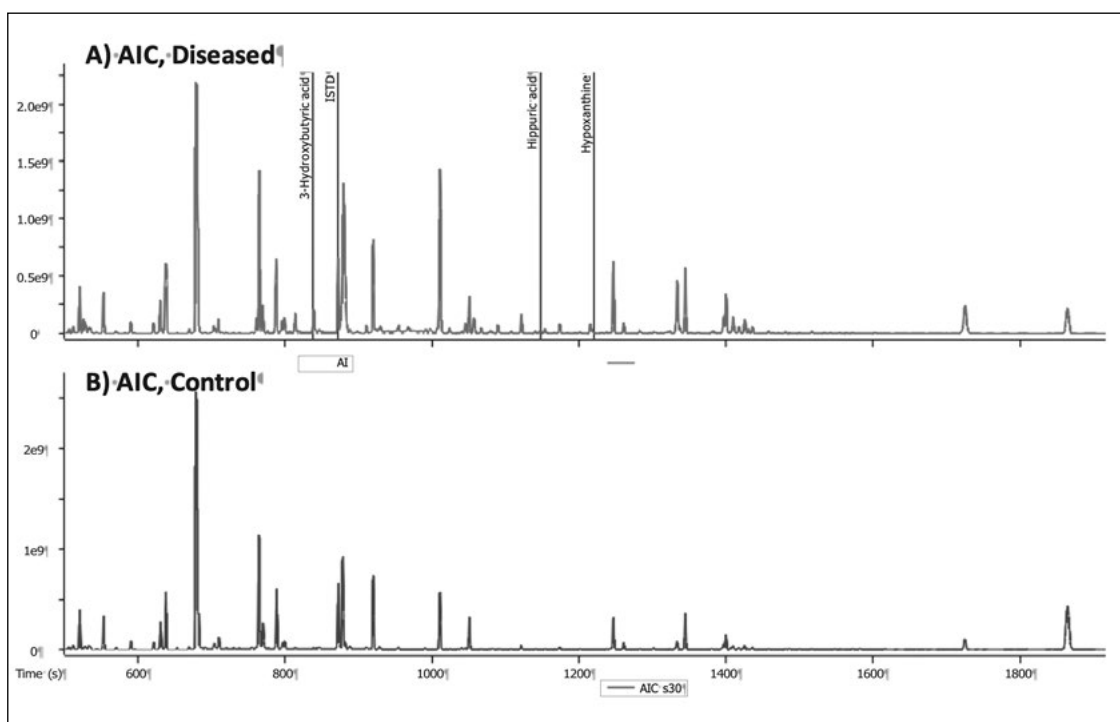


Figura 3. AICs para muestras T2DM (A) y control (B). Identificadores de pico para el ácido 3-hidroxibutírico, ácido hipúrico e hipoxantina mostrados en el XIC para la muestra de enfermos.

