

CROMATOGRAFÍA Y TÉCNICAS AFINES

SECYTA

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
CROMATOGRAFÍA
Y TÉCNICAS AFINES

42

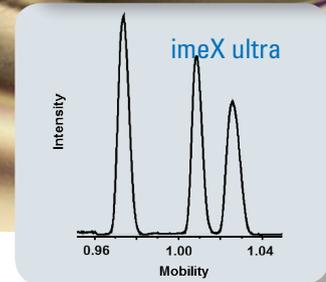
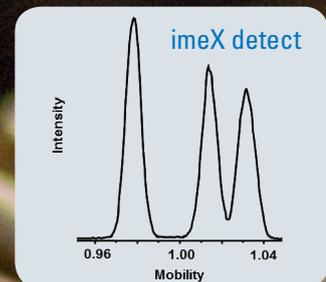
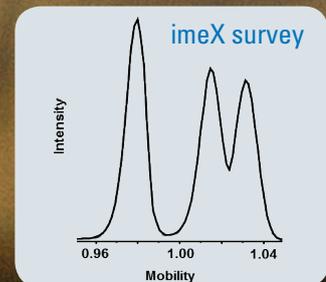
BOLETÍN DE LA SECYTA
VOLUMEN 42 NÚM. 1 (2021)
WWW.SECYTA.ORG



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, 2021, Vol. 42, núm. 1

ISSN 1132-1369

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

ÍNDICE

2 **EDITORIAL**

ARTÍCULO

3 El aprendizaje automático (*machine learning*) en el campo de la cromatografía: revisión sistemática de sus aplicaciones y análisis de espectros. *Carlos Sabater*

NOTICIAS DE LA SECyTA

17 Nuevos socios

INFORMACIONES

18 Calendario de actividades

19 Nuevas Tesis Doctorales

INFORMACIÓN BIBLIOGRÁFICA

21 Artículos de interés

24 Reseña de libros

DE NUESTRAS EMPRESAS COLABORADORAS

27 Notas técnicas

46 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,

Transcurrido más de un año desde el inicio de esta pandemia que ha afectado al planeta, comenzamos a tener las esperanzas puestas en el próximo curso académico, y en el regreso a la ansiada normalidad, una vez que la población esté vacunada y que se alcance la inmunidad colectiva. Soñamos con volver a nuestras actividades cotidianas y a disfrutar de las grandes y pequeñas cosas que hemos dejado de hacer o que hemos modificado debido a los criterios de precaución y a la distancia social que tanto han modificado nuestras vidas. Es en esta situación en la que la sociedad ha podido ser consciente del papel que desempeña la ciencia en el bienestar social. Como ha señalado el Director de la Comisión Europea, Jean-Eric Paquet “la pandemia ha demostrado que la investigación, la ciencia y la innovación ofrecen soluciones”. Es evidente que la recuperación hacia la que tenemos que avanzar pasa por una mayor inversión en ciencia y tecnología, y que la llegada de un virus de estas características ha puesto de manifiesto que es necesario un incremento del presupuesto destinado a I+D+i, además de incidir en la necesidad del Pacto por la Ciencia y la Innovación, presentado en marzo de este año por el ministro de Ciencia e Innovación, Pedro Duque, y suscrito por más de 60 entidades españolas. Este pacto refleja el acuerdo de la sociedad civil sobre el papel de la ciencia y la innovación en España y contempla una serie de compromisos concretos en cuanto a recursos, personal y organización del sistema, principalmente para incrementar de forma sostenible la inversión pública en I+D+i. Está claro que la sociedad está concienciada de los beneficios de la ciencia y la innovación, y es evidente la necesidad de un aumento en el presupuesto destinado a investigación científica que mejore la financiación de la investigación básica de calidad y también los incentivos a la transferencia de conocimiento.

En este panorama en el que nos encontramos, y después de más de un año difícil, en el que hemos visto afectada nuestra actividad, hemos de ser más conscientes de nuestra labor y de cómo incide en la sociedad, tanto en el aspecto relacionado con nuestras contribuciones científicas, como en la importante misión que realizamos de formar a jóvenes investigadores que son nuestro futuro. En este sentido, y sobre todo en relación con esos jóvenes que siempre han tenido un papel fundamental para la SECyTA, es por lo que en la Junta de Gobierno pensamos que no podíamos dejar pasar el año 2021 sin organizar una reunión científica, aunque fuese de manera virtual. Creemos que necesitamos volver a reunirnos (aunque sea de otro modo), dar a conocer el trabajo que se ha realizado en este tiempo y, sobre todo, ofrecer a los jóvenes socios la oportunidad de presentar sus trabajos y de aprender de otros investigadores. Nos hemos enfrentado a la aplicación de tecnologías digitales para solventar los problemas asociados al confinamiento y al distanciamiento social, de modo que, aunque no sea éste el espíritu de nuestra reuniones, y aunque nos falten esos actos sociales que tanto cuidan los organizadores locales y tanto apreciamos y disfrutamos los socios, con la experiencia acumulada pensamos que la XX Reunión Científica de la SECyTA (49ª Reunión del Grupo de Cromatografía y Técnicas Afines) que tendrá lugar de modo virtual los días 18 y 19 de Noviembre de 2021, puede ser un buen modo de retomar el contacto, por lo que esperamos vuestras contribuciones y nos gustaría contar con el apoyo de las empresas colaboradoras, que son tan relevantes para nuestra sociedad.

Queremos recordaros que la SECyTA continúa apoyando a los socios jóvenes con la concesión de ayudas a la participación en congresos patrocinados, y que seguirá apoyando su participación en nuestra reunión, incluyendo la convocatoria de los Premios José Antonio García Domínguez para sus comunicaciones, como en anteriores ediciones. Además, seguimos insistiendo en la participación en este Boletín, mediante el envío de los resúmenes de Tesis Doctorales o artículos y revisiones sobre las diversas líneas de investigación.

Para finalizar, quiero desearos en mi nombre y en el de la Junta de Gobierno unas felices vacaciones y un buen y merecido descanso en este verano y, desde aquí, os animo a participar en la próxima reunión SECyTA 2021 – edición virtual, que quedará en nuestra historia como testimonio de la situación mundial que nos ha tocado vivir, pero que queremos afrontar con ilusión, intentando preparar un programa científico interesante y atractivo, especialmente para nuestros socios más jóvenes y en el que tengan cabida conferenciantes que nos expongan temas de actualidad, además de vuestras contribuciones, y en el que participen las casas comerciales mostrando los últimos avances en instrumentación. Estoy convencida de que entre todos haremos posible que la reunión sea un éxito.

ANA M. GARCÍA CAMPAÑA
Presidenta de SECyTA

ARTÍCULO

El aprendizaje automático (*machine learning*) en el campo de la cromatografía: revisión sistemática de sus aplicaciones y análisis de espectros

Carlos Sabater^{1,2}

¹ Departamento de Microbiología y Bioquímica de Productos Lácteos, Instituto de Productos Lácteos de Asturias-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IPLA-CSIC), Paseo Río Linares s/n, 33300, Villaviciosa, Asturias, España.

² Grupo de Funcionalidad y Ecología de Microorganismos Beneficiosos (*MicroHealth*), Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA), Oviedo, Asturias, Spain.

Teléfono: (+34) 985 89 21 31 / carlos.sabater@cisc.es

RESUMEN

La cromatografía y su acoplamiento a técnicas como la espectrometría de masas generan una gran cantidad de datos que son difíciles de procesar. Para solucionar este problema, se han desarrollado diferentes programas informáticos basados en los algoritmos de aprendizaje automático. Esta revisión aporta una visión general de todas las aplicaciones publicadas hasta la fecha del aprendizaje automático en el tratamiento de datos cromatográficos, utilizando para ello distintas herramientas del propio aprendizaje automático para llevar a cabo la revisión de manera sistemática. Como principales tendencias en investigación dentro de este campo se han evidenciado aquellas relacionadas con el análisis de compuestos volátiles, el desarrollo de nuevos métodos de análisis, la predicción de propiedades cromatográficas y el análisis de perfiles metabolómicos y proteómicos. Además, se presentan algunas aplicaciones más específicas de este tipo de modelos para la interpretación de espectros de masas, que facilitan el descubrimiento de nuevas relaciones estructura-actividad para compuestos funcionales.

Palabras clave: aprendizaje automático, tratamiento de datos, revisión sistemática, síntesis de la evidencia, espectrometría de masas *in silico*.

1. INTRODUCCIÓN

Los últimos avances realizados en cromatografía y su acoplamiento a otras técnicas como la espectrometría de masas han potenciado la investigación en campos de gran relevancia en la actualidad, como la metabolómica, llegando a convertirse en la metodología de referencia para la identificación y la caracterización

estructural de metabolitos y moléculas pequeñas de interés biológico (Yi y col., 2016). Sin embargo, estas técnicas generan grandes volúmenes de datos muy complejos que, a menudo, son difíciles de interpretar para extraer la información química de interés (Boccard y Rudaz, 2014; Yi y col., 2016). Además, la identificación de compuestos desconocidos es uno de los principales cuellos de botella en este tipo de análisis. Por tanto, se han desarrollado diferentes herramientas computacionales para procesar datos cromatográficos y espectros de masas, así como para asistir a la elucidación estructural de compuestos y facilitar la comparación de distintas muestras en función de sus perfiles analíticos (Behkami y col., 2019; Jiménez-Carvelo y col., 2019).

Dentro de los programas informáticos que se han utilizado para asistir al análisis instrumental, destaca el aprendizaje automático (*machine learning*), que comprende diferentes familias de algoritmos diseñados para realizar predicciones con gran exactitud y reproducibilidad (Mohri y col., 2018). Estos algoritmos constan de una serie de parámetros que es preciso optimizar a través de un proceso que se conoce como aprendizaje, en el cual el programa trata de inferir las relaciones matemáticas existentes en una serie de datos experimentales. Una vez se establecen estas relaciones mediante funciones matemáticas, los algoritmos pueden utilizarse para predecir las propiedades de un nuevo conjunto de datos, de tal manera que sus resultados son extrapolables a otras muestras de naturaleza similar (Alpaydin, 2014). La mayoría de modelos de aprendizaje automático empleados en el campo de la química analítica se pueden dividir en supervisados, donde se posee información *a priori* de la estructura de los datos con los que se quiere entrenar el modelo (por ejemplo, muestras adulteradas y sin adulterar o pertenecientes a pacientes con distintas patologías), y no supervisados, donde el modelo

establece similitudes y diferencias entre las muestras sin necesidad de ninguna clase de información previa.

Como se ha explicado, la capacidad de estos modelos informáticos para poder realizar predicciones fácilmente generalizables, así como para facilitar el manejo de grandes volúmenes de datos, han potenciado su uso en distintos campos relacionados con la cromatografía y la espectrometría de masas, como las técnicas ómicas. Así, algunos ejemplos de aplicación incluyen el descubrimiento de nuevos biomarcadores (Rohart y col., 2017) o el establecimiento de relaciones estructura-propiedad de distintas moléculas en base a sus perfiles cromatográficos (Rojas y col., 2019; Yu y col., 2019). Otros ejemplos relacionados con el análisis de productos específicos incluyen la detección rápida de adulteraciones y contaminantes de origen microbiológico en aceites (de Santana y col., 2019; Liu y col., 2019a) y la determinación de la calidad, el origen geográfico y la autenticidad de ajo, café, fruta, queso, miel y té (Behkami y col., 2019; Jiménez-Carvelo y col., 2019; Liu y col., 2019b; Xu y col., 2019).

Debido al amplio rango de aplicaciones posibles, el objetivo de este trabajo es la realización de una revisión sistemática donde se aporte una visión general de todos los artículos publicados hasta la fecha donde los algoritmos de aprendizaje automático se hayan utilizado para asistir el análisis cromatográfico, profundizando en los conceptos clave y en las distintas líneas de investigación dentro de este campo. Por último, se presentan algunas aplicaciones más específicas del aprendizaje automático en relación a la elucidación estructural de compuestos a partir de espectros de masas.

2. VISIÓN GENERAL DEL ÁREA

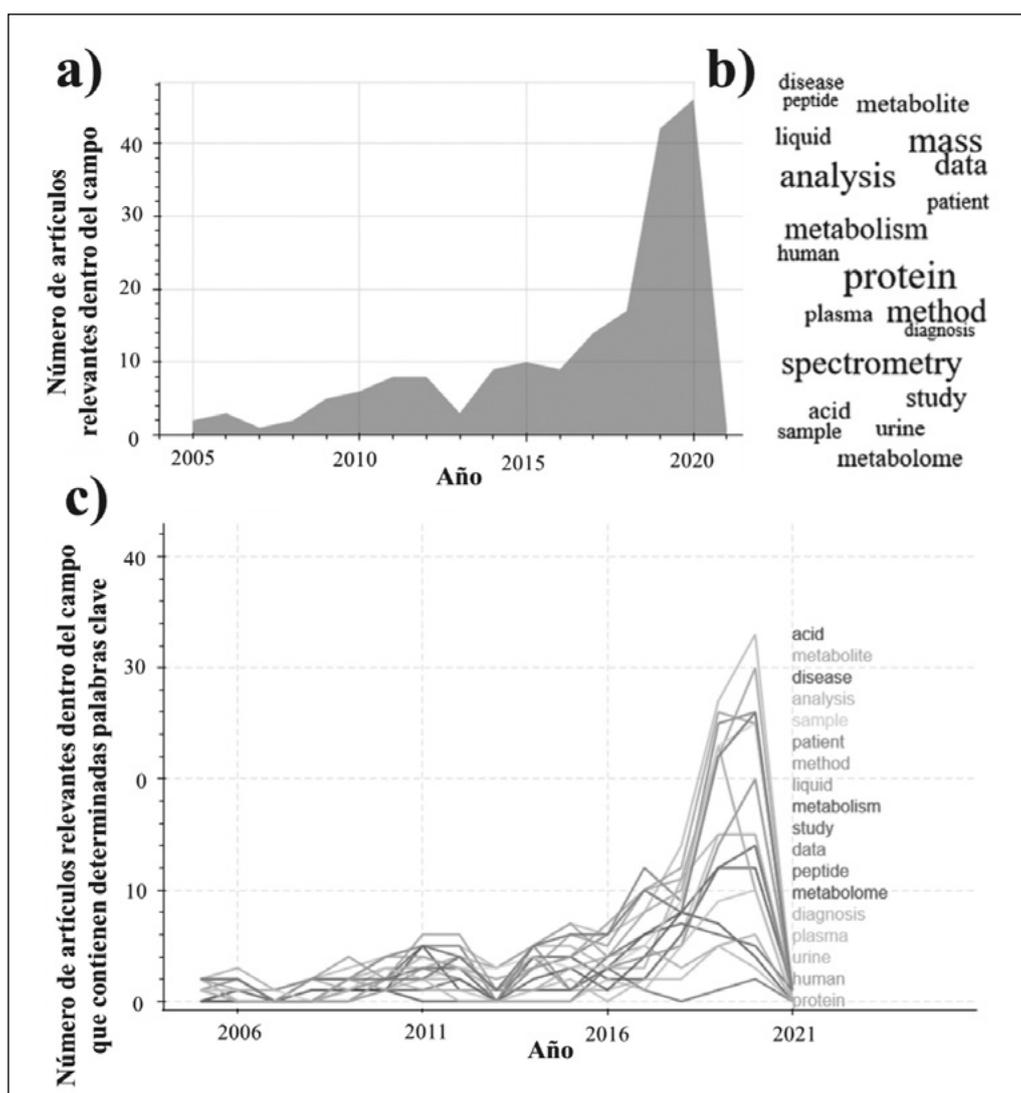
En primer lugar, y con el fin de obtener una visión general de las posibles aplicaciones del aprendizaje automático en el campo de la cromatografía, se realizó un estudio de los artículos más influyentes en este tema, considerando distintos parámetros bibliográficos como el análisis de co-citas, así como la evolución de las principales palabras clave y temas dentro de esta rama del conocimiento a lo largo del tiempo, utilizando para ello la correspondiente terminología inglesa (i.e. *keywords* y *topics*). Para ello, se utilizó la herramienta informática "PubTrends" desarrollada por Nikiforovskaya y col. (2020), que permite la generación semi-automática de revisiones bibliográficas.

Este programa se basa a su vez en el propio aprendizaje automático para extraer y sintetizar información relevante de la base de datos "PubMed", siendo una de las numerosas aplicaciones de este tipo de modelos computacionales que, no sólo contribuyen a mejorar la interpretación de los datos experimentales, sino que aportan una serie de ventajas adicionales a la hora de realizar revisiones bibliográficas sistemáticas, como una mayor rapidez y reproducibilidad (Grames y col., 2019; van de Schoot y col., 2021). En el caso concreto de la aplicación "PubTrends", se ha desarrollado un servidor web que facilita su manejo (<https://pubtrends.net/>), siendo accesible a la mayoría de usuarios. Para este trabajo, se introdujeron los siguientes términos de búsqueda en inglés: "machine learning" y "chromatography". Mediante esta búsqueda (realizada por última vez con fecha 10/05/2021), se encontraron un total de 186 artículos científicos influyentes en el área, pertenecientes a 5 principales *topics*.

Toda la información bibliográfica recopilada se muestra en la **Figura 1**. Como se puede observar, las primeras aplicaciones del aprendizaje automático en cromatografía comenzaron a publicarse en el año 2005 (**Figura 1a**). Sin embargo, la mayoría de artículos influyentes se han publicado a partir del año 2018, poniendo de manifiesto la actualidad del tema. A pesar de ello, algunas de las primeras aplicaciones del aprendizaje automático descritas para identificar posibles interacciones proteína-proteína en *Saccharomyces cerevisiae* (Krogan y col., 2006), así como para discriminar espectros de péptidos procedentes de hidrolizados de *S. cerevisiae* con tripsina (Käll y col., 2007) a partir de datos de cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas, superaron las 2000 y 1000 citas, respectivamente. Este elevado número de citas subraya la importancia de esta metodología desde el momento de su incorporación al análisis de datos analíticos. El reciente incremento de la actividad científica en este campo ha sido posible gracias a los últimos avances tecnológicos en informática, que han facilitado la implementación de este tipo de algoritmos en distintas áreas del conocimiento como la química, la biología, el diseño de fármacos o la medicina (Rodrigues, 2018; Rajkomar y col., 2019). Este amplio rango de aplicaciones en disciplinas científicas diversas favorece un enfoque multidisciplinar de los estudios, tal y como reflejan las principales palabras clave generadas durante la búsqueda (**Figura 1b**), poniendo de manifiesto las relaciones existentes entre el aprendizaje automático y la cromatografía, y otras técnicas analíticas como la espectrometría de masas,

para determinar diferentes metabolitos y marcadores bioquímicos, así como para mejorar el diagnóstico de distintas patologías. Dentro de todos los conceptos clave mostrados, los términos que se repiten con más frecuencia se representan con un tamaño de letra mayor, encontrándose términos específicos relacionados con la proteómica y la metabolómica, junto a otros términos más genéricos derivados del nombre de las técnicas cromatográficas. Cabe destacar que la frecuencia de todas aquellas palabras clave relacionadas con la metabolómica y la práctica clínica ha aumentado notablemente en los últimos años (**Figura 1c**), mostrando una tendencia actual a integrar los últimos avances en química analítica y ciencias de la computación en el ámbito biosanitario, y diferenciándose así del resto de términos más inespecíficos que genera automáticamente el programa "PubTrends" y no presentan una evolución tan pronunciada.

A partir de estas palabras clave, es posible obtener una serie de *topics* que revelan las principales líneas de investigación dentro del campo y ordenarlas en función del número de artículos publicados dentro de cada una de ellas: 1) Análisis de compuestos volátiles para el diagnóstico de pacientes, 2) desarrollo de nuevos métodos de análisis, 3) predicción de los tiempos de retención de diferentes moléculas en cromatografía líquida, 4) análisis de perfiles metabolómicos, y 5) realización de estudios proteómicos. Todas estas líneas han experimentado un crecimiento muy pronunciado a partir de los años 2017-2018, con la excepción de las aplicaciones del aprendizaje automático en la proteómica (**Figura 1d**), que han perdido cierto interés en favor de su aplicación en la metabolómica (**Figura 1e**). Esta tendencia aparece representada mediante dos barras longitudinales a la izquierda de la **Figura**



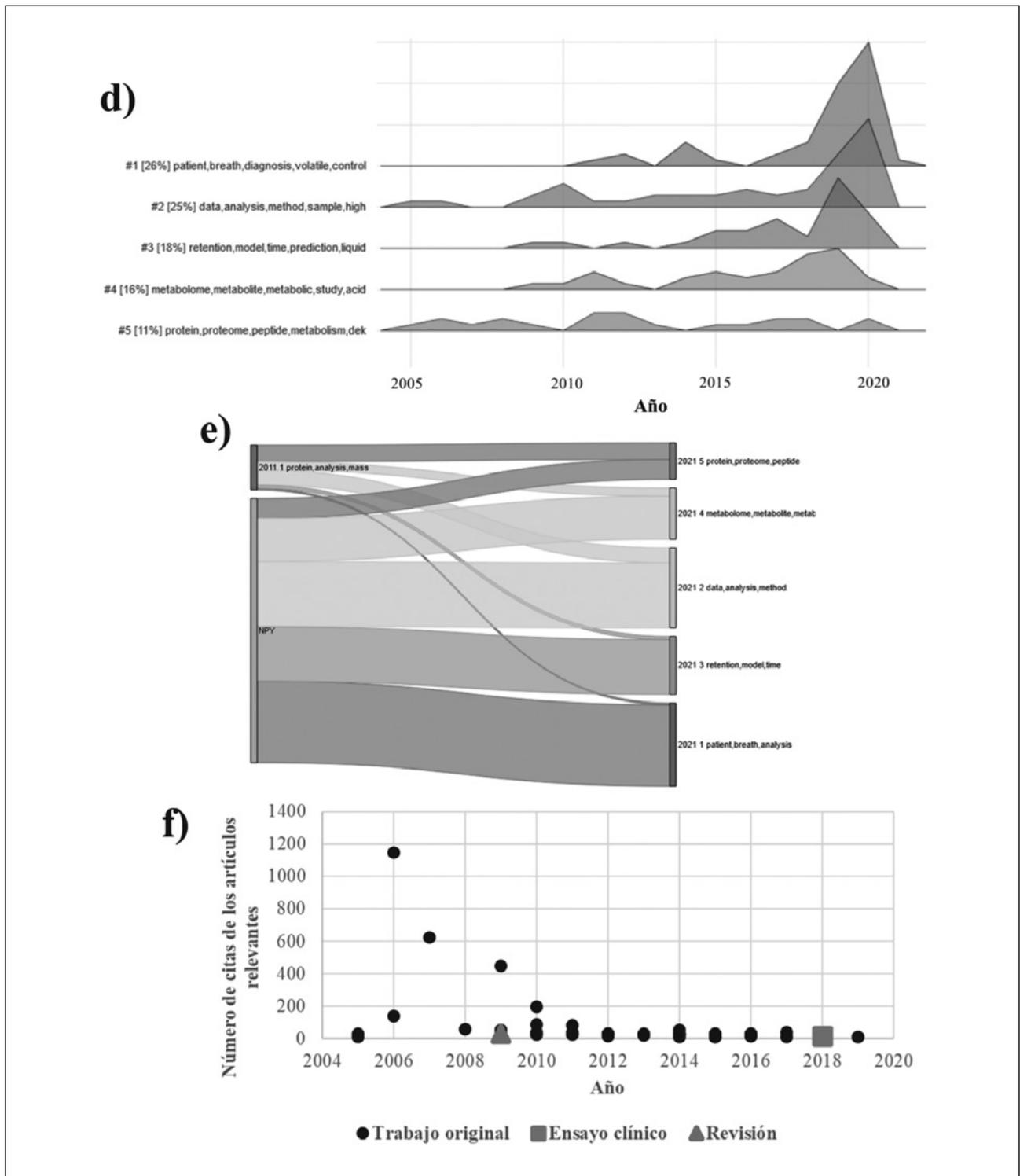


Figura 1. a) Número de artículos relevantes sobre la utilización del aprendizaje automático en el campo de la cromatografía publicados recientemente. b) Principales palabras clave asociadas a los estudios más relevantes. c) Evolución temporal del número de artículos que contienen determinadas palabras clave. d) Evolución temporal de las principales líneas de investigación o *topics*, expresada como porcentaje respecto al total de publicaciones dentro del campo. e) Relaciones entre las distintas líneas de investigación y consolidación de las mismas en los últimos años. f) evolución del número de citas de los artículos más relevantes a lo largo del tiempo considerando el tipo de artículo (trabajo original, ensayo clínico o revisión).

ra 1e, correspondientes a la línea de investigación en proteómica (que ya estaba consolidada en el año 2011) y a una serie de trabajos que no pertenecían a ninguna línea de investigación consolidada en 2011 (indicada mediante el término “not published yet”, NPY). Como se puede observar, a partir de esta fecha ha aumentado el número de publicaciones más específicas, pudiéndose agrupar en nuevas categorías distintas de la proteómica y dando lugar a las diferentes líneas de investigación descritas anteriormente. Las bandas que conectan los distintos bloques representan el aumento en el porcentaje de publicaciones de un determinado campo en detrimento de otro, siendo el grosor de la banda directamente proporcional a la magnitud de dicho porcentaje. Como se ha explicado, a lo largo de la última década se han potenciado otras líneas de investigación más novedosas.