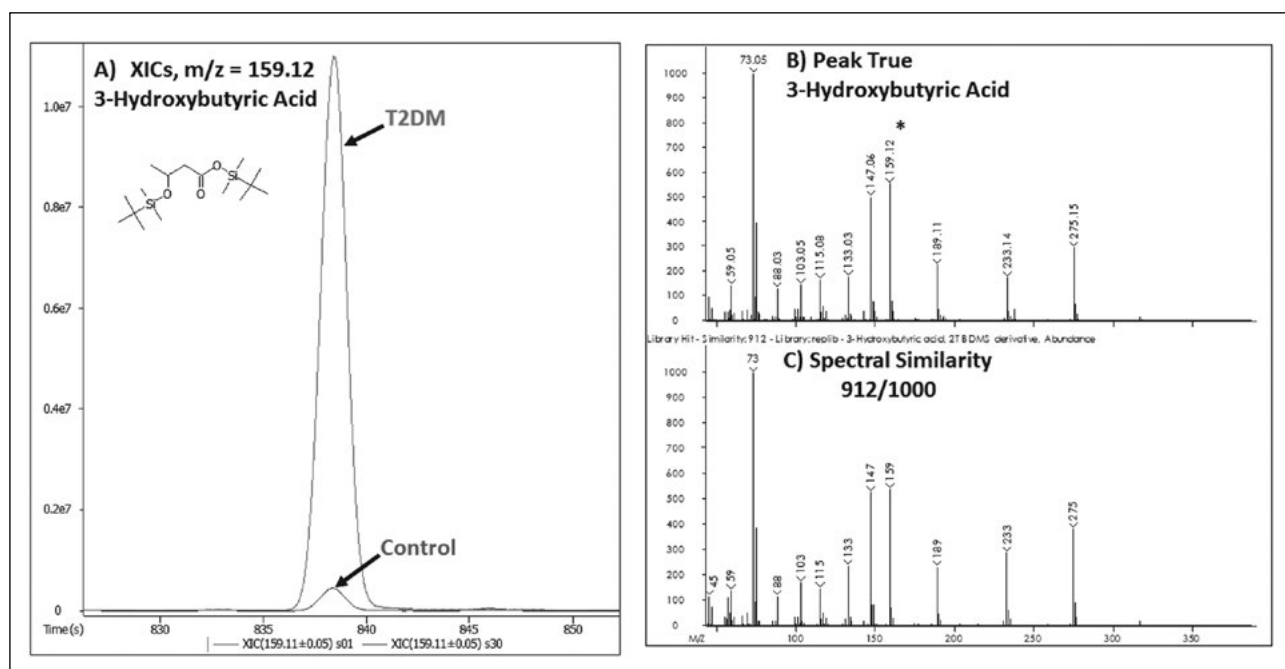


Figura 4. A) XIC ($m/z = 159.12$) para el ácido 3-hidroxibutírico en una muestra de control y T2DM, B) Peak True y C) espectro de la librería para el ácido 3-hidroxibutírico.