Por otra parte, y como era de esperar, la gran mayoría de las citas de los trabajos publicados corresponden a artículos experimentales (Figura 1f) donde se describe el tratamiento de datos procedentes del análisis cromatográfico de muestras biológicas, habiéndose

dose citado recientemente y de manera significativa algunos ensayos clínicos donde el aprendizaje automático resulta de gran utilidad para elucidar perfiles metabólicos en base a distintos biomarcadores como se ha explicado anteriormente (Figuras 1b-f). La Tabla 1 recopila las principales revistas donde se han publicado estos trabajos, pertenecientes a diversas áreas del conocimiento estrechamente relacionadas con la química analítica, como la biología computacional, la bioquímica y la biología molecular. De manera general, estas revistas pertenecen al primer cuartil de sus respectivas áreas, destacando la elevada diversidad de grupos editoriales implicados, lo que pone de manifiesto el interés creciente de estas técnicas en un ámbito general, sin necesidad de restringirse a unas ramas concretas.

Este estudio bibliométrico constituye la primera evaluación global de las principales aplicaciones de los algoritmos de aprendizaje automático en el análisis de datos cromatográficos y pone de manifiesto el interés y utilidad de combinar ambas técnicas en otras áreas menos abordadas hasta el momento.

Tabla 1. Listado de las 10 revistas donde se han publicado los artículos más influyentes (en función de sus indicadores bibliométricos como el análisis de co-citaciones) en el campo del aprendizaje automático y la cromatografía. Los factores de impacto de cada revista, correspondientes al año 2019 (el más reciente del que se dispone), se han obtenido a partir del *InCites Journal Citation Reports*.

Nombre de la revista	Grupo editorial	Factor de impacto (2019) / Cuartil (área de conocimiento)	Artículos influyentes (n)
<i>PloS one</i>	Public Library of Science	2.740 / Q2 (Multidisciplinary Sciences)	13
<i>Analytical Chemistry</i>	American Chemical Society	6.785 / Q1 (Chemistry, Analytical)	12
<i>Bioinformatics</i>	Oxford University Press	5.610 / Q1 (Mathematical & Computational Biology)*	5
<i>Molecular & Cellular Proteomics</i>	American Society for Biochemistry and Molecular Biology	4.870 / Q1 (Biochemical Research Methods)	5
<i>Scientific Reports</i>	Nature Publishing Group	3.998 / Q1 (Multidisciplinary Sciences)	5
<i>Journal of Chromatography A</i>	Elsevier	4.049 / Q1 (Biochemical Research Methods)*	4
<i>Metabolites</i>	MDPI	4.097 / Q2 (Biochemistry & Molecular Biology)	4
<i>Metabolomics</i>	Springer	2.881 / Q3 (Endocrinology & Metabolism)	4
<i>Talanta</i>	Elsevier	5.339 / Q1 (Chemistry, Analytical)	4
<i>Journal of Proteome Research</i>	American Chemical Society	4.074 / Q1 (Biochemical Research Methods)	4

* En caso de que la revista pertenezca a distintas áreas de conocimiento, se muestra el área donde ocupa una posición más destacada.

3. ESTUDIO PORMENORIZADO DE LOS CONCEPTOS CLAVE

Para conocer con mayor profundidad cómo se relacionan todos los conceptos descritos en el apartado anterior y detallar las líneas de investigación dentro del área de interés (“aplicaciones del aprendizaje automático en la cromatografía”), se realizó un segundo análisis bibliométrico utilizando herramientas de programación más avanzadas. De esta manera, se generaron una serie de modelos utilizando diferentes librerías de funciones (también denominadas bibliotecas o módulos) del lenguaje de programación R v3.6.2 (R Core Team, 2019), específicas para el análisis bibliográfico, que se detallan a continuación. Una de las ventajas de este tratamiento de datos adicional es que permite procesar de manera masiva no sólo los artículos más relevantes, sino toda la evidencia científica publicada hasta la fecha en un campo concreto. Además, no se limita a una única base de datos (PubMed en el primer estudio) y permite descubrir relaciones complejas entre conceptos y palabras clave de los artículos, complementando la información generada acerca de las principales líneas de investigación o *topics* descritas en el apartado anterior. En este sentido, una de las principales limitaciones de la búsqueda bibliográfica consiste en la dificultad de seleccionar los términos adecuados para obtener toda la evidencia científica generada sobre un determinado tema, ya que podrían no tenerse en cuenta determinadas palabras clave utilizadas habitualmente en los trabajos, dando lugar a búsquedas incompletas y pérdida de información. Una forma de solucionar este problema consistiría en la selección semiautomática de palabras clave mediante programas informáticos diseñados específicamente para abarcar todos los estudios realizados en un campo (Grames y col., 2019). A continuación, se muestra un ejemplo del flujo de trabajo típico.

En primer lugar, se realizó una búsqueda avanzada en algunas de las principales bases de datos incluyendo PubMed, Scopus, Web of Science y Google Scholar. Para obtener la mayor cantidad de información relevante, se utilizaron formatos booleanos para cada búsqueda, donde se combinan los términos de la búsqueda con distintos operadores como “OR” o “AND” para añadir y excluir otros términos, refinando así los resultados de la misma en función del objetivo del estudio. Teniendo en cuenta que en este trabajo se pretende dar una visión global de todos los estudios donde se aplica el aprendizaje automático para el análisis y la interpretación de datos cromatográficos,

se buscaron todos los artículos que contienen los términos “*machine learning*” y *chromatography* en sus títulos, resúmenes o palabras clave. Los términos que constaban de más de una palabra (*machine learning*) se entrecomillaron y se utilizaron asteriscos (*) para incluir en la búsqueda la raíz del término *chromatography* (*chromatograph**) y así poder encontrar otros adjetivos derivados. En la **Figura 2** se muestra un diagrama de todo el proceso de búsqueda bibliográfica.

Cada base de datos requiere los siguientes formatos de búsqueda específicos:

- **PubMed:** (“machine learning”) AND (chromatograph*)
- **Scopus:** TITLE-ABS-KEY(“machine learning”) AND TITLE-ABS-KEY(chromatograph*)
- **Web of Science:** TI=(“machine learning” AND chromatograph*) OR AB=(“machine learning” AND chromatograph*) OR KP=(“machine learning” AND chromatograph*)
- **Google Scholar:** (“machine learning”) AND (chromatograph*)

Debido a que la interfaz de Google Scholar es básica y no permite descargar automáticamente los indicadores bibliográficos de cada artículo, las búsquedas en esta base de datos se realizaron a través del programa Publish or Perish 7 v7.29.3156 (Harzing, 2010), que dispone de funciones adicionales. Los resultados de las búsquedas en cada una de las cuatro bases de datos se combinaron utilizando la librería *revtools* v0.4.1 (Westgate, 2019), dando lugar a un total de 1499 trabajos publicados. Debido al gran volumen de archivos descargados, se eliminaron los artículos duplicados filtrándolos por títulos y DOI gracias a la librería *Synthesizr* v0.3.0 (Westgate y Grames, 2020). Después, se extrajeron las palabras clave de los artículos y se generaron nuevas palabras clave a partir de los títulos y los resúmenes de los artículos, considerando aquellas palabras que estuviesen presentes en al menos 30 artículos, mediante la librería *Litsearchr* v1.0.0 (Grames y col., 2019), que implementa el método “*Rapid Automatic Keyword Extraction*” (RAKE). Esta librería también se utilizó para generar una red de correlación entre las palabras clave originales y generadas, empleándose la librería *Ggraph* v2.0.1 (Pedersen, 2020) para representar la red gráficamente (**Figura 3a**).

Como se puede observar, existen asociaciones entre distintos términos relativos a la cromatografía lí-

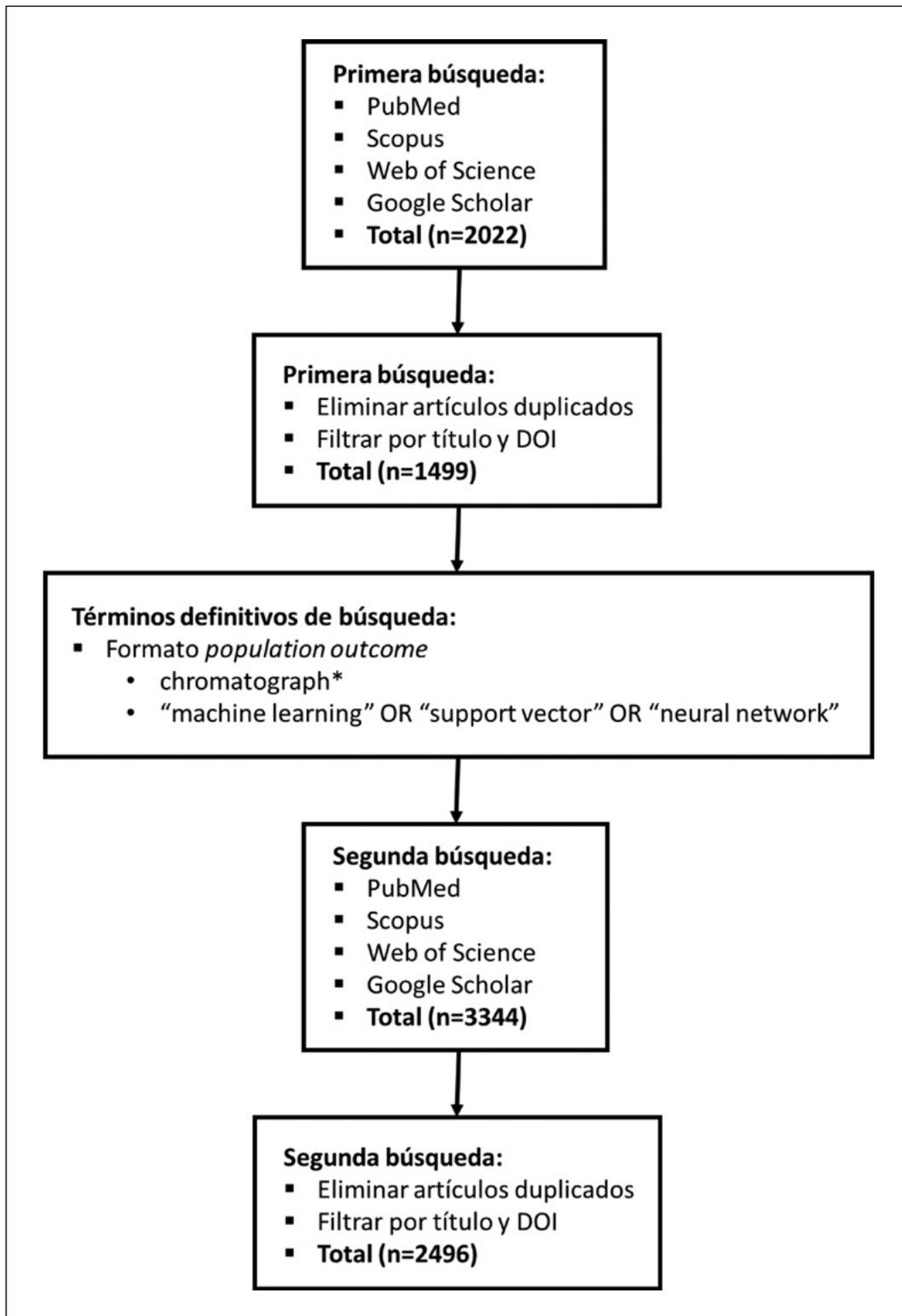


Figura 2. Diagrama del proceso de búsqueda bibliográfica realizado durante este trabajo, incluyendo una búsqueda inicial en las bases de datos PubMed, Scopus, Web of Science y Google Scholar, el filtrado de los artículos para eliminar registros duplicados, la selección de los términos finales de búsqueda y los resultados de la búsqueda final junto con el cribado de los resultados de la misma.

quida y la selección de atributos o *features* que podrían englobarse dentro del *topic* de desarrollo de nuevos métodos de análisis de datos determinado en el primer estudio bibliográfico. Además, otras relaciones entre términos indican la importancia del reconocimiento de patrones en base al perfil de compuestos orgánicos volátiles mediante modelos de redes neuronales artificiales (*"artificial neural networks"*), regresión logística y máquinas de vectores de soporte (*"support vector machines"*), encuadrándose dentro del *topic* de análisis de compuestos volátiles en el aliento de pacientes. Por otra parte, existe otro grupo de asociaciones, entre las que destacan la aplicación de las redes neuronales artificiales para establecer perfiles metabólicos a partir de datos de cromatografía líquida. Otras relaciones entre términos revelan el uso del aprendizaje automático en estudios donde se combina la separación cromatográfica y la espectroscopía infrarroja. Por último, algunas asociaciones muestran la utilidad de la inteligencia artificial (considerándose el aprendizaje automático una rama de ésta) en el diagnóstico del cáncer de mama.

Una vez construida la red, se determinó la influencia de cada palabra clave o término dentro de la misma, clasificándose en tres grupos o nodos según su relevancia (**Figura 3b**). Aquellos términos menos influyentes se filtraron utilizando el método de puntos de inflexión (*change point*). Los términos que ejercieron una mayor influencia sobre el modelo eran aquellos relativos a la cromatografía líquida, el aprendizaje automático, las redes neuronales artificiales y las máquinas de vectores de soporte, poniendo de manifiesto la presencia de un mayor número de trabajos donde se combinen estas metodologías. Estos resultados concuerdan con lo esperado, ya que los modelos de redes neuronales artificiales y máquinas de vectores de soporte son dos de los algoritmos más comunes del aprendizaje automático, siendo utilizados ampliamente para asistir al análisis cromatográfico en trabajos recientes, incluyendo la clasificación de perfiles metabólicos e identificación de marcadores biológicos en cromatografía líquida o gaseosa acoplada a espectrometría de masas (Paul y de Boves Harrington, 2020), la predicción de tiempos de retención de compuestos fenólicos de extractos vegetales separados mediante HPLC-DAD (Usman y col., 2021), la clasificación de productos alimentarios fermentados, como el vino, en base a sus perfiles de compuestos no deseados que influyen en la calidad organoléptica (Urtubia y col., 2021), y la determinación de la autenticidad, seguridad y trazabilidad de alimentos, considerando en conjunto su composición química,

análisis microbiológico, defectos organolépticos, presencia de sustancias tóxicas y adulteraciones (Liang y col., 2020). Por esta razón, se decidió incluir los términos *"support vector"* y *"neural network"* en una segunda búsqueda más completa (**Figura 2**), ya que podrían utilizarse en algunos artículos en lugar del término general *"machine learning"*. Cabe destacar que se utilizó el menor número de palabras posible en estos dos términos adicionales, en lugar de los términos completos *"support vector machine"* y *"artificial neural network"*, con el fin de abarcar el mayor número de menciones en los artículos de la bibliografía (p. ej. en algunos trabajos podría citarse el término *"neural network"* en lugar de *"artificial neural network"*). Otros de los términos relevantes hacen referencia a las distintas técnicas cromatográficas o a su acoplamiento a la espectrometría de masas, si bien se consideró que el término general *chromatography* englobaba a todos ellos, por lo que se continuó considerando en las búsquedas.

Para formular esta segunda búsqueda, se eligió un formato similar al sistema *population outcome* (PO) (James y col., 2016), uno de los recomendados a la hora de llevar a cabo revisiones sistemáticas, donde se pretende evaluar la presencia de un indicador (utilización de algoritmos de aprendizaje automático, en este caso) en una población determinada (trabajos donde se realicen análisis cromatográficos, en este caso). Así, las búsquedas concretas realizadas en cada una de las bases de datos incluidas en este trabajo, fueron las siguientes:

- **PubMed:** (chromatograph*) AND (machine learn* OR "support vector" OR "neural network")
- **Scopus:** TITLE-ABS-KEY(chromatograph*) AND TITLE-ABS-KEY(machine learn* OR "support vector" OR "neural network")
- **Web of Science:** TI=((chromatograph*) AND (machine learn* OR "support vector" OR "neural network")) OR AB=((chromatograph*) AND (machine learn* OR "support vector" OR "neural network")) OR KP=((chromatograph*) AND (machine learn* OR "support vector" OR "neural network"))
- **Google Scholar:** (chromatograph*) AND (machine learn* OR "support vector" OR "neural network")

Los resultados de estas nuevas búsquedas se combinaron eliminándose los artículos duplicados siguiendo el método descrito en la primera búsqueda (**Figura 2**), dando lugar a un volumen de artículos muy

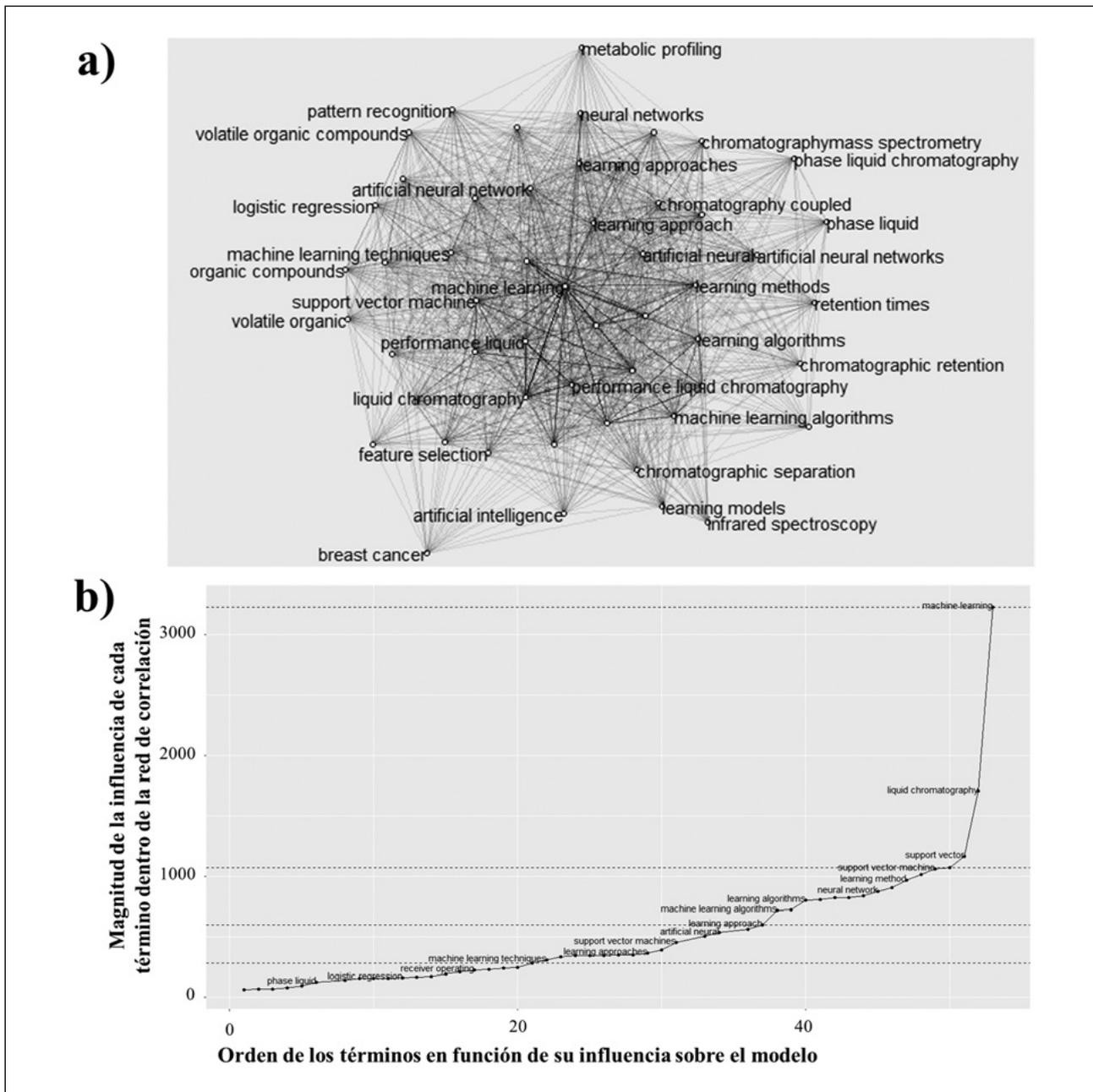


Figura 3.a) Red de correlación entre distintas palabras clave incluidas en los artículos y generadas a partir de los resúmenes de los mismos. Las líneas indican las relaciones existentes entre los términos, siendo su grosor proporcional a su magnitud. **b)** Estudio de la magnitud de la influencia de cada término dentro del modelo de red de correlación y orden de los términos en función de la misma.

superior al de la primera búsqueda debido a la inclusión de términos adicionales (2496 frente a 1499 artículos filtrados). Posteriormente, los resúmenes de este nuevo conjunto de artículos se analizaron mediante herramientas de procesamiento del lenguaje natural (*natural language processing*), diseñadas para

comparar patrones complejos en documentos escritos, considerando el contexto específico de cada término y frase de interés en sus correspondientes documentos (resúmenes de cada artículo en este caso). Este conjunto de técnicas permite estudiar en profundidad cómo se relacionan los términos y palabras cla-

ve de este elevado número de artículos. Se generó una nube de palabras más frecuentes en los resúmenes utilizando la librería Quanteda v2.1.2 (Benoit y col., 2018). Las palabras que más se repitieron en este conjunto de trabajos eran aquellas relacionadas con el aprendizaje automático en sí y las distintas familias de algoritmos que lo componen, la cromatografía líquida y gaseosa acopladas a espectrometría de masas, la predicción de propiedades cromatográficas, el análisis de extractos y la metabolómica (**Figura 4a**), mostrando unas tendencias similares a las de los *topics* del primer estudio bibliográfico y las redes de correlación de términos (**Figura 3a**). Para profundizar en el análisis de estas palabras clave, se programó una red de coocurrencia de términos (*feature co-occurrence matrix*, FCM) utilizando la librería Quanteda v2.1.2 (Benoit y col., 2018), que se representó gráficamente con la librería Igraph v1.2.4.2 (Csardi y Nepusz, 2006). Este tipo de modelo proporciona información complementaria a la red de correlación utilizada durante la primera búsqueda para un número menor de artículos, aunque en líneas generales muestra las mismas tendencias en las líneas de investigación: aplicación de las redes neuronales artificiales para predecir los tiempos de retención, uso de diferentes algoritmos para el desarrollo y validación de métodos cromatográficos, identificación de compuestos mediante cromatografía de gases, selección de *features* y moléculas mediante máquinas de vectores de soporte que podría ser de interés para el análisis de aceites, y tratamiento de datos en el análisis de péptidos y proteínas (**Figura 4b**).

Los resultados obtenidos en este segundo estudio confirmaron la existencia de diferentes líneas de investigación relacionadas con la proteómica, la metabolómica, la caracterización de matrices alimentarias y la modelización de propiedades cromatográficas, basadas en distintas aproximaciones matemáticas.

4. APLICACIONES AVANZADAS DEL APRENDIZAJE AUTOMÁTICO EN LA INTERPRETACIÓN DE ESPECTROS DE MASAS

Una vez se han estudiado de manera global todos los trabajos publicados hasta el momento en donde se utilizó el aprendizaje automático para procesar datos cromatográficos, se describen a continuación algunas aplicaciones más específicas de este tipo de modelos para interpretar los resultados obtenidos mediante es-

pectrometría de masas, una técnica que se acopla con frecuencia a la cromatografía. Los métodos más habituales para la identificación de compuestos desconocidos consisten en la utilización de bibliotecas de referencia que contienen espectros de masas de moléculas conocidas. Sin embargo, este enfoque podría no ser válido a la hora de elucidar compuestos de nueva síntesis o que no han sido caracterizados previamente, no disponiendo de patrones comerciales o espectros de referencia en algunos casos. Para solventar este problema, se han desarrollado estrategias alternativas de análisis de datos basadas en el aprendizaje automático (Nguyen y col., 2018; Bitchagno y Tanemossu, 2019). Una de estas estrategias consiste en la simulación *in silico* del proceso de fragmentación de las moléculas que tiene lugar en el interior de los distintos sistemas de espectrometría de masas, con el fin de predecir las abundancias de los iones *m/z* presentes en el espectro de masas de un compuesto determinado en función de su estructura química, sirviendo así de referencia a la hora de identificar analitos desconocidos (Allard y col., 2016; Ruttkies y col., 2016; Nguyen y col., 2018). Esta metodología puede basarse en i) la aplicación sistemática de unas reglas químicas conocidas que rigen el proceso de fragmentación y formación de iones o ii) en la utilización de algoritmos de aprendizaje automático para aprender esas reglas de fragmentación a partir de la información contenida en los propios espectros de masas de una base de datos de compuestos conocidos de diversa naturaleza. Una vez descubiertas esas reglas o patrones de fragmentación a base de comparar los espectros, se podrían extrapolar a diferentes familias de compuestos orgánicos debido al elevado poder predictivo de este tipo de modelos. Dentro de este último enfoque, destaca el programa de fragmentación *in silico* denominado *competitive fragmentation modelling for metabolite identification* (CFM-ID) (Allen y col., 2015; Allen y col., 2016), que permite simular la fragmentación que tiene lugar tanto en equipos de cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) con ionización por electrospray (ESI), tanto en modo positivo como negativo (Allen y col., 2015), como en equipos de GC-MS con ionización electrónica (EI) (Allen y col., 2016). Esta herramienta simula los perfiles de iones primarios y secundarios generados en la fuente de ionización y separados en el analizador, siendo validados con la base de datos NIST, lo que supone una mejora con respecto a los métodos que suponen el actual estado del arte (Allen y col., 2015; Allen y col., 2016).

Entre otros, el grupo de Química y Funcionalidad de Carbohidratos y Derivados del Departamento de

Bioactividad y Análisis de Alimentos del Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL, CSIC-UAM) ha sido pionero en el uso combinado de diferentes algoritmos de aprendizaje automático y CFM-ID para la elucidación de las conformaciones estructurales de carbohidratos complejos como cadenas de pectina y oligosacáridos pécticos, sin necesidad de una purificación previa (Sabater y col., 2019a,b; 2020a,b; 2021a). Este hecho supone una ventaja a la hora de caracterizar mezclas complejas presentes en hidrolizados enzimáticos con el fin de estimar su potencial actividad biológica. En la **Figura 5** se muestran las posibles estructuras de iones m/z obtenidos en los espectros de masas de distintos carbohidratos presentes en un yogur elaborado con adición de pectina u oligosacáridos pécticos (Sabater y col., 2020a) mediante este análisis computacional.

El aprendizaje automático es, además, de gran utilidad en el estudio de la potencial actividad biológica de ingredientes funcionales, permitiendo realizar un barrido *in silico* de todas las posibles actividades biológicas de una determinada molécula, basándose en su similitud con las estructuras de fármacos y otros compuestos bioactivos conocidos. Para ello, es necesario haber elucidado previamente su estructura mediante espectrometría de masas. Un ejemplo reciente desarrollado en dicho grupo de investigación consiste en la estimación del potencial prebiótico de las estructuras individuales presentes en una mezcla de oligosacáridos pécticos. Con este fin, se simuló el proceso de fermentación que tiene lugar en el colon, así como las interacciones moleculares entre estos oligosacáridos y algunas de las glicosidasas microbianas más relevantes implicadas, y la formación de ácidos grasos de cadena

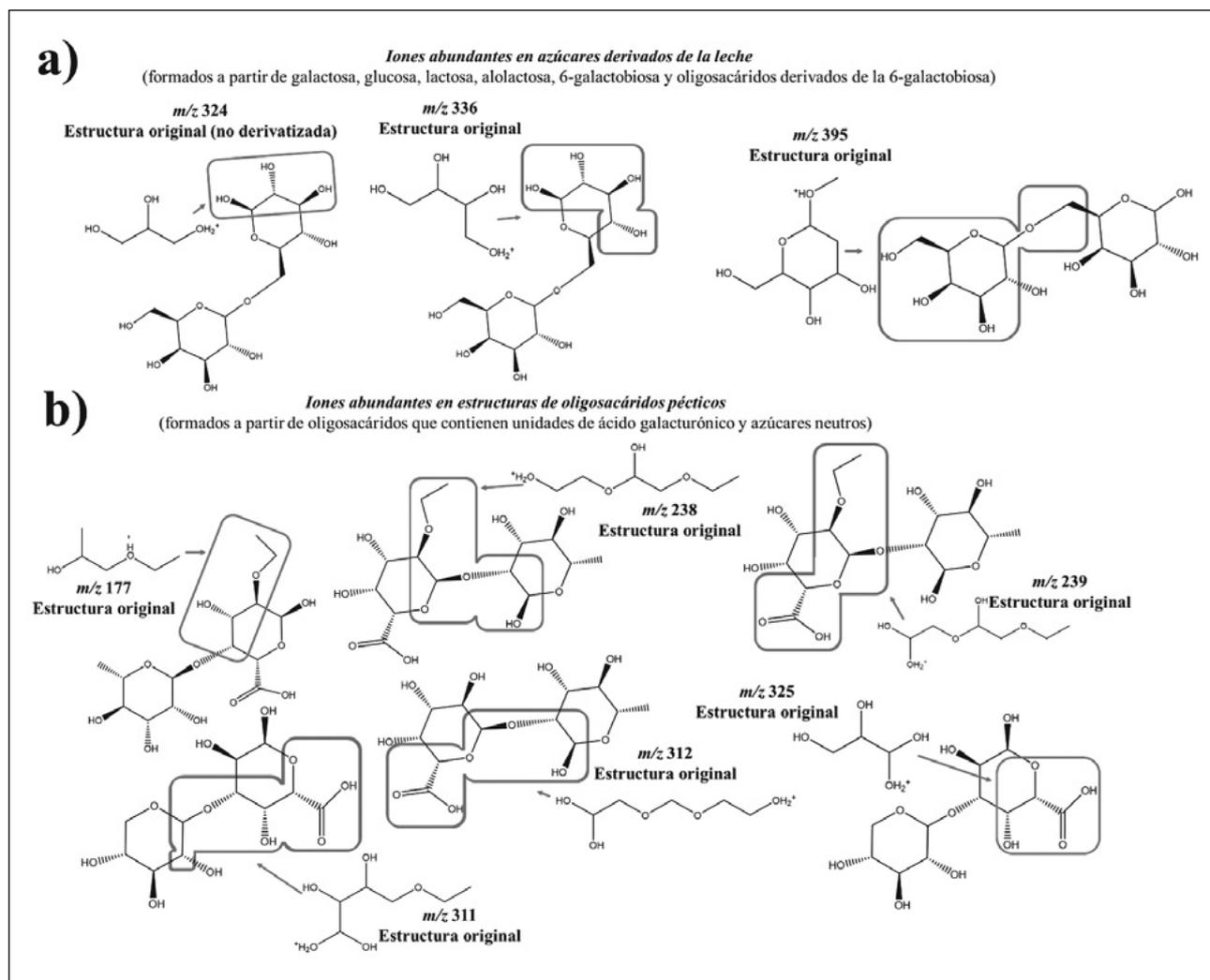


Figura 5. Estructuras químicas determinadas para algunos de los iones m/z más abundantes en los espectros de masas obtenidos por GC-MS con ionización electrónica para distintos carbohidratos de leche **(a)** y mezclas de oligosacáridos pécticos **(b)**.

corta en las regiones proximal y distal, como resultado de dicha fermentación (Sabater y col., 2021b).

La capacidad de determinar características estructurales comunes entre compuestos relacionados, así como pertenecientes a distintas familias de compuestos biológicamente activos, podría resultar de gran importancia para establecer relaciones estructura-actividad de estos compuestos y para inferir su bioactividad como paso previo a los ensayos *in vitro* e *in vivo*, que consumen mayor cantidad de tiempo y recursos.

5. CONCLUSIONES

En este artículo de revisión se ha dado una visión general de las aplicaciones del aprendizaje automático en el tratamiento de datos cromatográficos que se han descrito en todos los artículos científicos publicados hasta la fecha. Para ello, se han utilizado herramientas informáticas que se basan en el propio aprendizaje automático para realizar una revisión sistemática de la información contenida en los títulos y resúmenes de los artículos, así como sus indicadores bibliométricos. Los resultados de estos análisis indicaron que hasta el año 2011 la principal aplicación del aprendizaje automático en este campo era la interpretación de resultados de experimentos proteómicos. Sin embargo, durante la última década, se han consolidado como aplicaciones más frecuentes: **1)** el análisis de compuestos volátiles para el diagnóstico de pacientes, **2)** el desarrollo de nuevos métodos de análisis, **3)** la predicción de propiedades cromatográficas de moléculas, **4)** el análisis de perfiles metabolómicos, y **5)** la interpretación de estudios proteómicos. La predominancia de estas líneas de investigación se ha confirmado mediante análisis adicionales de redes de correlación y coocurrencia de términos y palabras clave asociadas. Por último, se han detallado algunas aplicaciones más específicas del aprendizaje automático para interpretar los espectros y patrones de fragmentación de moléculas orgánicas analizadas por cromatografía acoplada a espectrometría de masas que podrían resultar de especial interés a la hora de establecer relaciones estructura-actividad de moléculas potencialmente bioactivas.

BIBLIOGRAFÍA

- Allard, P. M., Péresse, T., Bisson, J., Gindro, K., Marcourt, L., Pham, V. C., Roussi, F., Litaudon, M., Wolfender, J. L. Integration of molecular networking and in-silico MS/MS fragmentation for natural products dereplication. *Anal. Chem.* 2016 88(6), 3317-3323.
- Allen, F., Greiner, R., Wishart, D. Competitive fragmentation modeling of ESI-MS/MS spectra for putative metabolite identification. *Metabolomics* 2015 11(1), 98-110.
- Allen, F., Pon, A., Greiner, R., Wishart, D. Computational prediction of electron ionization mass spectra to assist in GC/MS compound identification. *Anal. Chem.* 2016 88(15), 7689-7697.
- Alpaydin, E. Introduction to machine learning. MIT press (2014).
- Behkami, S., Zain, S. M., Gholami, M., Khir, M. F. A. Classification of cow milk using artificial neural network developed from the spectral data of single-and three-detector spectrophotometers. *Food Chem.* 2019 294, 309-315.
- Benoit, K., Watanabe, K., Wang, H., Nulty, P., Obeng, A., Müller, S., Matsuo, A. Quanteda: An R package for the quantitative analysis of textual data. *J. Open Source Softw.* 2018 3(30), 774.
- Bitchagno, G. T., Tanemossu, S. A. F. Computational methods for NMR and MS for structure elucidation III: more advanced approaches. De Gruyter STEM (2019).
- Boccard, J., Rudaz, S. Harnessing the complexity of metabolomic data with chemometrics. *J. Chemom.* 2014 28(1), 1-9.
- Csardi, G., Nepusz, T. The Igraph software package for complex network research. *Int. J. Complex Syst.* 2006 1695(5), 1-9.
- de Santana, F. B., Neto, W. B., Poppi, R. J. Random forest as one-class classifier and infrared spectroscopy for food adulteration detection. *Food Chem.* 2019 293, 323-332.
- Grames, E. M., Stillman, A. N., Tingley, M. W., Elphick, C. S. An automated approach to identifying search terms for systematic reviews using keyword co-occurrence networks. *Methods Ecol. Evol.* 2019 10(10), 1645-1654.
- Harzing, A. W. The publish or perish book. Melbourne, Australia: Tarma Software Research Pty Limited (2010).
- James, K. L., Randall, N., Haddaway, N. A methodology for systematic mapping in environmental sciences. *Environ. Evid.* 2016 5(1), 1-13.
- Jiménez-Carvelo, A. M., González-Casado, A., Bagur-González, M. G., Cuadros-Rodríguez, L. Alternative data mining/machine learning methods for the analytical evaluation of food quality and authenticity—A review. *Food Res. Int.* 2019 122, 25-39.
- Käll, L., Canterbury, J. D., Weston, J., Noble, W. S., MacCoss, M. J. Semi-supervised learning for peptide identification from shotgun proteomics datasets. *Nat. Methods* 2007 4(11), 923-925.
- Krogan, N. J., Cagney, G., Yu, H., Zhong, G., Guo, X., Ignatchenko, A., Li, J., Pu, S., Datta, N., Tikuisis, A. P., y col. Global landscape of protein complexes in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature* 2006 440(7084), 637-643.
- Liang, N., Sun, S., Zhang, C., He, Y., Qiu, Z. Advances in infrared spectroscopy combined with artificial neural

- network for the authentication and traceability of food. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2020 1-22.
- Liu, J., Liu, L., Guo, W., Fu, M., Yang, M., Huang, S., Zhang, Liu, Y. A new methodology for sensory quality assessment of garlic based on metabolomics and an artificial neural network. *RSC Adv.* 2019b 9(31), 17754-17765.
- Liu, W., Zhao, P., Wu, C., Liu, C., Yang, J., Zheng, L. Rapid determination of aflatoxin B1 concentration in soybean oil using terahertz spectroscopy with chemometric methods. *Food Chem.* 2019a 293, 213-219.
- Mohri, M., Rostamizadeh, A., Talwalkar, A. Foundations of machine learning. MIT press (2018).
- Nguyen, D. H., Nguyen, C. H., Mamitsuka, H. Recent advances and prospects of computational methods for metabolite identification: a review with emphasis on machine learning approaches. *Brief. Bioinform.* 2018 20(6), 2028-2043.
- Nikiforovskaya, A., Kapralov, N., Vlasova, A., Shpynov, O., Shpilman, A. Automatic generation of reviews of scientific papers. *arXiv preprint arXiv:2010.04147* 2020.
- Paul, A., de Boves Harrington, P. Chemometric Applications in Metabolomic Studies Using Chromatography-Mass Spectrometry. *Trends Anal. Chem.* 2020 135, 116165.
- Pedersen, T. L. Ggraph: An Implementation of Grammar of Graphics for Graphs and Networks. R package version 2.0.1. 2020 URL <https://CRAN.R-project.org/package=ggraph>.
- R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2019 URL <https://www.R-project.org/>.
- Rajkomar, A., Dean, J., Kohane, I. Machine learning in medicine. *N. Engl. J. Med.* 2019 380(14), 1347-1358.
- Rodrigues, T. The good, the bad, and the ugly in chemical and biological data for machine learning. *Drug Discov. Today Technol.* 2019 32, 3-8.
- Rohart, F., Gautier, B., Singh, A., Lê Cao, K. A. MixOmics: An R package for 'omics feature selection and multiple data integration. *PLoS Comput. Biol.* 2017 13, e1005752.
- Rojas, C., Duchowicz, P. R., Castro, E. A. Foodinformatics: Quantitative Structure-Property Relationship Modeling of Volatile Organic Compounds in Peppers. *J. Food Sci.* 2019 84(4), 770-781.
- Ruttkies, C., Schymanski, E. L., Wolf, S., Hollender, J., Neumann, S. MetFrag relaunched: incorporating strategies beyond in silico fragmentation. *J. Cheminform.* 2016 8(1), 3.
- Sabater, C., Abad-García, C., Delgado-Fernández, P., Corzo, N., Montilla, A. Carbohydrate fraction characterisation of functional yogurts containing pectin and pectic oligosaccharides through convolutional networks. *J. Food Compos. Anal.* 2020a 90, 103484.
- Sabater, C., Blanco-Doval, A., Margolles, A., Corzo, N., Montilla, A. Artichoke pectic oligosaccharide characterisation and virtual screening of prebiotic properties using *in silico* colonic fermentation. *Carbohydr. Polym.* 2021b 255, 117367.
- Sabater, C., Blanco-Doval, A., Montilla, A., Corzo, N. Optimisation of an enzymatic method to obtain modified artichoke pectin and pectic oligosaccharides using artificial neural network tools. *In silico* and *in vitro* assessment of the antioxidant activity. *Food Hydrocoll.* 2021a 110, 106161.
- Sabater, C., Ferreira-Lazarte, A., Montilla, A., Corzo, N. Enzymatic production and characterization of pectic oligosaccharides derived from citrus and apple pectins: A GC-MS study using random forests and association rule learning. *J. Agric. Food Chem.* 2019a 67(26), 7435-7447.
- Sabater, C., Olano, A., Corzo, N., Montilla, A. GC-MS characterisation of novel artichoke (*Cynara scolymus*) pectic-oligosaccharides mixtures by the application of machine learning algorithms and competitive fragmentation modelling. *Carbohydr. Polym.* 2019b 205, 513-523.
- Sabater, C., Sabater, V., Olano, A., Montilla, A., Corzo, N. Ultrasound-assisted extraction of pectin from artichoke by-products. An artificial neural network approach to pectin characterisation. *Food Hydrocoll.* 2020b 98, 105238.
- Urtubia, A., León, R., Vargas, M. Identification of chemical markers to detect abnormal wine fermentation using support vector machines. *Comput. Chem. Eng.* 2021 145, 107158.
- Usman, A. G., Işık, S., Abba, S. I., Meriçli, F. Chemometrics-based models hyphenated with ensemble machine learning for retention time simulation of isoquercitrin in Coriander sativum L. using high-performance liquid chromatography. *J. Sep. Sci.* 2021 44(4), 843-849.
- van de Schoot, R., de Bruin, J., Schram, R., Zahedi, P., de Boer, J., Weijdemans, F., Kramer, B., Huijts, M., Hoogerwerf, M., Ferdinands, G., Harkema, A., Willemsen, J., Ma, Y., Fang, Q., Hindriks, S., Tummers, L., Oberski, D. L. An open source machine learning framework for efficient and transparent systematic reviews. *Nat. Mach. Intell.* 2021 3(2), 125-133.
- Westgate, M. J. revtools: An R package to support article screening for evidence synthesis. *Res. Synth. Methods* 2019 10(4), 606-614.
- Westgate, M., Grames, E. Synthesisr: Import, Assemble, and Deduplicate Bibliographic Datasets. R package version 0.3.0. 2020 URL <https://CRAN.R-project.org/package=synthesisr>.
- Xu, M., Wang, J., Zhu, L. The qualitative and quantitative assessment of tea quality based on E-nose, E-tongue and E-eye combined with chemometrics. *Food Chem.* 2019 289, 482-489.
- Yi, L., Dong, N., Yun, Y., Deng, B., Ren, D., Liu, S., Liang, Y. Chemometric methods in data processing of mass spectrometry-based metabolomics: A review. *Anal. Chim. Acta* 2016 914, 17-34.
- Yu, M., Olkiewicz, M., Pawliszyn, J. Structure/reaction directed analysis for LC-MS based untargeted analysis. *Anal. Chim. Acta* 2019 1050, 16-24.

NOTICIAS DE LA SECyTA

NUEVOS SOCIOS

1956

Gómez Navarro, Olga
Paseo Marítimo, 100
08860 Castelldefels (Barcelona)

1958

Jiménez Amezcua, Ignacio
Juan de La Cierva, 3
28006 Madrid

1959

Manjarrés López, Diana Patricia
Jordi Girona, 18-26
08034 Barcelona

1960

Luque Jurado, Inmaculada
Juan de La Cierva, 3
28006 Madrid

1961

Martínez Pérez-Cejuela, Héctor
Doctor Moliner, 50
46100 Burjassot (València)

1962

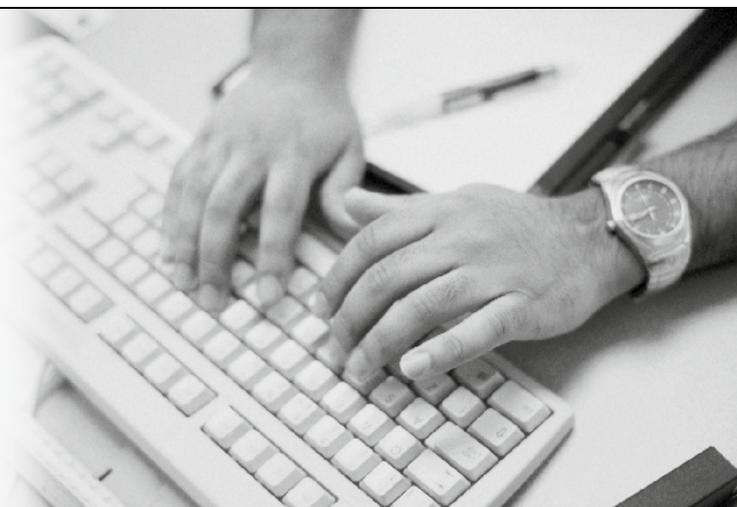
Gayo González, Manuel
Calle José Echegaray, 8 (Pq. Empresarial Alvia Edif. 3)
28232 Las Rozas de Madrid (Madrid)

1963

Plaza Bolaños, Patricia
Carretera de Sacramento, s/n
04120 La Cañada de San Urbano (Almería)

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.*





CALENDARIO DE ACTIVIDADES

- 1. eMSB 2021: 37th International Symposium on Microscale Separations and Bioanalysis**
12-15 de julio de 2021. Boston, MA (EE.UU.)
Chairs: **A. Ivanov, K. Hamad-Schifferli y J. Marto**
<http://msb-conferences.org>
Edición virtual
- 2. ISIMS 2021: 29th International Conference on Ion Mobility Spectrometry**
27-30 de julio de 2021. Memphis, Tennessee (EE.UU.)
Chairs: **O. Anttalainen, A. Bohnhorst, R. Chaturvedi, C. Prüfert, M. Tam**
<https://www.isims.info/>
Edición virtual
- 3. Dioxin 2021: 41st International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants**
22-25 de agosto de 2021. Xiam (China)
Chairs: **G. Jiang, M. Zheng y Z. Cai.**
<http://4415.meeting.so/msite/main/en>
- 4. PBA 2020: 31st International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Analysis**
29 de agosto-1 de septiembre de 2021. Kyoto (Japón)
Chairs: **J. Haginaka, K. Hamase, K. Otsuka y Y. Ishihama.**
<http://soyaku.phar.kyushu-u.ac.jp/PBA2020/index.html>
- 5. ISEAC 41: International Conference Series on Environmental and Food Monitoring**
13-17 de septiembre de 2021. Regensburg (Alemania).
Chairs: Prof. **A. Baeumner y M. Fischer**
iseac41@bluewin.ch
<http://iseac-conferences.org/index.php>
- 6. MicroTAS: 25th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences**
10-14 de octubre de 2021. Palm Springs, CA (EE.UU.)
Chairs: **Amy E. Herr y Joel Voldman**
info@microtas2021.org
<https://microtas2021.org/>
- 7. XX Reunión Científica de la SECyTA**
18 y 19 de noviembre de 2021.
Edición virtual
- 8. IMSC: 23rd International Mass Spectrometry Conference 2021**
12-16 de diciembre de 2021. Río de Janeiro (Brasil)
Chair: **Marcos Eberlin**
<https://www.imsc2020.com/>
- 9. HTC-17: 17th International Symposium on Hyphenated Techniques in Chromatography and Separation Technology**
26-28 de enero de 2022. Gante (Bélgica)
Co-chairs: **D. Cabooter, F. Lynen y S. Eeltink.**
<https://htc-17.com/>
- 10. ILSEPT 2022: 5th International Conference on Ionic Liquids in Separation and Purification Technology**
27 de febrero-2 de marzo de 2022. Scottsdale, Arizona (EE.UU.)
Chairs: **Jason Hallett y Mark B. Shiflett**
<https://www.elsevier.com/events/conferences/international-conference-on-ionic-liquids-in-separation-and-purification-technology/about>
- 11. MSB 2022: 38th International Symposium on Microscale Separations and Bioanalysis**
3-6 de abril de 2022. Lieja (Bélgica)
Chairs: **Marianne Fillet y Heidi Ottevaere**
<https://www.msb2022-conference.org/>
- 12. EuroFAST2022: European Forum on Analytical Sciences and Technology**
19-22 de abril de 2022. Nijmegen (Países Bajos)
Chair: **Prof. Lutgarde Buydens**
<https://www.eurofast2022.eu/>
- 13. HPLC 2020: 50th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques**
18-23 de junio de 2022. San Diego, CA (EE.UU.)
Chair: **Mary J. Wirth**
<http://www.hplc2020-usa.org/>
- 14. ISC 2020: 33rd International Symposium on Chromatography**
18-22 septiembre 2022. Budapest (Hungría)
Chair: **Attila Felinger**
<http://isc2020.hu/>
(Edición de 2020 pospuesta a 2022)

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

NUEVAS TESIS DOCTORALES



“Caracterització química de l’atmosfera del Camp de Tarragona i avaluació de l’exposició i el risc per a la població”

Autor: **Alba Maceira Torrents**

Directores: Prof. Rosa Maria Marcé y Prof. Francesc Borrull

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

Facultat de Química de la URV/Microsoft Teams, 11 de diciembre de 2020

Resumen:

La Tesis Doctoral se centra en el estudio de la calidad del aire del Camp de Tarragona, una zona con un interés particular, ya que alberga uno de los complejos industriales químicos más grandes del Sur de Europa. En primer lugar, se pretende profundizar en la caracterización química de la atmósfera de esta zona y contribuir así a aumentar el conocimiento sobre la presencia de varias familias de contaminantes orgánicos que pueden estar presentes en estas muestras de aire debido al tipo de industria cercana. Su determinación es importante ya que la gran mayoría de ellos presentan diferentes efectos adversos sobre la salud de las personas. Entre estos compuestos se encuentran los compuestos orgánicos volátiles (COVs), así como otros tipos de compuestos no tan estudiados como los derivados de la benzotriazola, benzotiazola y benzosulfonamida y diferentes tipos de aditivos de los plásticos, como los ésteres del ácido ftálico y fosfórico, el adipato, varios tipos de antioxidantes, como los fenólicos y aromáticos, o los estabilizadores UV.