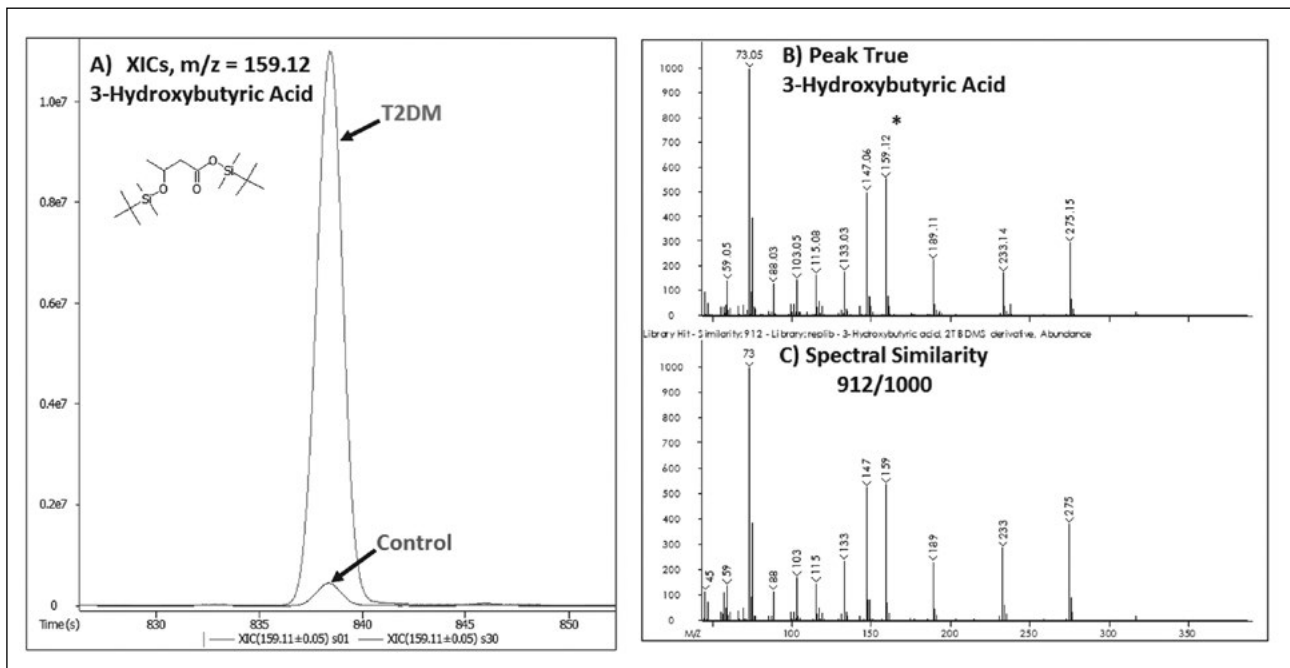


Figura 5. A) XIC ($m/z = 236.06$) para el ácido hipúrico en una muestra de control y T2DM, B) Peak True, y C) espectro de la librería para el ácido hipúrico.

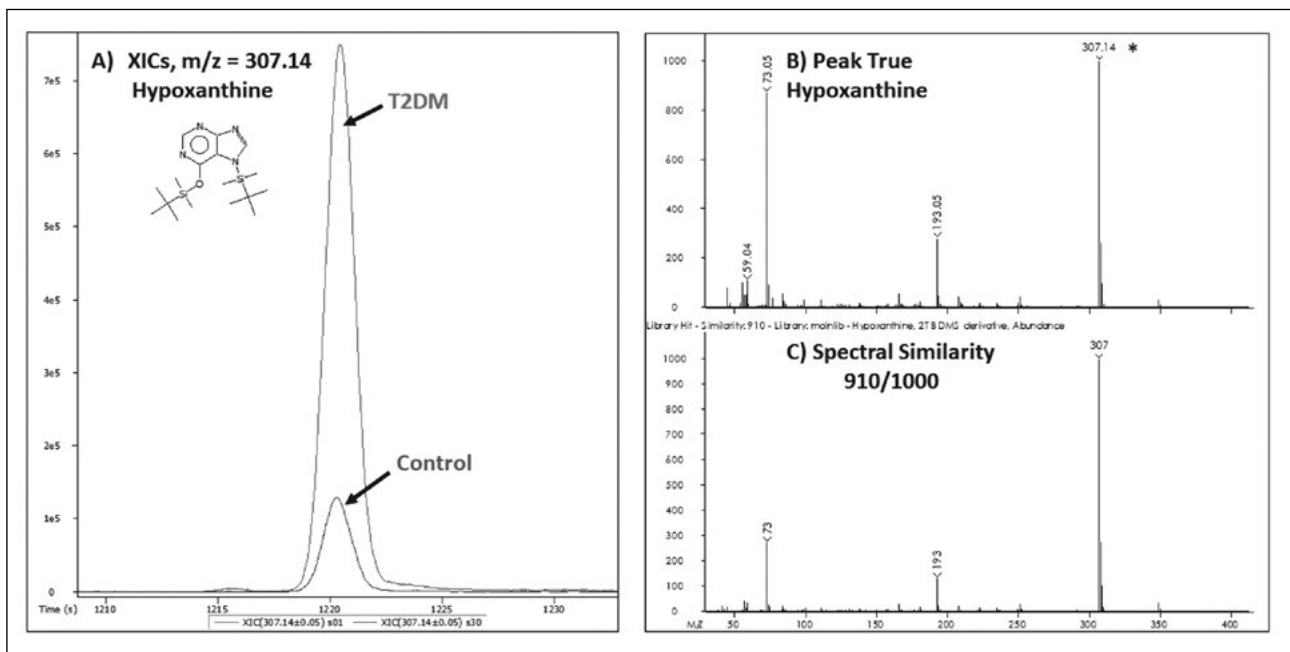


Figura 6. A) XIC ($m/z = 307.14$) for hipoxantina en una muestra de control y T2DM, B) Peak True y C) espectro de librería para la hipoxantina.