Los métodos analíticos que se han desarrollado están basados en el empleo de la cromatografía de gases-espectrometría de masas y se han aplicado diferentes técnicas de muestreo y preconcentración de los analitos, dependiendo del tipo de fracción del aire a analizar, la gaseosa o la particulada. En el caso de la fracción gaseosa, para la determinación de un centenar de COVs, los métodos utilizados se han basado en la técnica de enriquecimiento activo en tubos con adsorbentes sólidos y posterior desorción térmica o líquida. Se ha estudiado cómo afecta la humedad relativa a este tipo de muestreos y se ha propuesto una posible solución. También se han evaluado los posibles métodos de extracción, térmica o líquida, para la correcta determinación de estos compuestos en la fase gaseosa del aire. Para la fracción particulada, se ha analizado la fracción PM_{10} del aire muestreado con un captador de alto volumen, siendo posteriormente extraídos los compuestos de interés mediante la técnica de extracción por líquidos presurizados.

Por otra parte, con los resultados obtenidos de la monitorización de estos contaminantes en la PM_{10} de la atmósfera del Camp de Tarragona se ha llevado a cabo una evaluación de la exposición humana a través de la inhalación del aire exterior que puede recibir la población de la zona por estar expuestos a la presencia de estos compuestos, así como una caracterización del riesgo que puede suponer para la salud humana. Los resultados obtenidos en estos cálculos toxicológicos indican que ninguno de los contaminantes estudiados muestra valores de riesgo individuales elevados; aun así, se debe tener en cuenta que la inhalación no es la única vía de entrada de estos compuestos al cuerpo humano, así como también los posibles efectos sinérgicos entre los diferentes contaminantes y, por lo tanto, el riesgo para la salud humana podría ser mayor.

NUEVAS TESIS DOCTORALES



“New Analytical Methodologies based on Chromatography-Atmospheric Pressure Ionization-Mass Spectrometry for the Determination of Halogenated Organic Contaminants”

Autor: **Juan Francisco Ayala Cabrera**

Directores: Encarnación Moyano Morcillo y Francisco Javier Santos Vicente

Departamento de Ingeniería Química y Química Analítica de la Universidad de Barcelona
2 de octubre de 2020

Resumen:

El objetivo principal de esta tesis doctoral ha sido evaluar la aplicabilidad de las fuentes a presión atmosférica (API) para desarrollar nuevas metodologías basadas en el uso de la cromatografía de líquidos y gases acopladas a la espectrometría de masas (LC-API-MS y GC-API-MS) para la determinación de diversas familias de contaminantes orgánicos halogenados en muestras ambientales que incluyen las sustancias neutras per- y polifluoroalquiladas (nPFAS), el Decolorano Plus (DP) y sus análogos, los naftalenos policlorados (PCNs), las dibenzo-*p*-dioxinas y dibenzofuranos policlorados (PCDD/Fs), los bifenilos policlorados similares a las dioxinas (dioxin like-PCBs) y las parafinas cloradas de cadena corta (SCCPs).

En lo que respecta a las sustancias neutras per- y polifluoroalquiladas (nPFAS), se ha realizado un amplio estudio de los mecanismos de ionización por electrospray (ESI), ionización química a presión atmosférica (APCI) y fotoionización a presión atmosférica (APPI) para conseguir alcanzar la máxima eficiencia en la ionización de estos compuestos. Estos estudios han hecho posible el desarrollo de métodos sensibles y selectivos tanto de cromatografía de líquidos acoplados a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) como de cromatografía de gases acoplados a la espectrometría de masas de alta resolución (GC-HRMS). Estos métodos instrumentales combinados con tratamientos de muestra basados en técnicas de extracción eficientes como la extracción en fase sólida y la microextracción en fase sólida, han permitido detectar la presencia de los nPFAS en muestras de agua de Cataluña. Además, el establecimiento de las rutas de fragmentación para los iones generados por las nPFAS en las fuentes API han proporcionado una información muy útil para el desarrollo de estrategias de análisis dirigidas y no dirigidas (ej. *Flagging approach* y *mass defect plots*) que permitan la identificación tanto de familias conocidas como desconocidas de nPFAS en muestras ambientales.

Además, en esta tesis se propone por primera vez el uso del novedoso método GC-APPI-HRMS (Orbitrap) para hacer frente a las limitaciones observadas en la determinación de diferentes contaminantes clorados como DP y análogos, PCNs, PCDD/Fs, dioxin-like PCBs y las SCCPs. La suave ionización de la fuente GC-APPI ha favorecido la formación de iones moleculares o *quasi*-moleculares, así como otros iones característicos como el ion fenóxido, que han permitido desarrollar metodologías con una elevada selectividad y capacidad de detección (hasta pocos fg inyectados en columna). El amplio estudio de la ionización asistida por dopantes realizado con la fuente de APPI ha permitido conocer y predecir el comportamiento de estos analitos teniendo en cuenta su potencial de ionización, así como la presión de vapor y el potencial de ionización del dopante seleccionado. Por otro lado, se ha propuesto la ionización *anion-attachment* como estrategia para minimizar la fragmentación en la fuente de las mezclas de SCCPs y mejorar tanto la selectividad como la sensibilidad en su detección en muestras complejas. Esta mejora en la ionización se ha podido combinar con técnicas de separación multidimensional utilizando fases estacionarias basadas en líquidos iónicos y/o la movilidad iónica para mejorar la separación de familias que normalmente coeluyen en las separaciones multidimensionales como PCNs y SCCPs.

De esta manera, las fuentes API y, particularmente la novedosa fuente GC-APPI, usadas en los acoplamientos LC-MS/MS y GC-HRMS, han demostrado un alto rendimiento para determinar contaminantes orgánicos halogenados en muestras complejas de interés ambiental a niveles bajos, suponiendo así una alternativa real a las metodologías existentes.

INFORMACIÓN BILIOGRÁFICA

ARTÍCULOS DE INTERÉS

Química Analítica Verde (I). Nuevas técnicas de extracción de contaminantes basadas en disolventes eutécticos profundos

En las últimas décadas, el desarrollo de metodologías más seguras y respetuosas con el medio ambiente está ganando importancia dentro de la química analítica. Este tipo de aproximaciones se enmarcan en el concepto de lo que se conoce como Química Analítica Verde (GAC). Uno de los principales objetivos de la GAC es el desarrollo de procedimientos que reduzcan los riesgos ambientales y para la salud humana. Con este propósito, se están diseñando nuevos métodos de extracción sostenibles, que minimicen o eliminen el uso de reactivos tóxicos, pero también que contribuyan a la miniaturización y automatización de las metodologías analíticas. Respecto a la primera de estas aproximaciones, una de las prioridades es la sustitución de los disolventes orgánicos volátiles (VOS) empleados en la preparación de muestra y, en especial, en la etapa de extracción, por disolventes de nuevo diseño y con propiedades mejoradas. Estos disolventes no convencionales incluyen, entre otros, los líquidos iónicos (IL) y los disolventes eutécticos profundos (DES), en los que se centra esta reseña.

Los DES son mezclas de dos o más compuestos entre los que se establecen enlaces de hidrógeno, actuando uno de los compuestos como dador de hidrógeno (HBD) y el otro como aceptor de hidrógeno (HBA), de tal forma que su mezcla forma un disolvente líquido. Estos disolventes tienen puntos de fusión muy inferiores a los de los componentes individuales, debido a la autoasociación. Los DES se consideran disolventes verdes y, en principio, potencialmente menos tóxicos que la mayoría de los ILs descritos hasta el momento. Esto es debido a que la mayoría de los DES son sustancias biocompatibles y biodegradables. Además, su síntesis es sencilla y tienen un coste de producción bajo debido a las condiciones suaves en las que suelen formarse y a la alta disponibilidad de materias primas, dando lugar a más de 1 millón de combinaciones posibles. Esto también favorece su aplicación a mayores escalas que los ILs. Aunque los componentes individuales de los DES tienden a estar bien caracterizados desde el punto de vista toxicológico, la posible toxicidad de los DES debe ser investigada más a fondo por la comunidad científica para poder calificarlos como "disolventes verdes".

La mayoría de las determinaciones analíticas requieren de unas primeras etapas de preparación de muestra cuyo objetivo es la extracción y aislamiento de los compuestos de interés de otros componentes de la matriz. Las técnicas de extracción más comunes son la extracción líquido-líquido (LLE) y la extracción en fase sólida (SPE), que son técnicas manipulativas y que, en ocasiones, implican el uso de cantidades importantes de VOS. Las versiones miniaturizadas de estas técnicas, como la llamada microextracción en fase líquida (LPME) o la micro-SPE, respectivamente, han contribuido a reducir de manera significativa el uso de estos VOS.

A continuación, se presentan tres artículos que muestran el potencial del uso combinado de técnicas de extracción miniaturizadas, como son la microextracción en fase líquida (LPME), la LPME asistida con vórtex (VALLME) y la dispersión de la matriz en fase sólida (MSPD), con el uso de DES, para la extracción de contaminantes de diferente naturaleza de matrices ambientales y de alimentos.

"Development of a new temperature-controlled liquid phase microextraction using deep eutectic solvent for extraction and preconcentration of diazinon, metalaxyl, bromopropylate, oxadiazon, and fenazaquin pesticides from fruit juice and vegetable samples followed by gas chromatography-flame ionization detection"

Mir Ali Farajzadeh, Ali Shahedi Hojghan, Mohammad Reza Afshar Mogaddam. *Journal of Food Composition and Analysis* 2018, 66, 90-97.

En este trabajo se lleva a cabo un estudio para la extracción y preconcentración de pesticidas (bromopropilato, diazinón, fenazaquina, metalaxil y oxadiazón) en zumos de manzana, uva y cereza ácida, así como en remolacha fresca, pepino, patata y tomate mediante LPME utilizando un DES formado por cloruro de colina (ChCl):*p*-clorofenol (1:2, relación molar).

La síntesis del DES se realizó añadiendo ChCl (1,39 g) y *p*-clorofenol (2,58 g) en un tubo de ensayo

INFORMACIÓN BIBLIOGRÁFICA

de 10 mL. A continuación, la mezcla se colocó en un baño de agua a 90 °C durante 5 min. Tras su agitación en vórtex durante 3 min, la mezcla se volvió a introducir en el baño de agua. El ciclo de calentamiento/agitación se realizó otras dos veces, hasta obtener un líquido homogéneo.

Para la LPME se transfirieron 5 mL de agua desionizada suplementada con los pesticidas objeto de estudio a una concentración de 1 mg L⁻¹ (cada pesticida), o de las muestras diluidas con agua desionizada (1:3 para zumos y 1:5 para verduras), a un tubo de ensayo de vidrio de 15 mL. El tubo se colocó en un baño de agua a 70 °C durante 1 min. A continuación, se añadieron 142 µL del DES a la solución y, tras agitar la mezcla manualmente, el tubo se colocó en un baño de hielo a 0 °C durante 5 min. Durante la etapa de enfriamiento, la solubilidad del DES en la fase acuosa disminuyó y la turbidez aumentó de forma gradual debido a la dispersión en dicha fase del DES en forma de microgotas, en las cuales se extrajeron los analitos. A continuación, la mezcla se separó mediante centrifugación a 1610 × g durante 5 min, quedando el DES en el fondo del tubo (10 ± 1 µL). Finalmente, se tomó 1 µL del DES y se inyectó, sin más tratamiento, en el sistema cromatográfico para su análisis.

Las muestras se analizaron mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID) empleando una columna HP-5MS (30 m × 0,25 mm y espesor de fase de 0,5 µm), helio como gas portador (30 mL min⁻¹), inyección en modo split (tiempo de muestreo de 1 min y relación de split de 1:10) a 300 °C. Los resultados obtenidos mostraron factores de recuperación del 56-93%, límites de detección y cuantificación en los intervalos 0,13-0,31 y 0,45-1,1 ng mL⁻¹, respectivamente, y desviaciones estándar relativas (RSDs) menores del 9%. Los autores concluyeron que el método puede ser aplicable para un análisis rápido, respetuoso con el medio ambiente y eficiente de los pesticidas seleccionados en diferentes muestras debido a la simplicidad del método y a la aplicación de los DES como alternativa a los VOS.

“Green determination of brominated flame retardants and organochloride pollutants in fish oils by vortex assisted liquid-liquid microextraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry”

Angela G. Solaesa, José O. Fernandes, María T. Sanz, Óscar Benito-Román, Sara C. Cunha. *Talanta* 2019, 195, 251-257.

Los contaminantes orgánicos persistentes (POPs) se han liberado al medio ambiente a lo largo de los años como consecuencia de distintas actividades antropogénicas y, hoy en día, su ubicuidad es un hecho demostrado. La exposición humana a estos compuestos se produce principalmente a través del consumo de alimentos contaminados, siendo el pescado graso uno de los más problemáticos en este sentido.

Los autores de este trabajo evaluaron el rendimiento de DES hidrofílicos como extractantes alternativos en un procedimiento de microextracción líquido-líquido asistida por vórtex (VA-LLME), diseñado para la extracción simultánea de varios polibromodifenil éteres (PBDEs 28, 47, 99, 153 y 154) y pesticidas organoclorados (OCPs: HCH, HCB, 4,4'-DDT) de aceites de pescado.

El procedimiento de síntesis de los DES fue el siguiente: el ChCl (2 g), como HBA, se mezcló con diferentes compuestos que actuaban como HBD (fenol, glicerol, urea, DL-ácido láctico y etilenglicol) con una relación molar adecuada en un tubo de 40 mL, con agitación mecánica a 350 rpm y 60 °C, hasta obtener un líquido claro y homogéneo. Tras la optimización de las condiciones de extracción, se escogió ChCl:fenol (1:2, relación molar) como el DES con más potencial debido a una mayor eficacia de extracción y buena precisión (valores de RSD por debajo del 15%) para todos los analitos.

Las muestras de aceite (300 mg) se suplementaron con 24 µL de trifenilfosfato a 250 µg L⁻¹ como patrón interno (IS) y se mezclaron con 180 µL de una solución del DES seleccionado con etanol (1:1, v/v). A continuación, la mezcla se agitó con vórtex durante 5 min, hasta que se formó una solución dispersa. Tras centrifugar a 2.000 × g durante 3 min, se transfirieron 50 µL de la fase inferior a un micro-vial y se añadieron 10 µL de PBDE-126 (IS) a un nivel de concentración de 250 µg L⁻¹.

Las muestras se analizaron mediante GC acoplada a espectrometría de masas en tándem (GC-MS/MS) utilizando una columna ZB-5MS (30 m × 0,32 mm y espesor de fase de 0,25 µm), helio como gas portador (1,3 mL min⁻¹), con inyección splitless (1 µL; tiempo de splitless, 1 min; a 300 °C) e ionización electrónica (70 eV). Los resultados obtenidos permitieron la detección de todos los analitos investigados a niveles de hasta 21,5 ng g⁻¹. Los factores de recuperación fueron del 76-90% y los límites de detección de 0,2-0,7 ng mL⁻¹, con RSDs inferiores a 20%.

“Miniaturized matrix solid-phase dispersion based on deep eutectic solvent and carbon nitride associated with high-performance liquid chromatography: A new feasibility for extraction and determination of trace nitrotoluene pollutants in soil samples”

Maryam Nedaei, Ali Reza Zarei, Sohrab Ali Ghorbanian.
Journal of Chromatography A 2019, 1601, 35-44.

Los nitrotoluenos (NT) son el principal componente de los explosivos nitroaromáticos, muy utilizados en actividades militares debido a su bajo coste y facilidad de síntesis. La monitorización de la presencia de estos compuestos en muestras de agua y suelo es importante debido a su toxicidad y propiedades mutagénicas. Con el fin de proponer un método novedoso que permitiera la reducción del consumo de VOS, el tiempo y coste asociado a la extracción de explosivos en muestras de suelos, en este trabajo se emplearon DES hidrofóbicos basados en terpenos y el dispersante sólido $g-C_3N_4$ para desarrollar una MSPD verde para el análisis de 5 NTs (TNT, 2,6-DNT, 2,4-DNT, 2-NT y 3-NT).

Los DES se sintetizaron mezclando terpenos (alcanfor, DL-mentol y borneol), que se calentaron a 70 °C hasta la fusión de los componentes sólidos y la formación de un líquido homogéneo. A continuación, los DES preparados se dejaron enfriar en un desecador hasta peso constante. El $g-C_3N_4$ se preparó por pirólisis de melamina. Para ello, se calentaron 5 g de melamina a 600 °C durante 4 h en una mufla en atmósfera de argón. A continuación, el $g-C_3N_4$ amarillo obtenido se molió en un mortero, se tamizó (300 μ m) y se conservó en un desecador hasta su uso.

El procedimiento basado en MSPD se llevó a cabo pesando 0,02 g de suelo, que se transfirieron a un

mortero de ágata, donde se mezclaron con 0,06 g del $g-C_3N_4$ sintetizado y 30 μ L de DES seleccionado (DL-mentol:borneol; 1:1 relación molar). La mezcla se homogeneizó suavemente durante 100 s, se vertió en un tubo de centrifuga de polipropileno de 1,5 mL y, tras añadir 150 μ L de acetonitrilo, se ultrasonizó en un baño durante 2,5 min. Transcurrido este tiempo, se centrifugó a 4000 $\times g$ durante 4 min. El sobrenadante se filtró con una membrana de 0,45 mPTFE y se inyectó en el sistema cromatográfico para su análisis.

Para la separación y detección de los analitos se empleó cromatografía de líquidos de alta eficacia con detector de ultravioleta-visible (HPLC-UV), empleando una columna de octadecilsilano (250 mm \times 4,6 mm y tamaño de partícula de 5 μ m), metanol:agua (50:50 v/v) como fase móvil a un flujo de 1 mL min^{-1} e inyección manual (50 μ L). Para la confirmación de los analitos se utilizó un equipo de cromatografía de líquidos acoplado a un espectrómetro de triple cuadrupolo (LC-MS). La columna empleada fue una SB-C18 (2,1 mm \times 50 mm y espesor de fase de 1,8 mm), con un voltaje de ionización en 4000 V, temperatura del capilar de 300 °C y nitrógeno ultrapuro como gas de secado y de nebulización (10 L min^{-1} y 40 psi, respectivamente). Los límites de detección y cuantificación fueron de 0,12-0,33 y 0,40-1,1 ng g^{-1} , respectivamente, con RSDs menores de 9,3% y factores de recuperación en el intervalo 78-96%. La valoración final es que este método, sencillo, rápido y respetuoso con el medio ambiente, es eficaz para la extracción de NTs en muestras de suelo, permitiendo su determinación precisa a niveles de concentración de ng g^{-1} .

JORGE BINTANEL CENIS

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

RESEÑA DE LIBROS

Estrategias avanzadas para la mejora de la calidad, la seguridad y la funcionalidad de los alimentos

UAH monografías, Ciencias 07

Editado por: María Luisa Marina Alegre, María Castro Puyana y Merichel Plaza del Moral

ISBN: 978-84-18254-33-8

2021, Editorial Universidad de Alcalá

En una sociedad cada vez más concienciada y preocupada por la ingesta de alimentos de alta calidad y seguridad, la comunidad científica debe volcar sus esfuerzos para dar respuesta a estas inquietudes, poniendo a su servicio sus conocimientos y resultados científicos y aportando soluciones a los problemas actuales. En este contexto, cinco grupos de investigación y dos laboratorios de la RedLab de la Comunidad de Madrid, dentro del Programa AVANSECAL-II-CM, colaboran con el objetivo de desarrollar estrategias integradas para la mejora de la calidad, la seguridad y la funcionalidad de los alimentos como un medio para avanzar hacia una alimentación más saludable. Nace así la idea de las editoras, María Luisa Marina Alegre, María Castro Puyana y Merichel Plaza del Moral, miembros activos de nuestra sociedad, de publicar el libro titulado "Estrategias avanzadas para la mejora de la calidad, la seguridad y la funcionalidad de los alimentos", destinado a difundir los avances en el conocimiento conseguidos en el marco de este Programa. Dicha obra está destinada a profesionales de la Química Analítica y de la Ciencia y Tecnología de los Alimentos, tanto del ámbito científico como industrial, así como a estudiantes de doctorado o especialistas de laboratorios de control de calidad.

Este libro, muy completo e interesante, recoge excelentes contribuciones de científicos pertenecientes al AVANSECAL-II-CM, que cubre distintas temáticas, estructuradas en cinco grandes bloques. Así, se presentan distintas estrategias para la obtención de compuestos con propiedades beneficiosas para la salud y la preparación de extractos multifuncionales que potencien dichas propiedades, en algunos casos mediante la revalorización de los subproductos y residuos de la industria agroalimentaria, contribuyendo así a la sostenibilidad del proceso de producción y reduciendo su impacto sobre el medio ambiente. Además, se presentan nuevos conocimientos científicos acerca de los procesos y compuestos que comprometen la seguridad de los alimen-

tos y se proponen estrategias innovadoras para mejorar la calidad y la seguridad de los alimentos destinadas a reducir los tóxicos generados durante el procesado y el desarrollo de envases que mejoren las propiedades de los alimentos conservados e incrementen su vida útil.

Parte I. Compuestos bioactivos presentes en los alimentos

Capítulo 1. Alimentos funcionales, ¿por qué y para qué?

María Concepción García

Capítulo 2. Probióticos y prebióticos

Andrea Martín-Ortiz, María Luz Sanz, Ana Isabel Ruiz-Matute

Capítulo 3. Proteínas y péptidos bioactivos

Estefanía González-García, María Luisa Marina, María Concepción García

Capítulo 4. Polifenoles, terpenos y ácidos grasos insaturados

Merichel Plaza, María Luisa Marina

Capítulo 5. Aminoácidos, vitaminas y fibra

María Castro-Puyana, María Luisa Marina

Capítulo 6. Selenio: elemento esencial

Beatriz Gómez Gómez, María Teresa Pérez Corona

Parte II. Los tesoros presentes en subproductos de la industria agroalimentaria

Capítulo 7. Huesos de fruta y aceituna: fuentes "low cost" de sustancias bioactivas

María Concepción García, María Luisa Marina

Capítulo 8. Pieles de frutas y hortalizas*Gloria Domínguez-Rodríguez, Merichel Plaza***Capítulo 9.** Residuos cerveceros y de la industria del vino*María Eugenia de León González, Esther Gómez Mejía***Parte III. Autenticación y conservación de los alimentos****Capítulo 10.** Autenticación de alimentos*Elena Sánchez-López, Natalia Casado, María Luisa Marina***Capítulo 11.** Detección de adulteraciones: fraudes*Samuel Bernardo-Bermejo, María Castro-Puyana***Capítulo 12.** Alteración de los alimentos durante el almacenamiento. Tendencias actuales de los envases (activos)*Gema Paniagua González, Rosa María Garcinuño Martínez, Pilar Fernández Hernando***Parte IV. Seguridad alimentaria****Capítulo 13.** Higiene, legislación y seguridad alimentaria*Gema Paniagua González, Rosa María Garcinuño Martínez, Pilar Fernández Hernando***Capítulo 14.** Sustancias anabolizantes y no autorizadas en alimentos*Judith Gañán, Isabel Sierra***Capítulo 15.** Medicamentos veterinarios en alimentos*Rosa María Garcinuño Martínez, Gema Paniagua González, Pilar Fernández Hernando***Capítulo 16.** Controlando residuos y otras sustancias en alimentos*Sonia Morante-Zarcelero***Parte V. Tóxicos potencialmente presentes en los alimentos****Capítulo 17.** Contaminantes orgánicos persistentes*Belén Gómara***Capítulo 18.** Nuevos contaminantes químicos generados durante el procesado*Marta Mesías, Cristina Delgado-Andrade, Francisca Holgado, Lucía González-Mulero, Francisco J. Morales***Capítulo 19.** Tóxicos naturales en alimentos*Isabel Sierra, Judith Gañán***Capítulo 20.** Tóxicos quirales*María Ángeles García, Maider Greño, María Luisa Marina***Capítulo 21.** Elementos traza ¿qué es la especiación?*Gustavo Moreno Martín, Yolanda Madrid Albarrán***Capítulo 22.** Otros metales pesados*Damián Pérez Quintanilla***Capítulo 23.** Nanopartículas metálicas: toxicidad y determinación*Jon Sanz Landaluze, Riánsares Muñoz Olivas*



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 VALLES (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



CONFIDENT QUANTIFICATION OF PER- AND POLYFLUOROALKYL SUBSTANCES IN WATER INTENDED FOR HUMAN CONSUMPTION

Using the QTRAP® 6500+ LC-MS/MS System and the SCIEX Triple Quad™ 7500 LC-MS/MS System – QTRAP® Ready

Kévin Privat,¹ Carlos Bueno,² Jianru Stahl-Zeng,² Jack Steed,³ Philippe Diderich,⁴ María Isabel Beser⁵

¹SCIEX, France; ²SCIEX, Germany; ³SCIEX, UK; ⁴AGE, Luxembourg; ⁵Salud Pública de Valencia, Spain

Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) are a family of thousands of synthetic compounds that are frequently found in the environment due to their widespread use in multiple industries. These compounds, which contain carbon-fluorine bonds, are incredibly resistant to breaking down. This means that they can accumulate within flora and fauna, and contaminate food and drinking water, leading to serious complications over time. Even if all manufacturing involving PFAS suddenly stopped, the existing environmental contamination would persist for decades to come. For this reason, it is paramount to limit the release of PFAS compounds into the environment. While some manufacturers have begun replacing PFAS compounds with either shorter-chain PFAS or non-fluorinated compounds, shorter-chain PFAS molecules have the potential for similar accumulation in the environment, food and drinking water.¹

In February 2020, the European Parliament and Council of the European Union released a new directive that recasts the limit of PFAS in drinking water to 0.5 µg/L for all PFAS compounds identified, and 0.1 µg/L for a subset of PFAS compounds that are deemed particularly concerning for humans (see Table 1 for the LOQ of each compound analyzed). EU member states can choose which limit to use, and they can also decide to implement both. The difference between the limits is dependent on a list of compounds stated within the directive. The 0.1 µg/L limit applies



to the compounds included in this list, which contain a perfluoroalkyl moiety with 3 or more carbons (i.e., $-C_nF_{2n-}$, $n \geq 3$) or a perfluoroalkylether moiety with 2 or more carbons (i.e., $-C_nF_{2n}OC_mF_{2m-}$, n and $m \geq 1$). The 0.5 µg/L limit applies to all PFAS compounds in totality.²

The requirements of this directive create the analytical challenge of achieving these newly set LOQs in drinking water without solid phase extraction (SPE) cleanup. This technical note demonstrates how these limits are easily achievable with a method that uses the QTRAP® 6500+ LC-MS/MS System for the analysis of all required PFAS compounds. In addition, it provides tips to help researchers achieve these limits and reduce common issues associated with the analysis without the use of specialized equipment or system modifications.

The conditions used with the QTRAP 6500+ System were also tested on the SCIEX Triple Quad™ 7500 LC-MS/MS System – QTRAP® Ready to highlight the increased levels of sensitivity that can be achieved with this system.

See Figure 1 for example XICs from a PFAS compound at its LLOQ in 3 different water matrices.

Key features of the QTRAP 6500+ System for PFAS analysis

- LLOQ values down to 0.001 µg/L for the majority of the analyzed PFAS compounds.
- The use of a 50 µL injection volume to meet the regulation requirement for drinking water (tap and bottled mineral water).

NOTAS TÉCNICAS

Table 1. Quantification of PFAS in various water matrices. LLOQ values for all PFAS compounds analyzed in ultrapure HPLC-grade water, tap water and bottled mineral water using the QTRAP 6500+ System. All LLOQ values provide an S/N (peak-to-peak) value above 10. A total of all PFAS compounds has been calculated for both the 0.1 µg/L and the 0.5 µg/L limits (bottom). All the compounds are relevant to the 0.5 µg/L limit. See Table 3 for a list detailed the full name of all compounds analyzed.

Compound	LLOQ (µg/L)		
	Ultrapure HPLC-grade water	Tap water	Bottled mineral water
PFBA	0.001	0.001	0.001
PFPeA	0.001	0.001	0.001
L-PFBS	0.001	0.001	0.001
PFHxA	0.001	0.001	0.001
L-PFHeS	0.001	0.001	0.001
PFHpA	0.001	0.001	0.001
L-PFHxS	0.001	0.001	0.001
PFOA**	0.001	0.001	0.001
L-PFHpS	0.001	0.001	0.001
PFNA	0.001	0.001	0.001
L-PFOS	0.001	0.001	0.001
PFDA	0.001	0.001	0.001
L-PFNS	0.001	0.001	0.001
PFUdA	0.001	0.001	0.001
L-PFDS	0.001	0.001	0.001
PFDoA	0.001	0.001	0.001
PFTrDA	0.001	0.010	0.005
L-PFDoS	0.001	0.001	0.001
L-PFUdS***	0.001	0.001	0.001
L-PFTrDS***	0.001	0.001	0.001
PFTeDA*	0.001	0.010	0.005
PFHxDA*	0.001	0.020	0.020
PFODA*	0.050	0.200	0.100
Total: 0.1 µg/L limit	0.020	0.029	0.024
Total: 0.5 µg/L limit	0.072	0.259	0.149

* Compounds only associated with the 0.5 µg/L regulation.
 ** The LLOQ values associated with PFOA are dependent on a clean blank injection being achieved (in some instances, it has been noted that PFOA can provide a significant peak in the blank, which can impact the compound's LLOQ).
 *** See the section "Recently regulated PFAS compounds" for more information on L-PFUdS and L-PFTrDS.

- Robust quantification with calibration curves for the vast majority of PFAS compounds between 0.001 and 1 µg/L.
- No carryover or contamination in blank injections for analyzed PFAS compounds.
- The use of a delay column to ensure that instrument contaminants are moved away from the analyte's retention time so that accurate quantification can be achieved.

Methods

Standard preparation: Standards were provided by AGE (Luxembourg) and ordered from Wellington Laboratories (Guelph, Ontario).

Sample preparation: Calibration solutions were prepared by dilution of each water sample (ultrapure HPLC-grade water, tap water and bottled mineral water) with methanol at a 50:50 ratio.

Note: it is paramount for all solutions to be prepared and vialled in polypropylene vessels. This is necessary due to the potential adsorption of PFAS compounds to glass vessels, which decreases the sensitivity of analytes over time.⁵

Chromatography: Chromatographic separation was performed using the ExionLC™ AD System, which provides very low carryover and full UHPLC capabilities. The column used was a Phenomenex Luna Omega 3 µm PS C18 100 Å, 100 × 3.0 mm with a Phenomenex Luna Omega 1.6µm PS C18 100 Å, 50 × 2.1 mm delay column. Details of the chromatography are outlined in the supplementary information.³

Mass spectrometry: These experiments were performed using the QTRAP 6500+ System and the SCIEX 7500 System. The systems were operated in negative mode with electrospray ionization (ESI) using the Scheduled MRM™ Algorithm. Data was acquired using Analyst® Software. Details for the MS conditions are outlined in the supplementary information.³

Data processing: Data was processed using SCIEX OS Software.

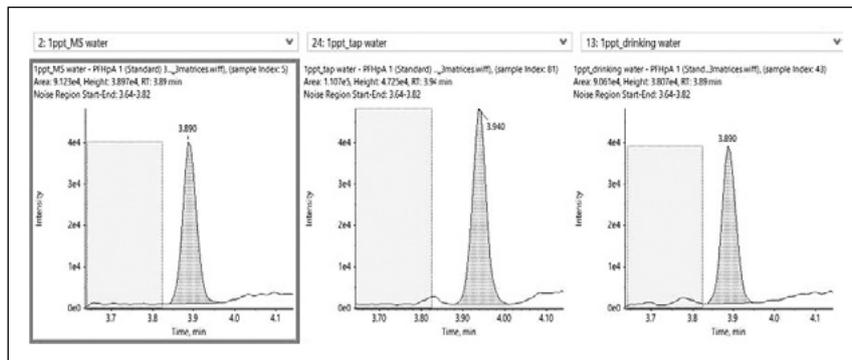


Figure 1. Extracted ion chromatograms (XICs) of PFHpA. XICs for PFHpA at the LOQ (0.001 µg/L) in 3 different water matrices: ultrapure HPLC-grade water (left), tap water (middle) and bottled mineral water (right).

Quantitative performance

Due to the lowered limits associated with PFAS analysis, it has become increasingly important to provide higher levels of sensitivity to the environmental industry to ensure that the relevant LLOQs can be achieved with accuracy, precision and robustness. Good chromatography is key to providing good separation and removing any instrument contamination from the analysis (Figure 2). To characterize the sensitivity of

the QTRAP 6500+ System, concentration curves were generated in HPLC grade water. Example chromatograms for PFNA across the 10- point PFNA calibration curve highlights the quality of the data (Figure 3).

Figure 4 highlights some example calibration curves for 3 relevant PFAS compounds, including both % accuracy and %CV (%RSD) data for the calculated concentration at each linearity level. In addition to high accuracy and precision levels, sensitivity is impor-

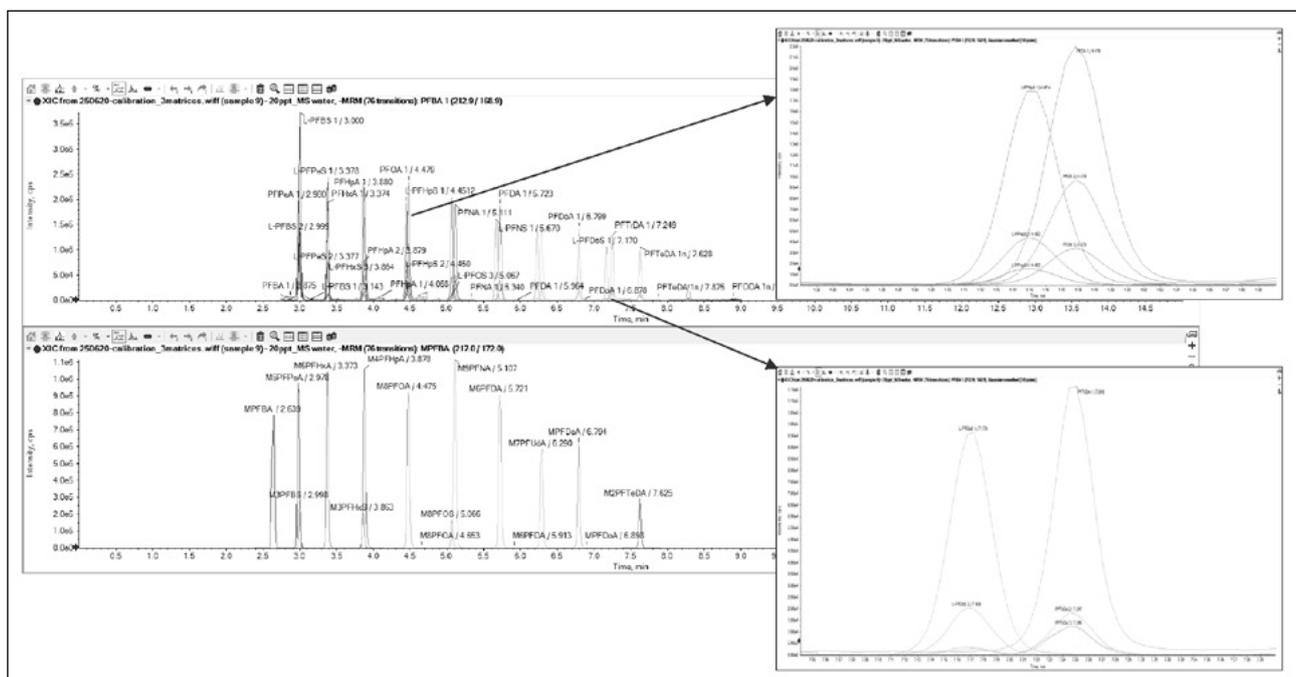


Figure 2. Good separation of all PFAS compounds. Overlaid XICs of all PFAS compounds analyzed (top) and the corresponding internal standards (bottom) at a concentration of 0.02 µg/L. Both zoomed-in panes show that even though some of the compounds could not be fully resolved chromatographically, the use of specific MRM transitions for each compound means that these compounds can be resolved using the mass spectrometer.

NOTAS TÉCNICAS

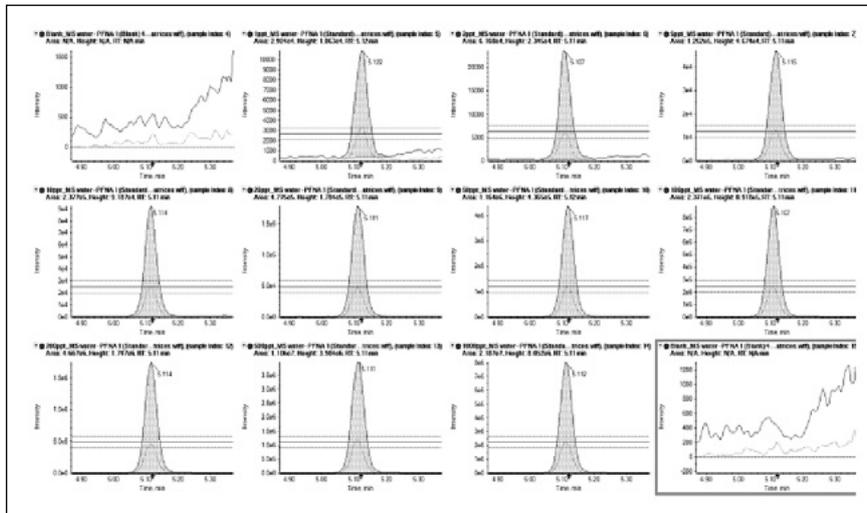


Figure 3. XICs from the calibration curve. XICs were generated for the blank injection and each concentration from the 10-point calibration curve for PFNA in HPLC grade water. The concentration curve spanned the range of 0.001–1 µg/L and was then followed by another blank injection. Both blank injections are clear from interferences in both the quantifier and qualifier transitions. The calibration curve XICs highlight the ion ratio lines used to show that this aspect is working well and is not affected by the matrix used.

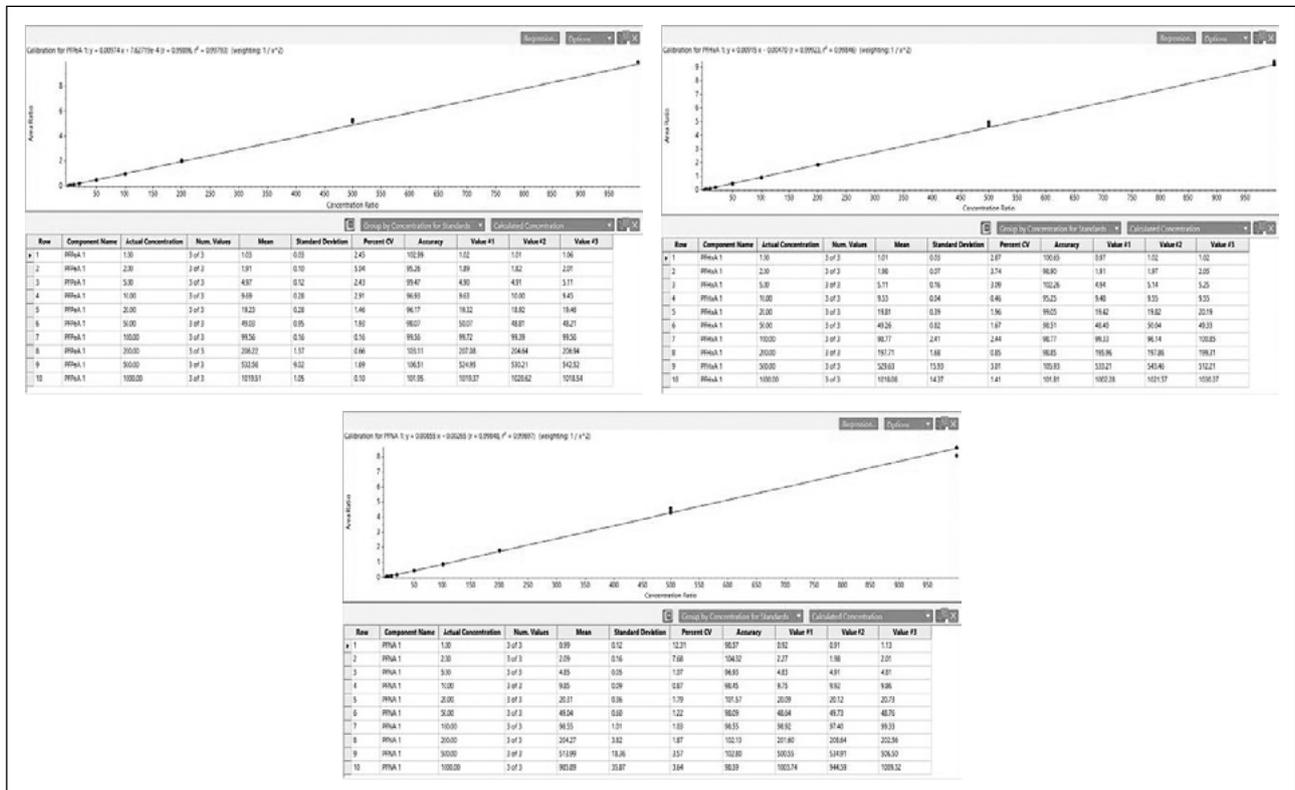


Figure 4. Example calibration curves in HPLC grade water. Calibration curves of PFPeA (top), L-PFPeA (middle) and PFNA (bottom) spanning the range of 0.001–1 µg/L with accuracy values at each level between 80% and 120%, and %CV (%RSD) values below 10%.

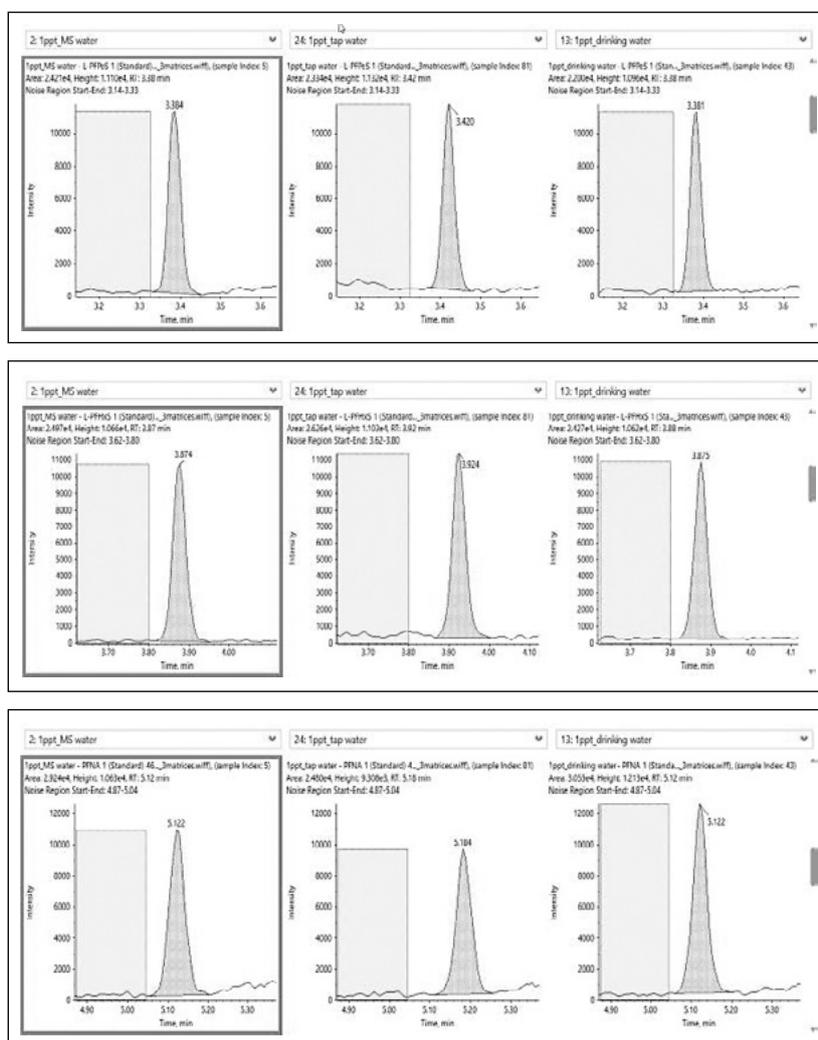


Figure 5. XICs for 3 representative PFAS compounds at LLOQs. XICs for L-PFPeS (top), L-PFHxS (middle) and PFNA (bottom) at an LLOQ of 0.001 $\mu\text{g/L}$ in ultrapure HPLC-grade water (left), tap water (middle) and drinking water (right).

tant to ensure that specialized equipment or large injection volumes are unnecessary. The LLOQs for each PFAS monitored in the 3 different water samples are in Table 1, and example chromatograms are shown in Figure 5.

PFAS stability in glass

A significant issue with PFAS analysis is that long-chain PFAS compounds have low solubility in water samples and tend to stick to the surface of sample containers. This effect increases with chain length, and this is the main reason that polypropylene material is recom-

mended for storage of samples and standards, and that methanol is added during sample preparation. To evaluate this effect, samples were stored in glass vials and the peak areas for all PFAS compounds were analyzed across 34 hours. The example for PFTeDA is shown in Figure 6, and the results across all PFAS are summarized in Table 2. Of the 21 compounds analyzed, 8 were susceptible to this issue in ultrapure HPLC-grade water and 11 were seen to decrease in both tap water and mineral water matrices. To account for this decrease over long analysis times, it is important to either use polypropylene vials during storage and analysis (Figure 7) or utilize deuterated internal standards to mitigate any change in signal intensity.

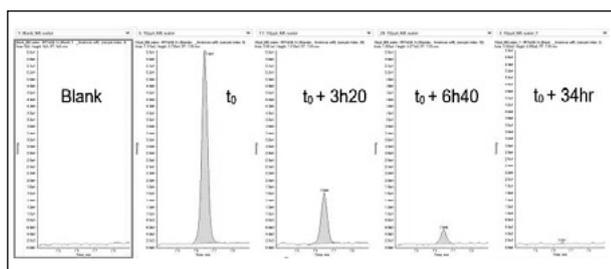


Figure 6. Stability assessment of PFTeDA in glass vials over time. XICs showing the sensitivity decrease of PFTeDA over a 34-hour period when using glass vials, which highlights the issue observed for many of the analyzed PFAS compounds. This demonstrates the importance of understanding this aspect of the analysis and accounting for it accordingly.