Conclusión

Se ha desarrollado un exhaustivo flujo de trabajo GC-TOFMS en metabolómica para el descubrimiento de potenciales marcadores T2DM empleando el Pegasus BT y los softwares ChromaTOF BT y ChromaTOF Sync de LECO. El flujo de trabajo incluye la preparación automatizada de la muestra, la recogida de datos y el procesamiento que caracteriza alineación de la estructura de datos y el análisis estadístico. La utilización de ChromaTOF Sync junto con el software ChromaTOF BT para el procesamiento de datos dio como resultado la caracterización segura de candidatos a biomarcadores de enfermedades.

Referencias

1. Gedela, S.; Rao, A. A.; Medicheria, N. R., *International Journal of Biomedical Science* **2007**, 3(4), 229-236.
2. Laakso, M., *Molecular Metabolism* **2019**, 27, S139-S146.
3. Long, G.; Yang, Z.; Wang, L.; Han, Y.; Peng, C.; Yan, C., y Yan, C., *BMC Endocrine Disorders*, **2020**, 20,174.
4. Long, L.; Liu, H.; Wang, Yan; Wang, Yuming; Liu, J.; Zhou, Z.; Chu, H.; Zhuang, P., y Zhang, Y., *Journal of Chromatography B*, **2015**, 997, 96-104.
5. Zhao, X.; Fritsche, J.; Wang, J.; Chen, J.; Rittig, K.; Schmitt-Kopplin, S.; Fritsche, A.; Haring, H-H.; Schleicher, E. D.; Xu, G., y Lehmann, R., *Metabolomics* **2010**, 7, 362-374.

ChromaTOF|SYNC



LECO Corporation | 3000 Lakeview Avenue | St. Joseph, MI 49085 | Phone: 800-292-6141 | 269-985-5496
info@leco.com • www.leco.com | ISO-9001:2015 Q-994 | LECO is a registered trademark of LECO Corporation.
Pegasus, ChromaTOF are registered trademarks of LECO Corporation.



**29TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON
ELECTRO- AND LIQUID PHASE-SEPARATION TECHNIQUES**

Rome – San Felice Circeo, September 13-17, 2023

Congreso patrocinado por SECyTA

NOVEDADES TÉCNICAS



LA CROMATOGRAFÍA AL SIGUIENTE NIVEL: NUEVO DISEÑO DE COLUMNAS DE VIDRIO SCHARLAU

Scharlab presenta la nueva columna cromatográfica Scharlau.

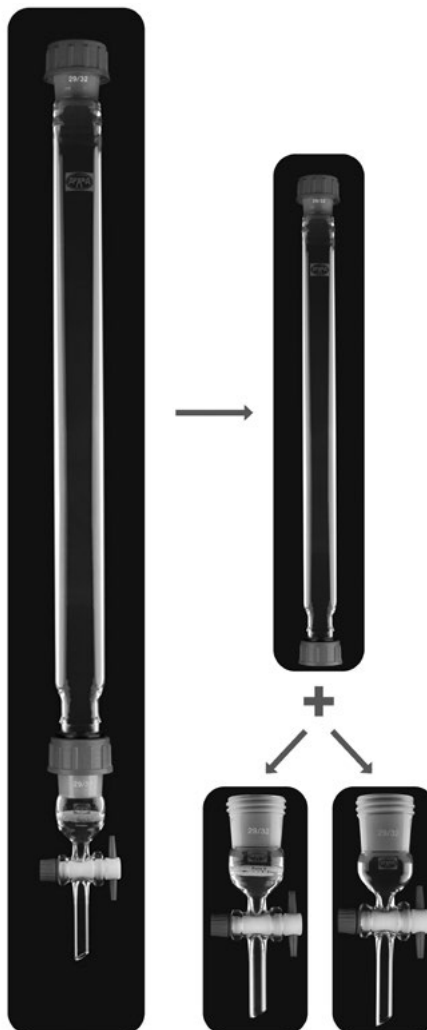
Las columnas de cromatografía de vidrio son muy valoradas en diversas aplicaciones debido a su alta resis-

tencia química y capacidad para soportar altas temperaturas. Entre sus aplicaciones comunes se encuentran la purificación de proteínas, el análisis de contaminantes, drogas y vitaminas, así como la purificación de ácidos nucleicos. En resumen, las columnas de cromatografía de vidrio son ampliamente utilizadas en la investigación científica y en la industria para separar, purificar y analizar una amplia variedad de compuestos químicos.

Este nuevo modelo exclusivo consta de dos componentes: un tubo de vidrio como columna de cromatografía universal y una llave con o sin placa porosa como segundo componente. El modelo tiene como objetivo transformar el método cromatográfico al hacer posible diferentes combinaciones, lo que permite personalizar la columna según las necesidades de la aplicación.

¿Listo para llevar tu cromatografía al siguiente nivel?

Transforma el método cromatográfico con las posibles combinaciones de componentes



Entre las ventajas de este diseño se encuentran la facilidad de cambio de placa porosa al cambiar el componente inferior, lo que ayuda a la limpieza de la placa, así como la posibilidad de intercambiar y adaptar los componentes para montajes múltiples, entre otros beneficios.

En este Product Info (QR) se detalla más información de interés sobre el rediseño de la columna cromatográfica, así como las referencias disponibles en stock.

<https://www.scharlab.com/publicaciones-publicacion.php?p=1569>

Referencia	Descripción
Q73QS71668	Columna H-M-SAV-14/23, ø14x300 mm útil, con tapón abierto y junta nitrilo
Q73QS71669	Columna H-M-SAV-29/32, ø24x400 mm útil, con tapón abierto y junta nitrilo
Q73QS71670	Columna H-M-SAV-29/32, ø34x400 mm útil, con tapón abierto y junta nitrilo
Q73QS71600	Columna H-M-SAV-29/32, ø40x400 mm útil, con tapón abierto y junta nitrilo
Q73QS71671	Columna H-M-SAV-29/32, ø44x400 mm útil, con tapón abierto y junta nitrilo
Q73QS71672	Adaptador para columna, H-SAV-14/23 y llave cónica PTFE con tapón abierto y junta
Q73QS71673	Adaptador para columna, H-SAV-14/23, con placa poro "0", llave cónica PTFE con tapón abierto y junta
Q73QS71601	Adaptador para columna, H-SAV-29/32 y llave cónica PTFE con tapón abierto y junta
Q73QS71602	Adaptador para columna, H-SAV-29/32, con placa poro "0", llave cónica PTFE con tapón abierto y junta

Para más información, visite la web de Scharlab www.scharlab.com o escriba a consultas@scharlab.com



**25th International Symposium on
Advances in Extraction
Technologies**
18th July 2023 – 21th July 2023



ExTech 2023 enerife

Congreso patrocinado por SECyTA

NORMAS DE PUBLICACIÓN

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

CTA CONSTA DE LAS SIGUIENTES SECCIONES:

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

ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

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

Normas generales de publicación

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

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

Los artículos pueden ser de los siguientes tipos:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

NUEVAS TESIS DOCTORALES

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

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

INFORMACIÓN BIBLIOGRÁFICA - ARTÍCULOS DE INTERÉS

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

NOTAS TÉCNICAS

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

NOVEDADES TÉCNICAS

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

PUBLICIDAD

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

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

OTRAS SECCIONES

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

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

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

Dra. Ana Cristina Soria Monzón

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

Dra. Ana Isabel Ruiz Matute

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

Dra. Mariluz Sanz Murias

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

Dr. Mario Fernández Martín

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

NORMATIVA DE CONCESIÓN DE AYUDAS PARA LA ASISTENCIA A CONGRESOS Y/O REUNIONES

Condiciones para la concesión de ayudas para la asistencia a Congresos/Reuniones de carácter nacional e internacional (aprobadas por la Junta de Gobierno de la SECyTA en sesión celebrada el 23 de enero de 2018)