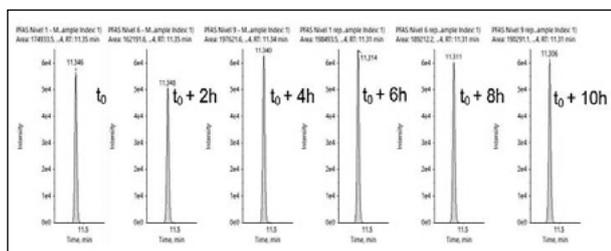


Figure 7. Stability assessment of MPFDoA in polypropylene vials over time. XICs of MPFDoA (an internal standard of PFDoA) over a 10-hour period when using polypropylene vials. The sensitivity of PFDoA was shown to decrease over time in glass vials (Table 2). This highlights the stability of the peak area and height when using polypropylene vial material. The above XICs show the internal standard measured from standard solutions and drinking water samples from across the analysis, showing its consistency over time even in different solutions and matrices.

Workflow points to consider

Using a delay column

In previous PFAS analyses, contamination has been observed when using an analytical column alone. This contamination appears to originate from the LC system itself, which creates the analytical challenge of separating the contamination from the analyte of interest. To address this challenge, a pre-column or delay column has been used to ensure the observed contamination is well separated from the analyte. The column chosen for this was similar to the analytical column and utilized the same stationary phase.

Table 2. Effect of glass vials on PFAS stability. The compounds here were found to be susceptible to a sensitivity decrease over 34 hours when using glass vials. The decrease is more pronounced for longer-chain PFAS compounds and is unaffected by the water analyzed. This demonstrates the importance of using polypropylene vials to ameliorate this effect.

Compound	Sensitivity decrease observed (Y/N)		
	Ultrapure HPLC-grade water	Tap water	Bottled mineral water
PFBA	N	N	N
PFPeA	N	N	N
L-PFBS	N	N	N
PFHxA	N	N	N
L-PFHeS	N	N	N
PFHpA	N	N	N
L-PFHxS	N	N	N
PFOA	N	N	N
L-PFHpS	N	N	N
PFNA	N	Y	Y
L-PFOS	N	Y	Y
PFDA	N	Y	Y
L-PFNS	N	Y	Y
PFUdA	Y	Y	Y
L-PFDS	Y	Y	Y
PFDoA	Y	Y	Y
PFTeDA	Y	Y	Y
PFHxDA	Y	Y	Y
PFODA	Y	Y	Y

Reducing injection volume

With past methods that used LC-MS/MS to quantify PFAS compounds in water, it was common to use large injection volumes—possibly even injecting multiple milliliters of sample and performing a trap-and-elute workflow to concentrate this volume and reduce peak broadening. However, this analysis leveraged the high sensitivity of the QTRAP 6500+ System, which enabled the use of a 50 µL injection volume.

Therefore, there is no need for any specialized equipment, such as a CTC autosampler, or for any

significant modification to the UHPLC system, other than using a 50–100 μL sample loop.

Another benefit of using a reduced injection volume is a reduction in the previously observed issues, such as a high background and contamination, which leads to a more robust and easier-to-implement workflow.

Reducing blank contamination

Due to the widespread use of PFAS compounds, it is difficult to achieve a clean blank injection because of the prevalence of contamination that usually originates from the analytical instrumentation itself. This issue is mitigated by the use of a delay column, which means that a clean blank was achieved for all 23 analyzed compounds. This is still an issue to consider when performing PFAS analysis, however.

Recently regulated PFAS compounds

The new EU drinking water directive (released in February 2020) included 2 new PFAS compounds of con-

cern: L-PFUDs and L-PFTrDS. At the time of the directive's release, the sourcing of these compounds proved to be particularly challenging, and for this reason, they were not included in the bulk of the analysis performed here. However, in late 2020, it became clear that these compounds were now commercially available (Wellington Laboratories, Guelph, Ontario),⁴ and so testing was performed to assess their LLOQ (Table 1).

Additional analysis performed on the SCIEX 7500 System

Due to sensitivity being a significant challenge when performing PFAS analysis, testing was also performed on the SCIEX 7500 System, which is the most sensitive triple quadrupole MS system in the SCIEX portfolio. All 20 compounds within the 0.1 $\mu\text{g/L}$ regulation were analyzed, with 15 out of 20 analytes providing improved LLOQ values, 3 providing a comparable LLOQ and 2 having a higher LLOQ due to unexpected interferences, which were thought to be caused by contamination within the water used or related to chromatography (data not shown). Figure 8 and Figure 9 show example results from the calibration curve measured for L-PFOS on the SCIEX 7500 System.

Figure 8. XICs of L-PFOS analyzed on the SCIEX 7500 System. The XICs for L-PFOS are (from left to right) 0.0001 $\mu\text{g/L}$, 0.0005 $\mu\text{g/L}$ and 0.001 $\mu\text{g/L}$. All analysis has been performed using a diluent of a 50:50 ultrapure HPLC-grade water and methanol mix.

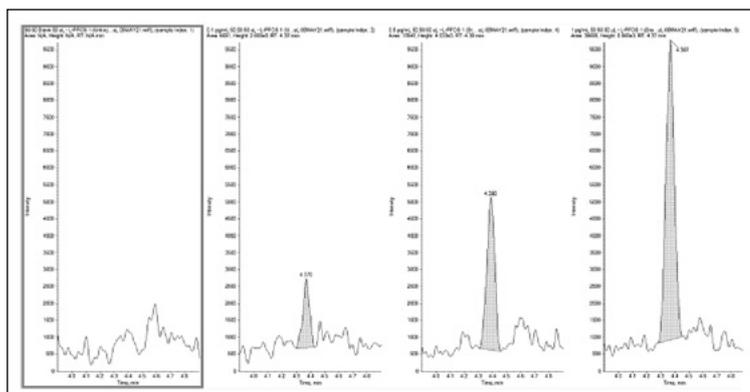


Figure 9. Calibration curve of L-PFOS on the SCIEX 7500 System. Calibration curve for data depicted in Figure 8 showing the linearity of the data from 0.0001–1 $\mu\text{g/L}$, highlighting both the sensitivity of the system and the linear dynamic range that has been achieved ($r = > 0.99$).

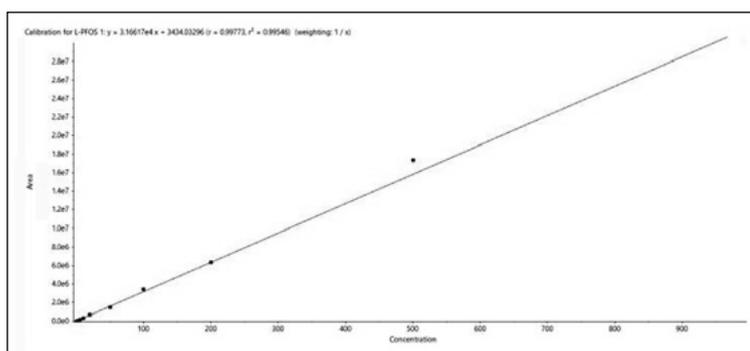


Table 3. A list of all compounds analyzed.

Compound name	Acronym
Perfluorobutanoic acid	PFBA
Perfluoropentanoic acid	PFPeA
Perfluorohexanoic acid	PFHxA
Perfluoroheptanoic acid	PFHpA
Perfluorooctanoic acid	PFOA
Perfluorononanoic acid	PFNA
Perfluorodecanoic acid	PFDA
Perfluoroundecanoic acid	PFUdA
Perfluorododecanoic acid	PFDoA
Perfluorotridecanoic acid	PFTrDA
Perfluorobutane sulfonic acid	L-PFBS
Perfluoropentane sulfonic acid	L-PFPeS
Perfluorohexane sulfonic acid	L-PFHxS
Perfluoroheptane sulfonic acid	L-PFHpS
Perfluorooctane sulfonic acid	L-PFOS
Perfluorononane sulfonic acid	L-PFNS
Perfluorodecane sulfonic acid	L-PFDS
Perfluorododecane sulfonic acid	L-PFDoS
Perfluorotetradecanoic acid	PFTeDA
Perfluorohexadecanoic acid	PFHxDA
Perfluorooctadecanoic acid	PFODA
Perfluoroundecane sulfonic acid	L-PFUdS
Perfluorotridecane sulfonic acid	L-PFTrDS

Conclusions

To summarize, an LC-MRM method using a smaller volume direct injection approach has been demonstrated to be sensitive enough to easily meet the current recommended limits set by the European authorities for drinking water. The generated results highlight the accuracy, robustness and precision of the method. Several analytical challenges have been well documented for PFAS analysis in the past, such as blank contamination, compound stability and the need to inject large volumes of samples. This method has successfully addressed these problems, ensuring that it can be much more easily implemented compared with previous methods. It also does not require the use of specialized equipment or extensive modifications to the LC system. In addition, data has been generated using this method on the SCIEX 7500 System to highlight the advantages of increased sensitivity.

References

1. European Chemicals Agency (ECHA), *Perfluoroalkyl chemicals (PFAS)*.
2. Council of the European Union, Proposal for a Directive of the European Parliament and of the Council on the quality of water intended for human consumption, *February 2020*.
3. Download the *supplementary information*.
4. Wellington Laboratories, New products: Native Certified Reference Standards for L-PFUdS and L-PFTrDS, *November 2020*.
5. US Environmental Protection Agency, Determination of Selected Perfluorinated Alkyl Acids in Drinking Water by Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS), Method 537 Rev 1, November 2008 (*revised October 2015*).

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). AB SCIEX[®] is being used under license.

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-13414-A.



Headquarters

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

International Sales

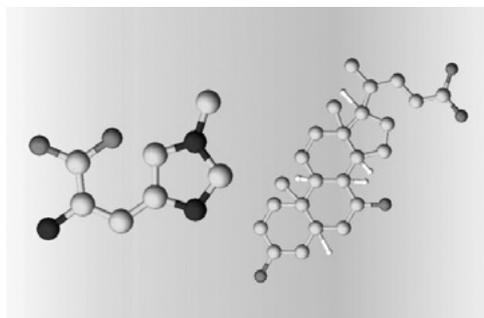
For our office locations please call the division headquarters or refer to our website at sciex.com/offices

Waters™

CYCLIC ION MOBILITY RESOLVES BIOLOGICALLY RELEVANT, ISOMERIC ENDOGENOUS METABOLITES

Adam King, Dale Cooper-Shepherd, Lee A. Gethings, Robert S. Plumb

Waters Corporation



Abstract

In this application brief we demonstrate the ability of Cyclic IMS to separate small molecule isomers by utilizing multi-pass experiments, providing improved metabolite detection and identification.

Benefits

Multi-pass experiments using the Cyclic IMS (cIMS) Mass Spectrometer highlight enhanced mobility separation of structural isomers.

Introduction

Over the years, advances in separation technology have enabled the detection and quantification of compounds that have previously proved difficult to analyze. In metabolomics, many small compounds – which form the core of the analytes of interest fall into this group. The variation in compound modifications during metabolism can generate subtly different isomeric metabolites. These isomers can each tell a very different story when it comes to furthering the understanding of diseases and ultimately biochemical mechanisms. Chiral separation of isomers by supercritical fluid chromatography (SFC) has to some degree allowed these separations to be performed in short analytical acquisitions.^{1,2} Nevertheless, SFC requires a

separate chromatography system to traditional liquid chromatography (LC) and therefore lacks the method flexibility associated with the latter configuration.

Ion mobility enabled mass spectrometers provide an additional orthogonal separation of ions prior to detection. This allows molecules of similar mass/charge to be separated by their collisional cross section (CCS) improving specificity, enabling improved identification, and cleaner MS/MS spectra. Although, some very closely related structural isomers exhibit the same or similar CCS value and drift time when measured on conventional ion mobility platforms, accurate determination is difficult by this method alone.

The SELECT SERIES Cyclic IMS instrument has previously been used to assist in the resolution of larger molecules such as peptides, polysaccharides, and lipids³ by performing multi-pass IMSⁿ acquisitions (IMSⁿ) where packets of ions can be cycled multiple times around the IMS region before being ejected for detection. In this application brief we demonstrate the Cyclic IMS instrument's capability of enhancing the separation of small polar isomeric metabolites using the multi-pass feature.

Results and Discussion

Isomeric forms of amino acids and bile acids exist among others – which ultimately play significantly different biological roles – highlighting the importance of a metabolomic analytical study in differentiating between different isomers. Methylhistidines have previously been identified as markers associated with a variety of diseases and deficiencies, including vitamin E deficiency, which has been shown to lead to an increase in the presence of 1-methylhistidine in urine.⁴ Conversely, an increase in plasma concentrations has been correlated to a reduction in carnosinase activity. Furthermore, 3-methylhistidine has been identified as a potential marker for the breakdown of skeletal muscle following injury.⁵ Utilization of an in-house CCS prediction tool provided predicted CCS values for 1-methylhistidine and 3-methylhistidine as 133 Å² and 134 Å² respectively ([M-H]⁺ ion), indicating potential difficulties in accurately confirming these compounds.

Bile acids play important roles in lipid and fat-soluble vitamin adsorption, acting as surfactants, and are intrinsic in cholesterol metabolism.^{6,7} Chenodeoxycholic acid is a primary bile acid in humans which undergoes

a biotransformation upon interaction with gut bacteria to produce secondary bile acids (e.g. hyodeoxycholic acid).⁷ High levels of chenodeoxycholic acid can lead to a toxic effect from cholestasis. Excretion of bile acids in mammals is performed following glucuronidation of these secondary bile acids. Due to the positioning of the hyodeoxycholic acid hydroxyl groups, this secondary bile acid has an increased rate of glucuronidation and ultimately an increased rate of urinary excretion.⁸ Variations in levels of these bile acids can be indicative of microbiome function. The predicted CCS values for both bile acids is 207 Å² ([M-H]⁻ ion).

A standard mixture containing two sets of isomeric endogenous metabolites from two different compound classes was prepared for direct infusion using acetonitrile:water (1:1) as diluent. Additionally, each individual authentic standard was prepared into separate infusion solutions for further confirmation. The standard infusion mixture contained two bile acids (chenodeoxycholic acid and hyodeoxycholic acid) and two modified histidine metabolites (1-methylhistidine and 3-methylhistidine) (Figure 1).

All mass spectrometry data was acquired using negative electrospray ionization (ESI) and the ToF operated with V optics mode. Source conditions (*i.e.* ca-

pillary voltage, source temperatures, and gas flows) were optimized for each compound class to provide the best response for assessing the IMS separation. In order to perform the multi-pass experiment, the Cyclic IMS instrument was operated in MS/MS mode without any transfer collision energy but with the quadrupole set to the corresponding negative molecular ion mass for the bile acids ($m/z = 391.28$ [M-H]⁻) and methylhistidines ($m/z = 168.07$ [M-H]⁻). All infusion solutions were infused directly into the source using a syringe pump set to a flow rate of 10 µL/min.

Whilst infusing the standard solutions, ions corresponding to the bile acids and methylated histidines were individually sent around the cyclic ion mobility (IM) cell multiple times until the individual isomers were separated by their arrival time (Figure 2). Baseline resolution was achieved for the methylhistidine after 5 passes of the cyclic IM cell (Figure 2b) with the bile acids distinctly separating after 20 passes (Figure 2a). The 20 passes required to separate the bile acids was achieved in less than 200 ms at an IMS resolution of 290, whereas the 5 passes required for the methylhistidine isomers was less than 50 ms and an IMS resolution of 145. To identify which peak corresponded to the correct isomer, the individual standards were infused to determine their specific arrival times (Figure 3).

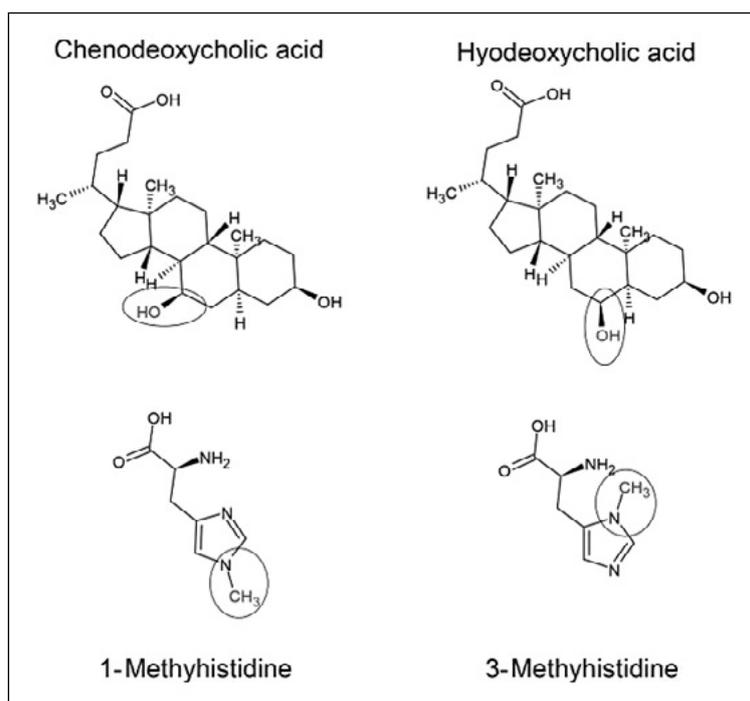


Figure 1. Chemical structures of the bile acid and methylhistidine compounds investigated.

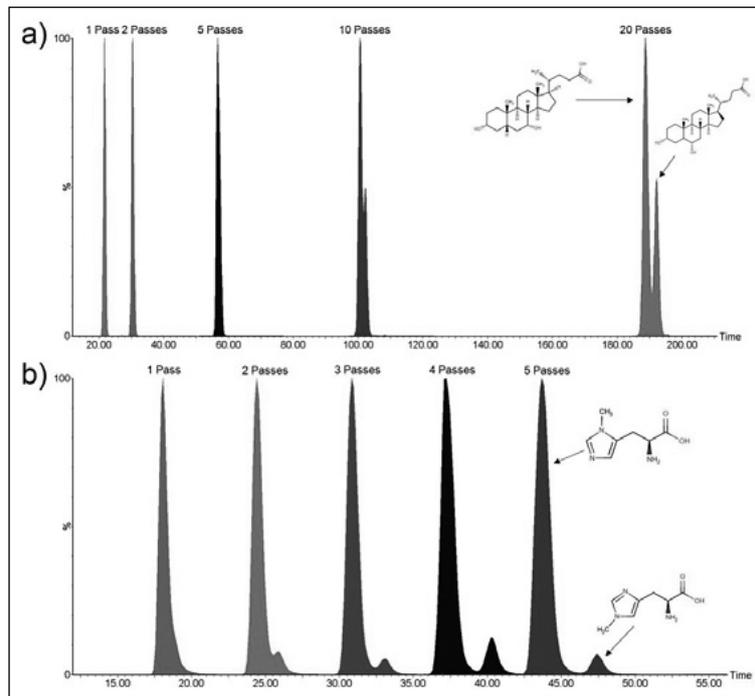


Figure 2. Mobilograms of infused standard mixture showing an increase in peak resolution of (a) bile acids, chenodeoxycholic acid, and hyodeoxycholic acid from one to twenty cyclic IMS passes (< 200 ms) and (b) 1- and 3-methylhistidine following one to five IMS passes (< 50 ms).

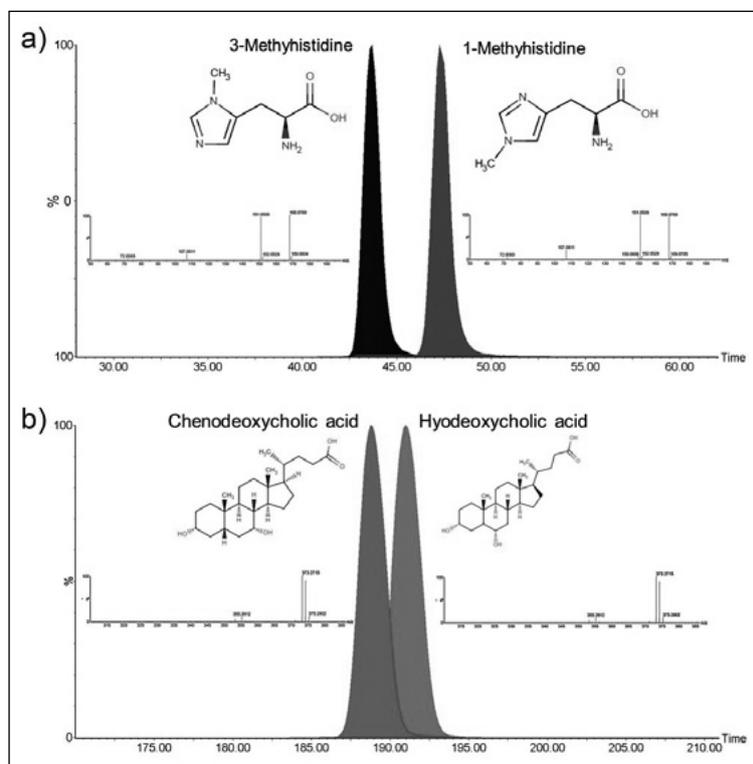


Figure 3. Mobilograms resulting from infusion of the individual compound standards confirming arrival times for each isomer with inserted corresponding high collision energy spectra; (a) 1- and 3-methylhistidine after 5 passes and (b) chenodeoxycholic acid and hyodeoxycholic acid after 20 passes.

Conclusion

Small molecule metabolites are intrinsic in all biochemical processes as either the target of a metabolic pathway or the resulting product of metabolism. These molecules can therefore provide insights into the disfunction of pathways caused by genetic abnormalities, diseases, and the impact of lifestyle. Many compounds are present naturally in different isomeric forms which in turn can be related to different metabolic pathways and have varying impact on the underlying biology and associated health conditions. The SELECT SERIES Cyclic IMS instrument has been shown to accurately resolve two sets of biologically relevant isomers within 20 passes (< 200 ms) of the cyclic IMS cell. This has enabled the isomeric forms to be resolved by different arrival times for accurate identification without the need to develop a new LC method.

References

1. Yamada T, Uchikata T, Sakamoto S, Yokoi Y, Nishiumi S, Yoshida M, *et al.* Supercritical Fluid Chromatography/Orbitrap Mass Spectrometry based Lipidomics Platform Coupled with Automated Lipid Identification Software for Accurate Lipid Profiling. *J Chromatogr A*. 2013; 1301: 237–42.
2. Sen A, Knappy C, Lewis MR, Plumb RS, Wilson ID, Nicholson JK, *et al.* Analysis of Polar Urinary Metabolites for Metabolic Phenotyping Using Supercritical Fluid Chromatography and Mass Spectrometry. *J Chromatogr A*. 2016; 1449: 141–55.
3. Giles K, Ujma J, Wildgoose J, Pringle S, Richardson K, Langridge D, *et al.* A Cyclic Ion Mobility-Mass Spectrometry System. *Anal Chem*. 2019; 91(13): 8564–73.
4. Fink K, Williams AD, Fink RM. 1-Methylhistidine Excretion by Vitamin E-deficient Rabbits. *Journal of Biological Chemistry*. 1959; 234(5): 1182–5.
5. Chinkes DL. Methods for Measuring Tissue Protein Breakdown Rate *In Vivo*. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2005; 8: 534–7.
6. Staels B, Fonseca VA. Bile acids and Metabolic Regulation: Mechanisms and Clinical Responses to Bile acid Sequestration. *Diabetes Care*. 2009;32 Suppl 2: S237–45.
7. Dawson PA, Karpen SJ. Intestinal Transport and Metabolism of Bile Acids. *J Lipid Res*. 2015; 56(6): 1085–99.
8. Matern H, Lappas N, S M. Isolation and Characterization of Hyodeoxycholic-acid: UDP-Glucuronosyltransferase from Human Liver. *European Journal of Biochemistry*. 1991(200): 393-400.



ANÁLISIS DE NITROSAMINAS EN PRODUCTOS FARMACÉUTICOS MEDIANTE LC-MS/MS



Introducción

La detección y control de las nitrosaminas como impurezas en productos farmacéuticos es de suma importancia hoy en día para la industria farmacéutica. Las nitrosaminas se pueden encontrar en derivados del tabaco y en multitud de productos alimenticios como fritos, pescados, carnes, cerveza o agua, algunas de las cuales están catalogadas como cancerígenas para humanos. En julio de 2018, la USFDA (Food and Drug Administration de USA) anunció que las sustancias cancerígenas N-nitrosodimetilamina (NDMA) y la N-nitrosodietilamina (NDEA) habían sido detectadas en Valsartán, medicamento usado para el tratamiento de alta tensión arterial, entre otros. En septiembre de 2019, la FDA anunció haber encontrado bajas concentraciones de NDMA en ranitidina. Estos sucesos fueron el origen del interés actual por las nitrosaminas y activaron el control por parte de las diferentes agencias internacionales del medicamento. Entre las distintas causas responsables de la presencia de nitrosaminas como impurezas en principios activos se encuentran las reacciones no deseadas de aminas secundarias, terciarias y sales de amonio cuaternarias, la contaminación aportada por los reactivos usados en la producción de los principios activos o la contamina-

ción aportada por el uso de catalizadores o disolventes recuperados.