1. Requisitos generales para optar a una beca concedida por la SECyTA.
 - 1.1. Ser miembro de la SECyTA.
 - 1.2. Encontrarse en una de las siguientes opciones:
 - 1.2.1. Realizando la tesis doctoral o un trabajo de investigación de máster o equivalente en un centro de investigación.
 - 1.2.2. En una etapa post-doctoral en un centro de investigación dentro de los 2 años posteriores a la lectura de la tesis doctoral y tener una antigüedad como socio de la SECyTA de, al menos, 2 años.
 - 1.3. No ser miembro de la plantilla laboral permanente del centro de investigación.
2. Requisitos adicionales para la asistencia a las Reuniones Científicas de la SECyTA.
 - 2.1. Se podrán conceder un máximo de 2 becas por investigador sénior (socio de la SECyTA) inscrito en la Reunión.
 - 2.2. Solo se podrá solicitar una ayuda por comunicación presentada en la Reunión.
3. Requisitos adicionales para la asistencia a Reuniones y/o Congresos Internacionales.
 - 3.1. Encontrarse en una de las siguientes opciones:
 - 3.1.1. Realizando la tesis doctoral o trabajo de investigación de máster o equivalente (como mínimo, en su segundo año) en un centro de investigación y tener una antigüedad mínima como socio de la SECyTA de 1 año.
 - 3.1.2. En una etapa post-doctoral en un centro de investigación dentro de los 2 años posteriores a la lectura de la tesis doctoral y tener una antigüedad como socio de la SECyTA de, al menos, 2 años.
 - 3.2. No haber disfrutado de otra beca semejante concedida por la SECyTA durante la realización del trabajo de investigación.
 - 3.3. 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.
 - 3.4. El solicitante al que se le conceda la ayuda contrae la obligación de elaborar un informe (en inglés) sobre el Congreso para su publicación en el Boletín y en la página web de la Sociedad. Si se conceden más de una beca para la asistencia a un mismo congreso se podrá elaborar el informe de forma conjunta.
 - 3.5. Tener aceptada una comunicación (oral o póster) en el congreso para el que se solicita la beca.
 - 3.6. Sólo se admitirán solicitudes hasta un mes antes de la celebración del Congreso
4. Requisitos adicionales para la asistencia a Reuniones y/o Congresos patrocinados por la SECyTA.
 - 4.1. Ser miembro de la SECyTA con una antigüedad superior a 1 año.
 - 4.2. No haber disfrutado de otra beca semejante en el mismo año natural.
 - 4.3. El solicitante al que se le conceda la ayuda contrae la obligación de elaborar un informe (en inglés) sobre el Congreso para su publicación en el Boletín y en la Página Web de la Sociedad. Si se conceden más de una beca para la asistencia a un mismo congreso se podrá elaborar el informe de forma conjunta.
 - 4.4. Tener aceptada una comunicación (oral o póster) en el congreso para el que se solicita la beca.
 - 4.5. Solo se admitirán solicitudes hasta un mes antes de la celebración del Congreso.

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

Dr. Juan Vicente Sancho Llopis
Instituto Universitario de Plaguicidas y Aguas
Departamento de Química Física y Analítica
Universitat Jaume I
Edificio de Investigación I
Campus del Riu Sec
Avda Vicente Sos Baynat, s/n
12071 Castelló de La Plana (Spain)
Tel.: +34 964 387 363
Fax: +34 964 387 368
e-mail: secretaria@secyta.es

Cuota anual: 30 EUROS

- 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 del Banco BBVA:
ES13 0182 4162 2702 0153 0059 (Sociedad Española de Cromatografía y Técnicas 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? (tache lo que NO proceda):
SI NO
- ¿Autoriza a que aparezcan su nombre y dirección de contacto en el apartado "Nuevos socios" del Boletín? (tache lo que NO proceda):
SI NO

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE CROMATOGRFÍA Y TÉCNICAS AFINES

HOJA DE INSCRIPCIÓN

Apellidos Nombre

DNI

Domicilio particular:

Calle Núm.

Municipio Provincia Código postal

Teléfono Correo electrónico

Industria u organización:

Calle Núm.

Municipio Provincia Código postal

Teléfono Correo electrónico

DATOS BANCARIOS

Banco/Caja de Ahorros

Sucursal

Dirección Ciudad

D.

Con domicilio en

Y con IBAN ES_ / _ / _ / _ / _ / _

en esta Sucursal, ruego a usted se digne 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 20

Firma:

SCIEX 7500 system



GO BEYOND robustness with breakthrough innovation...

INCOMPARABLE

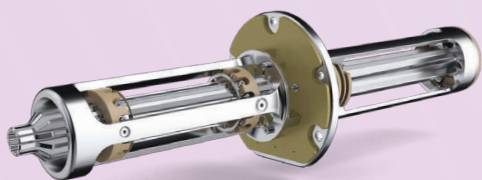
GO BEYOND sensitivity. Built with D Jet ion guide and integrated E Lens probe technology, the SCIEX 7500 system enables you to experience up to 7x increased sensitivity. Start detecting the previously undetectable and quantify at lower levels with impressive precision.

Visit <http://sciex.com/7500>



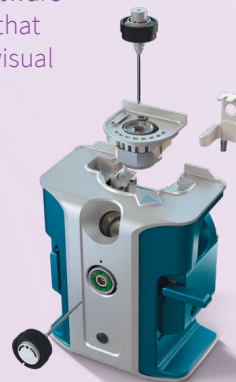
INGENIOUS

GO BEYOND your laboratory's current capabilities. Characterize analytes that were once masked by matrices using the D Jet Ion Guide. The unique design of the ion guide retains and captures more of the ion plume. The evolution of the Turbo V ion source, the OptiFlow Pro ion source, simplifies sample prep and utilizes E Lens probe technology to sample more ions, so you can get more from your ESI workflows.



PRODUCTIVE

GO BEYOND and expand your lab's potential to a new dimension of efficiencies, compound analysis and sample testing. The SCIEX 7500 system is powered by SCIEX OS software, a platform for this next generation of mass spectrometers. Experience intuitive software features and functions that are complemented by visual aids and components to enable quick, accurate and confident data review on the SCIEX 7500 system.



The QTRAP-enabled functionality opens up the SCIEX Triple Quad to a world of possibilities with MS/MS confirmation, enhanced selectivity with multiple reaction monitoring with multistage fragmentation (MRM³) and enhanced product ion (EPI) scan types.

GO BEYOND with the SCIEX 7500 system.

GO **BEYOND**

The SCIEX clinical diagnostic portfolio is For In Vitro Diagnostic Use, Rx Only. Product(s) not available in all countries. For information on availability, please contact your local sales representative or refer to www.sciex.com/diagnostics. All other products are For Research Use Only. Not for use in Diagnostic Procedures. Trademarks and/or registered trademarks mentioned herein, including associated logos, are the property of AB Sciex Pte. Ltd. or their respective owners in the United States and/or certain other countries (see www.sciex.com/trademarks). Echo and Echo MS are trademarks or registered trademarks of Labcyte, Inc. in the United States and other countries, and are being used under license. The images shown may be for illustration purposes only and may not be an exact representation of the product and/or the technology. Plates are available from Beckman Coulter Life Sciences. © 2022 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. Related to RUO-MKT-03-11712-A. AB SCIEX™ is being used under license.

26

Fe

Iron
56

15

P

Phosphorus
31ThermoFisher
SCIENTIFIC

24

Cr

Chromium
52

3

Li

Lithium
7

33

As

Arsenic
75

28

Ni

Nickel
59

Análisis de Trazas Elemental

Supere su complejidad

Eliminando los retos de los análisis de muestras complejas

Analizar muestras complejas en busca de elementos a nivel de trazas puede ser todo un reto. Diseñado para trabajar con usted. El ICP-MS de cuadrupolo simple Thermo Scientific™ iCAP™ RQplus le permite trabajar con muestras exigentes y de alta matriz. La dilución de gas argón preestablecida automatiza la preparación de muestras en línea para garantizar la robustez. La supervisión inteligente del rendimiento del instrumento y de los consumibles garantiza que su sistema funcione siempre dentro de los límites aceptables. El sistema se integra en su flujo de trabajo garantizando que su laboratorio funcione con la máxima productividad y el mínimo esfuerzo.

Más información en thermofisher.com/SQ-ICP-MS

thermo scientific