Los métodos basados en cromatografía de gases y cromatografía de líquidos acopladas a espectrometría de masas, GC-MS y LC-MS, respectivamente, son claras alternativas para la confirmación y cuantificación de estas sustancias. En este artículo se mostrará un método basado en el protocolo de la USFDA empleando LC-MS/MS de triple cuadrupolo para la cuantificación de seis nitrosaminas presentes en el fármaco Valsartán. Concretamente, el analizador de triple cuadrupolo aporta una gran rapidez y sensibilidad en la medida, a la vez que simplifica enormemente el proceso analítico con respecto a los instrumentos de alta resolución.

Materiales y métodos

Las nitrosaminas estudiadas fueron: *N*-nitrosodimetilamina (NDMA), *N*-nitrosodietilamina (NDEA), ácido *N*-nitroso-*N*-metil-4-aminobutírico (NMBA), *N*-nitrosoetilpropilamina (NEIPA), *N*-nitrosodisopropilamina (NDIPA) y *N*-nitrosodibutilamina (NDBA).

Para la separación de las mencionadas nitrosaminas se empleó una columna Shim-pack Velox PFPP (250 mm × 4,6 mm, 5 μm). El instrumento usado fue un UHPLC Nexera serie 40 de Shimadzu y un espectrómetro triple cuadrupolo de masas LCMS-8045 de Shimadzu equipado con una fuente APCI.

Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes: temperatura de horno 40 °C, flujo 0,5 mL/min, fase móvil A 0,1% ácido fórmico en H₂O, fase móvil B 0,1% ácido fórmico en MeOH, volumen de inyección 20 μL, temperatura de la muestra 5 °C, gradiente de 40% de B a tiempo 0 min, subida a 55% hasta tiempo 3 min y mantenido hasta tiempo 6,5 min, subida a 65% de B hasta tiempo 8,2 min y mantenido hasta tiempo 10 min, subida a 90% de B hasta tiempo 10,1 min y mantenido hasta tiempo 13 min, bajada a 40% de B hasta tiempo 13,1 min y mantenido hasta tiempo 15 min.

Las condiciones experimentales en espectrometría de masas fueron las siguientes: ionización APCI en modo positivo, gas de nebulización 3 L/min, temperatura de la interfase 350 °C, temperatura del DL (línea de transferencia) 200 °C, temperatura del bloque 200 °C y gas de secado 5 L/min.

Las transiciones de los iones para cada uno de los analitos medidos fueron las siguientes:

- NDMA: 75,20 > 43,00 (Cuantificador); 75,20 > 58,00 (Cualificador).
- NDEA: 103,00 > 29,00 (Cuantificador); 103,00 > 75,10 (Cualificador).
- NMBA: 146,90 > 117,15 (Cuantificador); 146,90 > 44,10 (Cualificador).
- NDIPA: 131,20 > 89,05 (Cuantificador); 131,20 > 43,10 (Cualificador).
- NEIPA: 117,20 > 75,10 (Cuantificador); 117,20 > 27,10 (Cualificador).
- NDBA: 159,00 > 29,20 (Cuantificador); 159,00 > 103,00 (Cualificador).
- NDMA-D6: 81,10 > 46,10 (Patrón interno).
- NDEA-D10: 113,10 > 81,15 (Patrón interno).

La cuantificación se llevó a cabo por el método de patrón interno sobre una calibración de hasta 100 ng/mL, ofreciendo un coeficiente de correlación de 0,999 en todos los casos. Se llevaron a cabo estudios de recuperación haciendo adiciones de 0,005 ppm y obteniendo resultados satisfactorios.

La preparación de la muestra se hizo pesando 100 mg de Valsartán en un tubo Eppendorf de 2 mL y se disolvió en 1 mL de una mezcla H₂O:MeOH 1:1. A continuación, se añadieron 0,050 mL de la mezcla de patrones internos de una concentración de 100 ng/mL y se agitó. Se centrifugó la disolución a 10.000 rpm a 15 °C durante 10 min. El sobrenadante se filtró directamente al vial de HPLC mediante unos filtros de jeringa de PVDF de 0,2 μm.

Todas las disoluciones fueron preparadas de nuevo a diario.

Resultados

Los resultados cuantitativos obtenidos se resumen en la tabla 1. Se pueden apreciar muy buenos límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ). Concretamente, en el NDMA llegamos a límites de cuantificación de 0,5 ng/mL bajo las condiciones experimentales descritas. Eso significa unos niveles de 0,0050 ppm de NDMA en el producto. Estos LOQs son buenos y se consiguen siguiendo el método propuesto basado en el protocolo de la FDA, aunque los laboratorios de aplicaciones de Shimadzu han llevado a cabo experimentos llevados que consiguen rebajar estas cifras por debajo de los 0,30 ng/mL empleando esta misma

Tabla 1. Valores de LOD y LOQ para las 6 nitrosaminas estudiadas en Valsartán.

Description	Unit	NDMA	NDEA	NMBA	NDIPA	NEIPA	NDBA
LOD	ng/mL	0,250	0,100	0,250	0,100	0,050	0,250
	ppm	0,0025	0,0010	0,0025	0,0010	0,0005	0,0025
LOQ	ng/mL	0,50	0,25	0,50	0,25	0,10	0,50
	ppm	0,0050	0,0025	0,0050	0,0025	0,0010	0,0050
Range	ng/mL	0,50-100	0,25-100	0,50-100	0,25-100	0,10-100	0,50-100
	ppm	0,005-0,10	0,0025-0,10	0,005-0,10	0,0025-0,10	0,001-0,10	0,005-0,10

instrumentación, LCMS-8045. Los niveles de sensibilidad de los espectrómetros de masas de mayor gama, a saber, LCMS-8060NX de Shimadzu, permiten alcanzar LOQs para la NMDA de 0,1 ng/mL.

Para alcanzar altos niveles de sensibilidad, no solo es necesario el empleo de una instrumentación adecuada, sino que también es muy importante cuidar detalles de la preparación de muestras y condiciones de análisis. A continuación, se mencionan algunas recomendaciones importantes para obtener los mejores resultados.

La necesidad de tener buenos blancos es de suma importancia en todo análisis. Sin embargo, en este caso cobra incluso mayor relevancia al tratarse de transiciones de masas muy pequeñas que son susceptibles de ser interferidas por contaminantes existentes en los propios disolventes o incluso en los gases empleados. Por tanto, se recomienda tener precauciones como el uso de disolventes de alta calidad y filtros adecuados para los gases empleados para mejorar el nivel de ruido en nuestros cromatogramas de MRM. Incluso el empleo de una válvula "diverter" que mande a desecho el eluyente cromatográfico que no sea de interés preservará el equipo de ser contaminado. En este mismo sentido, es sumamente recomendable una limpieza periódica con MeOH de la "corona needle" empleada en la fuente APCI, para prevenir contaminación de la misma y la correspondiente subida de la línea base.

En la figura 1 se puede apreciar el nivel de señal de la transición 75,20 > 43,00 en el blanco y en el punto del calibrado a 1 ng/mL. Aunque tenemos una buena señal del analito, la bajada en el fondo de esta señal nos permitiría tener mucho margen de mejora en la sensibilidad sin necesidad de cambiar a una instrumentación más capaz.

El ejemplo de la nitrosamina NDMA es muy adecuado para ilustrar dónde podemos mejorar el rendimiento general del análisis. Centrándonos ahora en los parámetros instrumentales, las transiciones con masas pequeñas del tipo 75,20 > 43,00, requieren de una serie de cuidados adicionales en la puesta a punto de los parámetros del analizador. Así, la optimización fina de los voltajes de enfoque y de la presión del gas de colisión de la celda (CID), juegan papeles muy importantes en el análisis de las nitrosaminas. Se trata de masas muy pequeñas que deben ser tratadas de manera algo distinta a las que comúnmente se analizan por triple cuadrupolo. La ventaja en este punto de los triples cuadrupolos de Shimadzu radica en que tanto las lentes de enfoque como las prebarras de los cuadrupolos nos pueden ayudar a un correcto enfoque de estas pequeñas masas y se pueden personalizar para cada transición. Concretamente, este aspecto es exclusivo de los triples cuadrupolos de Shimadzu. El resultado es una mejor transmisión iónica y mayor sensibilidad.

Finalmente, remarcar que la estabilidad de algunas nitrosaminas como la NMDA es bastante pobre en condiciones ácidas, por lo que es bueno tener la precaución de preparar diariamente las muestras y patrones.

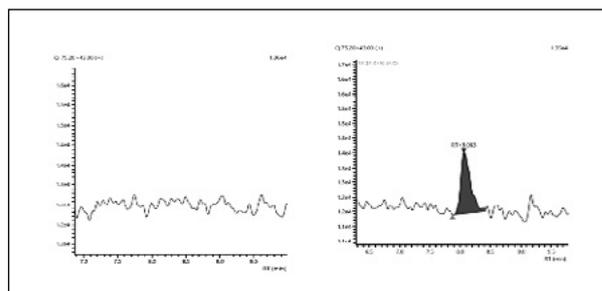


Figura 1. Cromatograma del blanco y del patrón 1 ng/mL de NDMA para la transición 75,2 > 43,0.

Conclusiones

La técnica de cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas de triple cuadrupolo se confirma como una alternativa adecuada para la determinación de nitrosaminas en productos farmacéuticos a los niveles de sensibilidad requeridos por la USFDA. La extensa y robusta gama de triples cuadrupolos de Shimadzu ha demostrado tener capacidad para llevar a cabo este tipo de análisis con éxito, alcanzando incluso límites de cuantificación de 0,1 ng/mL de NDMA.



DETERMINACIÓN DE MOSH/MOAH MEDIANTE GC x GC-TOFMS

Key Words: MOSH, MOAH, hidrocarburos saturados de aceites minerales, hidrocarburos aromáticos de aceites minerales, GC x GC, TOFMS.

Introducción

La preocupación en torno a la contaminación de alimentos por hidrocarburos procedentes de aceites minerales (MOH) ha crecido desde 2012, cuando la Autoridad Europea en Seguridad Alimentaria (EFSA) los señaló como una potencial amenaza para la salud. Los MOH son clasificados en dos subclases principales: MOSH (Hidrocarburos Saturados de Aceites Minerales) incluyendo lineales, ramificados y cicloalcanos alquilsustituidos, y MOAH (Hidrocarburos Aromáticos de Aceites Minerales) fundamentalmente hidrocarburos (poli) aromáticos alquilsustituidos como alquilbenzenos, alquilnaftalenos, etc.

En relación con los métodos de análisis, dos opciones han sido propuestas para la cuantificación de estas sustancias: 1) un método "off-line" consistente en una extracción en fase sólida (SFE) seguido por un análisis GC-FID, y 2) el más popular, un método on-line LC-GC-FID. Sin embargo, dependiendo de la ma-

triz, ambos presentan imprecisiones y suponen un gran reto desde un punto de vista cualitativo/cuantitativo debido a la falta de un método de confirmación asociado (p.ej.: GC-MS, GC x GC-MS).

Bibliografía

1. Shimadzu Application Note No. 62. Analysis of Pharmaceuticals Impurity – Regulations and Analysis for Carcinogenic Substances.

En este sentido, el sistema **Pegasus BT 4D GC x GC-TOFMS** de LECO puede ayudar a esclarecer la complejidad de las muestras alimentarias contaminadas, proporcionando capacidades superiores en cuanto a resolución cromatográfica e identificación. De hecho, como ha sugerido la opinión de la EFSA, la tecnología GC x GC-MS debe ser usada como herramienta de confirmación de aquellos resultados inciertos.

Como ejemplo de su extraordinario poder de resolución, es posible diferenciar los MOSH de los POSH (Hidrocarburos Saturados de Poliolefinas Oligoméricas) y/o los MOAH de sustancias biogénicas como los terpenoides. Ambos, los POSH y los terpenoides, son interferentes y a menudo se cuantifican como MOSH o MOAH por error cuando se emplean las metodologías convencionales (p. ej.: LC-GC-FID), conduciendo, por tanto, a resultados erróneos.

Además del mejorado poder de separación y la confianza en la identificación, la herramienta "Clasificaciones" del software ChromaTOF de LECO puede ser aplicada de forma rutinaria para reunir rápidamente información de las muestras sobre la presencia de una clase química específica como hopanos, esteranos o los recientemente enfatizados MOAH de 3 a 7 anillos.

Esta nota describe el trabajo realizado mediante GCxGC-TOFMS para separar e identificar las fracciones MOSH y MOAH de sustancias biogénicas presentes normalmente en una muestra de comino.

NOTAS TÉCNICAS

Experimental

Se obtuvo un extracto de comino y las fracciones MOSH y MOAH individuales fueron separadas, concentradas (a ~100 µL) e inyectadas en un sistema Pegasus BT 4D GC × GC-TOFMS usando la aproximación de fraccionamiento por acoplamiento directo LC-GC.

Previo al análisis de la especia, también se inyectó como referencia, y usando el mismo procedimiento, una muestra patrón llamada VGO-IS, constituida por una fracción de petróleo fortificada con el patrón interno de MOSH/MOAH (Restek Corporation, #31070).

Los parámetros experimentales GC × GC-TOFMS están recogidos en la Tabla 1.

Resultados y discusión

El análisis de la muestra de referencia VGO-IS (obtenida mediante mezclado a vacío de Gas Oil VGO-rango de carbono > C50) con el patrón interno de MOSH/MOAH, permitió la creación de un gráfico de contorno de referencia que incluía todas las clases de compuestos más relevantes a investigar en el campo de los MOSH/MOAH. La figura 1 muestra el gráfico de contorno de la inyección de dicha muestra.

Como evidencia la figura 1, el extraordinario poder de la tecnología GC × GC permite la separación de muchas clases de compuestos, resultando un gráfico de contorno muy estructurado. Se eligió una configuración de columnas "reversa" debido a su especí-

Tabla 1. Parámetros experimentales GCxGC-TOFMS para el análisis de extracto de comino

GCxGC	LECO GCxGC QuadJet™ Thermal Modulator
Injection	2 µL, Splitless mode (330 °C)
Columns	¹ D: Rxi-17 SilMS, 12 m × 0.25 mm i.d. × 0.25 µm coating (Restek) ² D: Rxi-1 HT, 1.05 m × 0.25 mm i.d. × 0.25 µm coating (Restek)
Carrier Gas	He; 1 mL/min constant flow
Oven Program	40 °C (hold 1 min), ramp 5 °C/min to 360 °C, hold 10 min
Secondary Oven	+7 °C
Modulation (P _M)	5 s
Transfer Line	340 °C
MS	LECO Pegasus BT 4D
Ion Source Temp	280 °C
Mass Range	40-700
Acquisition Rate	200 spectra/s

fica capacidad para resolver clases químicas de otra manera problemáticas de separar usando la configuración "normal" (p. ej. n-i parafinas de los POSH). La configuración de fase reversa también permitió una clara separación de los hopanos (*m/z* 191), considerados como prueba de contaminación por aceite mineral. Estos marcadores están a menudo presentes a nivel de trazas y son muy difíciles de separar y/o detectar con la metodología LC-GC-FID. Así mismo, gra-

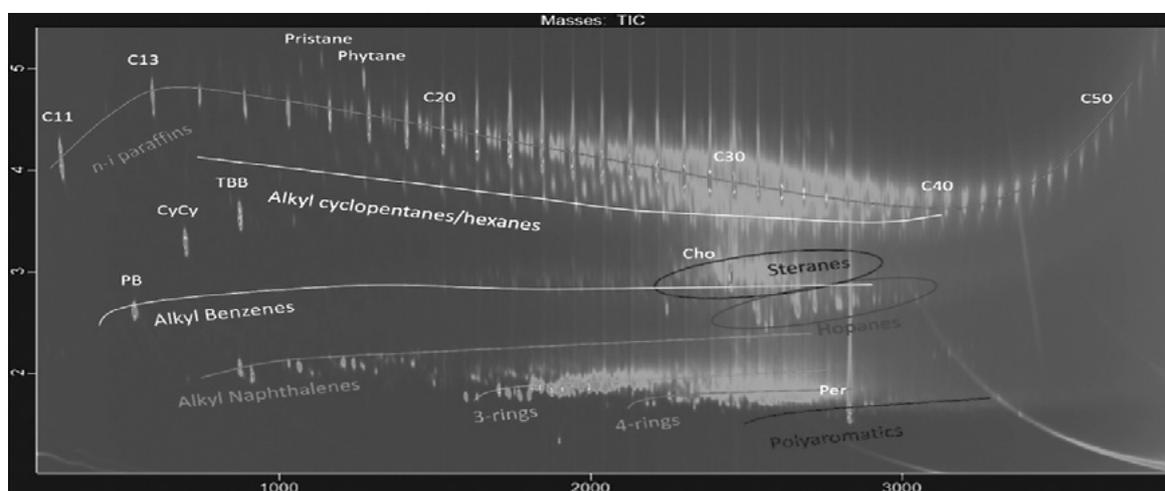


Figura 1. Gráfico de contorno GC × GC-TOFMS de la muestra VGO + el patrón interno MOSH/MOAH (VGO-IS).

cias a la combinación de las tecnologías GC × GC y TOFMS, éstos son claramente resueltos y muestran un característico patrón de elución. Lo mismo puede observarse para los esteranos, que eluyen ligeramente por encima de los hopanos y pueden ser fácilmente rastreados empleando la m/z 217.

Finalmente, se realizó una precisa evaluación de las capacidades de separación en el seno de la fracción MOAH para asegurar una adecuada resolución de estructuras aromáticas. Esto fue necesario de acuerdo con la más reciente recomendación de la UE de 2019, que resalta la importancia de los compuestos aromáticos policíclicos de 3 a 7 anillos (3-7 PAC) desde un punto de vista toxicológico.

A continuación, se analizaron también las fracciones de MOSH y MOAH de los extractos de comino empleando el mismo sistema **Pegasus BT 4D GC × GC-TOFMS**, la misma configuración y misma aproximación para el tratamiento de datos. El principal objetivo del análisis fue determinar la presencia de MOSH y MOAH y de otros interferentes que pudieran afectar a los resultados de cuantificación mediante LC-GC-FID.

La figura 2 muestra la presencia de hopanos en la fracción MOSH del comino, confirmando la presencia de contaminación por aceite mineral, mientras que la figura 3 muestra la presencia de marcadores específicos MOAH, como los Diisopropilnaftalenos (DIPN) y los Dibenzotiofenos (DBT), procedentes probablen-

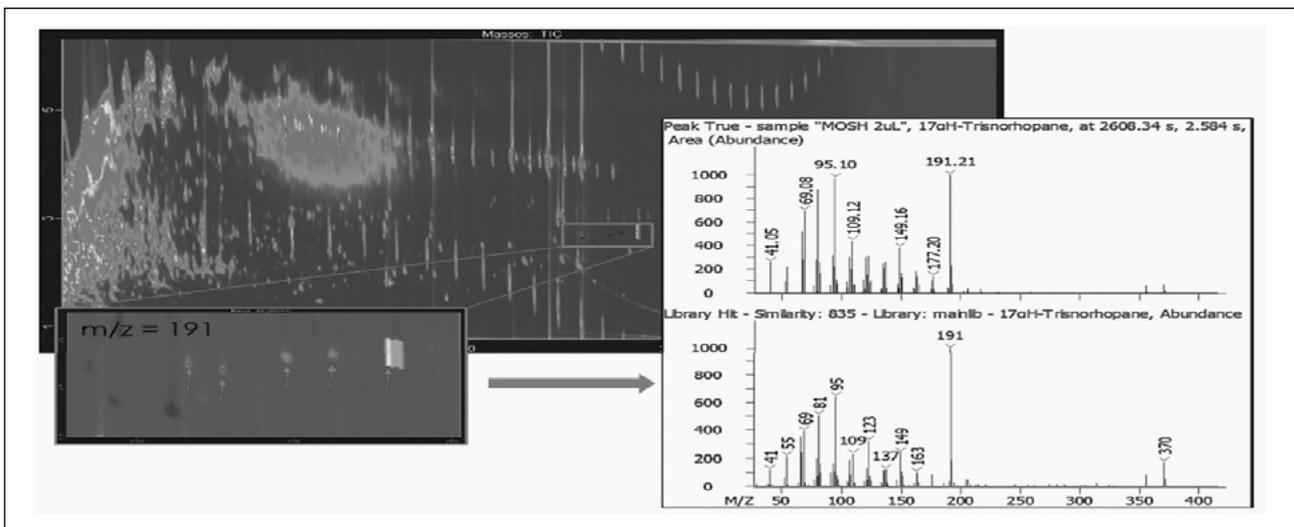


Figura 2. Detección de hopanos en la fracción MOSH de comino (m/z 191,21).

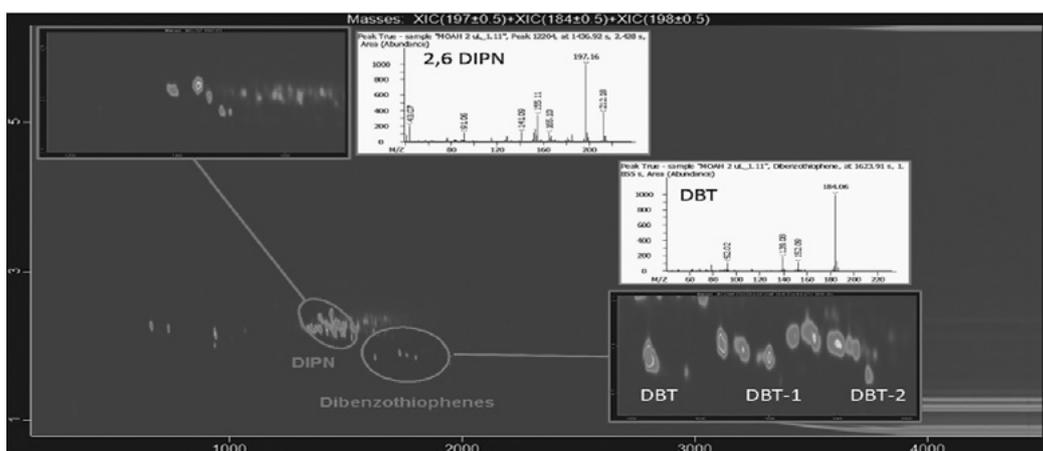


Figura 3. Detección y clasificación de los DIPN y los Dibenzotiofenos en la fracción MOAH del comino.

NOTAS TÉCNICAS

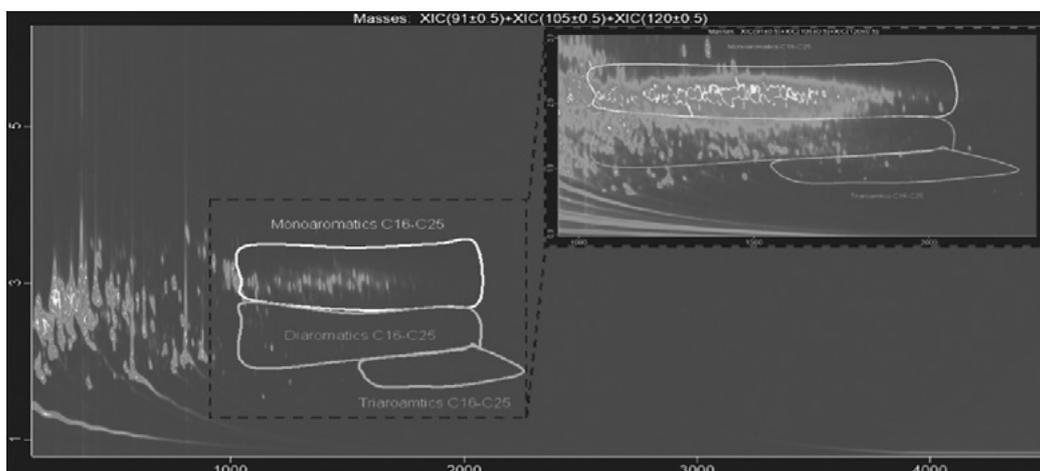


Figura 4. Detección y clasificación de hidrocarburos mono-, di-, triaromáticos en la fracción MOAH del comino.

te de la tinta para el embalaje y los sacos de yute empleados en el transporte de la especia después de su cosecha, respectivamente.

Junto a estos marcadores de contaminación, se confirmó también la presencia de otros compuestos aromáticos. Como ejemplo, la figura 4 muestra la clasificación de hidrocarburos mono-, di-, y tri- aromáticos en la fracción MOAH. Todas estas familias químicas han sido automáticamente detectadas aplicando la herramienta "Clasificaciones" del software **ChromaTOF** de LECO, una vez establecida como referencia la muestra VGO-IS.

Además, se detectó un grupo de sustancias adicional, algunos sesquiterpenos biogénicos presentes habitualmente en el comino. La figura 5 muestra la posición de este grupo de compuestos en el gráfico de contorno parcialmente solapada con la fracción monoaromática y la identificación de uno de los compuestos encontrados como ejemplo (amorphene, 850/1000). Dicha información es sólo una muestra de cómo la tecnología GC x GC en combinación con el poder de la Espectrometría de Masas de Tiempo de Vuelo (TOFMS) de LECO pueden mejorar la confianza del usuario cuando cuantifica y evalúa muestras MOSH/MOAH.

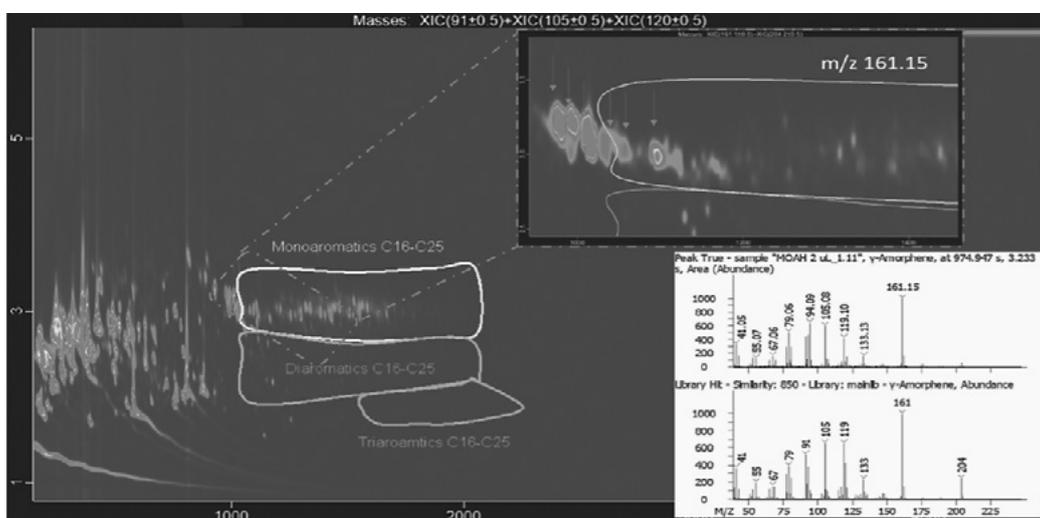


Figura 5. Sesquiterpenos positivamente identificados debido a su presencia natural en el producto.

Conclusiones

Se ha demostrado que la tecnología GCxGC-TOFMS de LECO es una opción perfecta para la confirmación de la presencia de contaminantes MOSH/MOAH en muestras de alimentos. De hecho, tal y como recomienda la opinión de la EFSA, se ha llevado a cabo un análisis confirmatorio por GCxGC-TOFMS en el extracto de comino. Éste determinó la presencia de una contaminación MOSH/MOAH, pero también la presencia de sustancias biogénicas naturales no pertenecientes a estas fracciones y que posiblemente distorsionan los resultados cuantitativos obtenidos con los métodos convencionales.

Las actividades en curso, basadas en el enfoque anteriormente descrito, incluyen el estudio de una

amplia gama de matrices complejas, el uso de detección FID para el análisis cuantitativo, así como el desarrollo y la finalización de una herramienta de software adecuada para realizar un análisis óptimo y completo de MOSH /MOAH.

Referencias

1. Scientific Opinion on Mineral Oil Hydrocarbons in Food (EFSA). EFSA Journal 2012;10(6):2704. 10.2903/j.efsa.2012.2704
2. EFSA Technical Report. Rapid risk assessment on the possible risk for public health due to the contamination of infant formula and follow on formula by mineral oil aromatic hydrocarbons (MOAH). <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2019.EN-1741>

NOVEDADES TÉCNICAS



Agilent

Trusted Answers

SISTEMA LC AGILENT 1290 INFINITY II BIO. ELEVADA EXIGENCIA, ALTO RENDIMIENTO E INMENSA FIABILIDAD

El sistema LC 1290 Infinity II Bio ofrece todas las ventajas del sistema LC 1290 Infinity II de 1.300 bares, además de una ruta de flujo biocompatible para los análisis de ultra alta eficacia de atributos de calidad críticos y una transferencia de método directa en la industria biofarmacéutica:

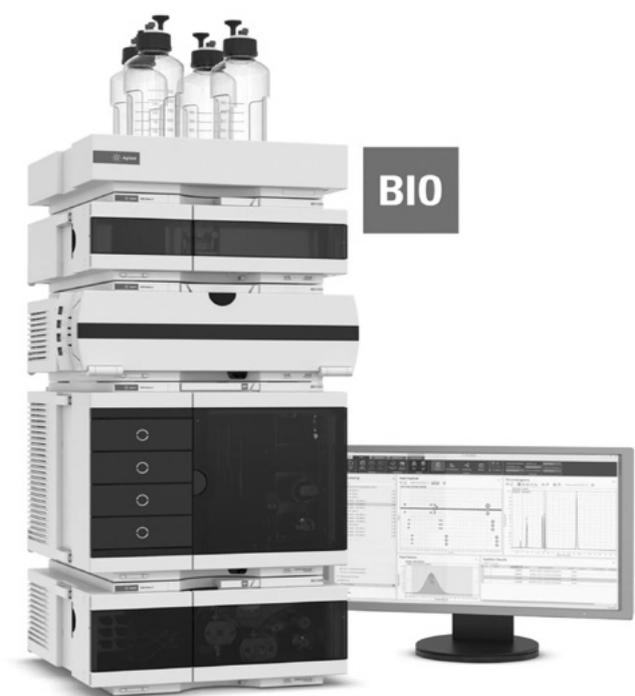
- Automatización de válvulas biocompatibles Aproveche la alta productividad, el sistema de cuidado avanzado y la reducción de la interacción manual.
- Numerosas opciones de detección Mantenga la integridad de la muestra con los sistemas de

detección óptica de alta sensibilidad (DAD, VWD, FLD y ESLD) así como detección por masas compatible con toda la familia de espectrómetros de masas de Agilent.

- Manejo de columnas versátil. Aproveche la gran adaptabilidad y la estabilidad de temperatura para llevar a cabo los análisis más complejos.
- Versatilidad de muestreo integrada. Consiga un alto nivel de adaptabilidad y flexibilidad en cuanto a volúmenes de inyección y contenedores de muestra.
- Bombeo de disolvente de gran fiabilidad Lleve a cabo mezclas biocompatibles de gradiente a alta presión para obtener una eficiencia cromatográfica extremadamente elevada.

Para obtener más información, visite www.agilent.com/chem/1290-bio-lc.DE.2588310185

El sistema 1290 Infinity II Bio LC (binario o cuaternario) es un UHPLC que consta de material biocompatible para su uso en biofarmacia (por ejemplo, atributos de calidad críticos) y otras aplicaciones que utilizan condiciones de pH extremo y alto contenido de sal. La biocompatibilidad asegura la integridad de sus biomoléculas y la robustez del sistema.



Basado en la probada tecnología LC 1290 Infinity II, el sistema ofrece una fácil transferencia de métodos, también desde la instrumentación heredada, y ahorra tiempo y esfuerzo dedicado a la capacitación. Proporciona la resolución más alta y la dispersión más baja a presiones de hasta 1300 bar. Hay disponible una variedad de celdas de flujo biológico para la detección sensible de rayos ultravioleta.

Características

- El disolvente biocompatible y la trayectoria del flujo de la muestra garantizan la integridad de las biomoléculas y minimizan la interacción superficial no deseada.
- Flexibilidad para todas las aplicaciones, a través de una amplia potencia, temperatura y rango de inyección escalable automáticamente, y opciones de gradiente (mezcla de solventes binarios y cuaternarios).
- El volumen de retardo más bajo en todo el sistema permite la resolución cromatográfica más alta y la dispersión más baja.
- La alta tolerancia a la sal y el amplio rango de pH ofrecen mayor flexibilidad y robustez para aumentar el tiempo de actividad del instrumento.
- Basado en la probada tecnología 1290 Infinity II para una fácil transferencia de métodos, también de instrumentación heredada, y menos esfuerzo de capacitación.
- Los cajones de microplacas poco profundos admiten una carga máxima de 6.144 muestras para una capacidad de muestra inigualable.
- El rango de potencia combina una presión ultra alta de hasta 1.300 bar y altos índices de flujo analítico de hasta 5 ml/min para un rendimiento máximo de UHPLC.
- Los diferentes accesorios biológicos incluyen una gama de intercambiadores de calor biológicos, kits de capilares biológicos, bucles biológicos y cabezales analíticos para cubrir todas las diferentes necesidades de aplicación para la versatilidad y eficiencia de los instrumentos.
- Una amplia gama de capacidades de detección óptica sensible con varias celdas de flujo para detección de VWD, DAD, FLD, Bio MDS o LC/MS para una mayor adaptabilidad.

Especificaciones	
Biocompatible	Sí
Capacidad de columnas	8
Lector de identificación de columnas	Opcional
Profundidad	468 mm
Rango de flujo	Hasta 5 mL/min
Rango de inyección	<ul style="list-style-type: none"> • 0.1-100 µL • 0.1 hasta 1500 µL con Multi Draw Kit
Tecnología de Emulación de Sistemas Inteligente (ISET)	Opcional
Voltaje	100-240 VAC
Número máximo de solventes	<ul style="list-style-type: none"> • 2 (Bomba de Alta Velocidad): 2 de un máximo de 26 solventes • Válvula interna de selección de 4 solventes incluida • Válvula externa 2 x 12 solventes opcional, totalmente integrada en el control de la bomba • 4 (Bomba Flexible): Válvula interna de formación de gradientes 4 solventes interna • Válvula externa 2 x 12 solventes opcional, totalmente integrada en el control de la bomba
Número máximo de zonas de temperatura	2
Tipo de bomba	Binaria (Bomba de Alta Velocidad), Cuaternaria (Bomba Flexible)
Características especiales	<ul style="list-style-type: none"> • Blend Assist • Software Buffer Advisor
Rango de presión de Sistema operativa	Hasta 1300 bar
Tipo de sistema	Gradiente Bio-analítico
Anchura	435 mm

NOVEDADES TÉCNICAS

ThermoFisher SCIENTIFIC

Simplifique los retos analíticos más complejos y logre una calidad de los datos excelente con el espectrómetro de masas para GC Thermo Scientific™ Orbitrap™ Exploris™ 240. Al proporcionar información cualitativa y cuantitativa concluyente, este sistema de GC-MS de masas precisas de alta resolución se adapta a los cambios de los requisitos de los laboratorios de investigación para la identificación y cuantificación de compuestos. Gracias al perfilado de la detección, la metabolómica y la cuantificación aplicada, los científicos obtienen un acceso incomparable a los datos y los resultados con abundante información.

Experimente un rendimiento innovador en el análisis de GC-MS de alta resolución para obtener la información más detallada a partir de una muestra.

El espectrómetro de masas para GC Orbitrap™ Exploris™ 240:

- Le permite obtener la respuesta correcta a la primera.

- Ofrece la flexibilidad necesaria para adaptarse a las necesidades cambiantes gracias a su precisión de masa, su rango dinámico y su robustez superiores.
- La configuración de instrumentos inteligente y la interfaz de usuario intuitiva proporcionan un acceso total a cualquier usuario, independientemente de su nivel de especialización.
- Ofrece una resolución sin precedentes de 240.000 (a m/z 200) para brindar una precisión de masa inferior a 1 ppm y una reducción de la sensibilidad en concentraciones de hasta partes por billón (ppt).
- Mantiene la sensibilidad del sistema en todos los niveles de resolución de masas, por lo que la relación entre sensibilidad y resolución no se ve comprometida.
- Proporciona un rendimiento repetible inyección tras inyección para facilitar los descubrimientos en estudios con un gran número de muestras.

Visite: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/BRE725537#/BRE725537>





PATRONES ORGÁNICOS SCHARLAU

El uso de patrones es imprescindible en cualquier técnica analítica. El uso de patrones nos permite calibrar el equipo y el procedimiento, así como comprobar que funciona correctamente.

Scharlab ofrece una amplia gama de estándares analíticos orgánicos para análisis de residuos medioambientales, pesticidas, metabolitos, deuterados y compuestos marcados con ^{13}C entre otros.

El catálogo de patrones orgánicos Scharlab se divide en las siguientes categorías:

- Patrones puros.
- Patrones monoelementales en disolución.
- Patrones según Métodos EPA.
- Patrones según Métodos ASTM.

- Patrones según Métodos ISO.
- Patrones según Métodos EN.
- Patrones Contaminantes.

Todos los patrones orgánicos Scharlab son adecuados para GC/GC-MS, HPLC/HPLC-MS y están disponibles en diferentes envases y concentraciones.

Cada patrón es rigurosamente comprobado y analizado como un producto terminado y se suministran acompañados del Certificado de Análisis. La fabricación y el análisis de control de calidad es realizado en un laboratorio acreditado según las normativas ISO 17025 y ISO 17034.

Existe una gran variedad de analitos, muestras y matrices, por lo que a veces es difícil encontrar un patrón que se ajuste a los requisitos de cada cliente. Por esta razón, Scharlab ofrece la posibilidad de fabricar patrones orgánicos a medida.

Los patrones orgánicos fabricados a medida son fabricados bajo las mismas condiciones que los productos incluidos en nuestro catálogo y de acuerdo con las normativas ISO 17025 y ISO 17034.

<https://www.scharlab.com/publicaciones-publicacion.php?p=1218>



NOVEDADES TÉCNICAS



SCION Instruments NL BV ("Scion Instruments"), del grupo Techcomp Instruments Limited (TIL), se complace en anunciar que el día 15 de abril de 2021 llegó a un acuerdo para adquirir las líneas de producto Teledyne Tekmar Headspace HT3 y Versa de Teledyne Instruments, INC."

Ambas partes han comenzado a trabajar en la transferencia de la producción de los sistemas Teledyne Headspace y al final de este proceso, SCION Instruments podrá proporcionar a sus clientes sistemas Headspace de la marca SCION líderes en el mercado.



Como parte del acuerdo, SCION Instruments ha asumido la responsabilidad inmediata del suministro global de repuestos y soporte técnico y comercial para los dos productos Headspace.

Esta adquisición es un hito clave, ya que SCION Instruments realiza su estrategia para proporcionar productos de clase mundial, mejorados por sistemas de introducción de muestras totalmente automatizados que permiten a SCION Instruments seguir el

crecimiento y la estrategia para brindar a nuestros clientes una gama completa de instrumentaciones y aplicaciones.

Esta adquisición aumentará la presencia de SCION Instruments y Techcomp en el mercado de la cromatografía analítica y permitirá a SCION Instruments responder a la creciente necesidad de aplicaciones y análisis cada vez más complejos utilizando la última generación de sistemas de introducción de muestras.

Los clientes de Teledyne Tekmar HT3 y Versa Headspace se beneficiarán al tener acceso a nuestro servicio global y equipos de soporte, al tiempo que brindan a los clientes nuevos y existentes productos de vanguardia en espacio de cabeza.

Teledyne Tekmar Headspace tiene una sólida reputación en el mercado y esta adquisición nos permitirá ofrecer a nuestros clientes muestreadores de headspace robustos y fiables. También contamos con una creciente red global de ventas y servicio que puede proporcionar a nuestros clientes el soporte y las aplicaciones necesarias para cumplir con sus exigentes requisitos".

Más información en:

<https://scioninstruments.com/fr/news/scion-instruments-acquires-teledyne-tekmar-headspace-product-lines/>

<https://scioninstruments.com/?p=40535>

<https://scioninstruments.com/?p=40515>

Ver Application note:

https://scioninstruments.com/wp-content/uploads/2020/12/AN030_TOGA-Analysis-with-Headspace-Sampler_2019.1.pdf





ANÁLISIS DE MCPD Y GLICIDOL EN ALIMENTOS MEDIANTE LA ESTACIÓN DE TRABAJO CHRONET MCPD

Desde Sugelabor S.A. como distribuidor exclusivo en España de la empresa Axel Semrau, nos complace presentarles la **Estación de Trabajo para la determinación totalmente automática de MCPD y glicidol** en alimentos desarrollada por nuestro representado.

El 3-monocloro-1,2-propanodiol (3-MCPD), el 2-monocloro-1,3-propanodiol (2-MCPD) y el glicidol se encuentran entre los contaminantes relacionados con los procesos de producción en los alimentos que contienen aceite y grasas. Se forman durante el proceso de refinado necesario en la producción de aceites. Se sospecha que el 3-MCPD daña el ADN y es cancerígeno. La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) especifica $2 \mu\text{g} / \text{kg}$ de peso corporal como el nivel de ingesta diaria tolerable para 3-MCPD. También se sospecha de efectos nocivos del 2-MCPD y del glicidol ya han sido demostrados.

El análisis de estos contaminantes es cada vez más importante debido a su carácter carcinogénico y se han desarrollado diferentes métodos para su determinación. La **CHRONECT Workstation MCPD** ofrece una solución totalmente automatizada para los cuatro métodos comunes.

Ventajas de la automatización con CHRONECT Workstation MCPD

- Automatización de los cuatro métodos comunes: ISO 18363-1, ISO 18363-2, ISO 18363-3 y Draft ISO 18363-4.

- Sistema actualizable a cambios en los estándares y a todos los métodos.
- Mejora del tiempo de respuesta.
- Alta precisión y reproducibilidad.
- Sin arrastre debido a la tecnología de cambio de herramienta robótica.
- Valores en blanco bajos debido al flujo de trabajo optimizado.
- Concepto independiente del fabricante.
- Equipo de soporte especialmente capacitado.
- Bajo mantenimiento debido a tecnología limpia con ISO 18363-1.

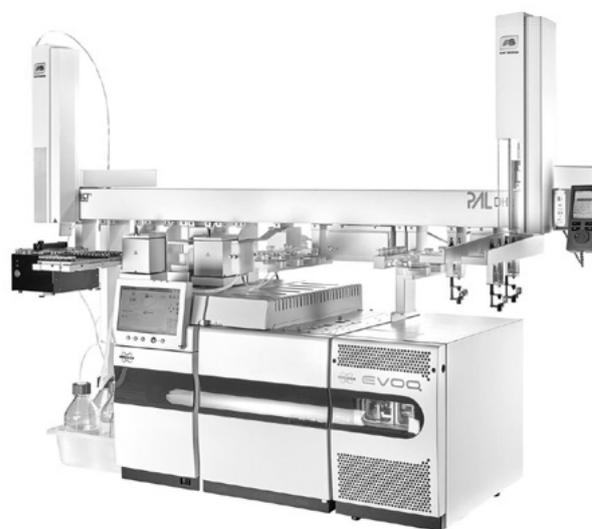


Figura 1. Estación de trabajo CHRONECT MCPD con Bruker EVOQ GC-TQ.

NOVEDADES TÉCNICAS

Aplicación DGF Fast & Clean - ISO 18363-1

Axel Semrau recomienda este método, también conocido como DGF C-VI 18 (10) o AOCS Cd 29c-13, como el más potente. Por tanto, es la base de la primera automatización. Aquí, se ha desarrollado una versión optimizada en términos de rendimiento de muestras y robustez para operación automatizada: DGF Fast & Clean.

La preparación de muestras está completamente automatizada en el inyector automático robótico CHRONECT. Al mismo tiempo, se elimina un paso de EVAPORACIÓN, que se ha demostrado que no mejora la precisión de la medición.

Un paso más fue integrado con la Clean-Technology de desarrollo propio y, por lo tanto, se creó el método "DGF Fast & Clean". Es posible una aplicación tanto para 3-MCPD como para 2-MCPD, así como para la determinación del contenido de glicidol. En este proceso, los analitos unidos a los ácidos grasos se transforman primero a su forma libre respectiva. La liberación de los ésteres de ácidos grasos se produce por transesterificación.

Según el método DGF, se requieren dos enfoques en la preparación de la muestra para la determinación del contenido de glicidol. DGF Fast & Clean permite llegar a una conclusión en poco tiempo. El primer resultado está disponible tras solo 48 minutos para la muestra completa. El software CHRONOS y el automuestreador CHRONECT Robotic permiten un procesamiento anidado en el tiempo de análisis de las muestras. Por lo tanto, los siguientes resultados están disponibles más rápidamente. Por tanto, Axel Semrau recomienda este método como el método más potente para el análisis de rutina de 3-MCPD, 2-MCPD y glicidol.

Ventajas de DGF Fast & Clean:

- Excelente robustez del sistema.
- Protección del GC-MS.
- Ampliación de los intervalos de mantenimiento.

- Excelente para análisis de rutina, inspección de mercancías entrantes o análisis en línea.

Aplicación 3 en 1 - ISO 18363-2

Normalmente, el análisis de 2-MCPD, 3-MCPD y glicidol se realiza a partir de muestras de grasa o aceite. Si se trata de un alimento compuesto, el primer paso es aislar la grasa de las muestras, lo que se puede realizar mediante extracción acelerada por solvente. Para liberar los analitos, la grasa debe transesterificarse. Después de la conversión a la forma requerida para la medición (derivatización), se realiza el análisis por cromatografía de gases - espectrometría de masas.

Este método, también denominado AOCS Cd 29b-13, se basa en una liberación alcalina lenta de MCPD y glicidol de los derivados de éster. Este procedimiento dura 16 horas a -22°C , deteniendo la ruptura con una solución ácida de bromuro de sodio y formando 3-MCPD como en otros métodos. Por GC-MS, el 2-MCPD y el 3-MCPD se cuantifican juntos en un paso después de la derivatización con PBA.

La estación de trabajo CHRONECT MCPD automatizada puede equiparse con una unidad de evaporación adicional, utilizada recientemente para otros métodos como AOCS Cd29a-13 y AOCS Cd29c-13, para permitir mediciones incluso en un sistema de espectrometría de masas de cuadrupolo único con LOQs comparables.

Por lo tanto, el módulo 3 en 1 es una excelente ventaja para su laboratorio en un entorno rutinario con datos confiables. El método presentado tiene la ventaja de que se puede analizar una muestra para 2-MCPD, 3-MCPD y glicidol en una sola ejecución.

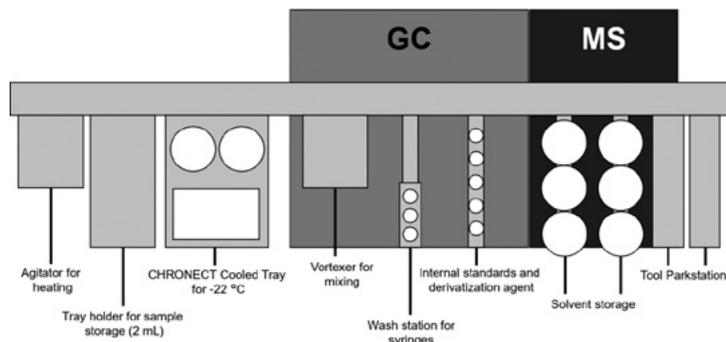


Figura 2. Configuración esquemática CHRONECT Robotic para el método MCPD 18363-2.

Aplicación Unilever - ISO 18363-3

Ermacora y Hrcirik de Unilever publicaron originalmente el método AOCS Cd29a-13 en 2013. De ahí el nombre coloquial "método Unilever".

En este método, los ésteres de glicidilo se convierten inicialmente en éster 3-monobromopropano-1,2-diol (3-MBPD-E) en presencia de bromuro. Posteriormente, los tres contaminantes unidos a éster se escinden de los ácidos grasos en condiciones ácidas y temperatura elevada (40 °C). Los ácidos grasos libres se extraen en un paso posterior y el glicidol ahora libre, 2- y 3-MCPD se derivatizan con ácido fenilborónico. Los derivados se extraen y se inyectan en un sistema GC-MS. Las trazas de iones correspondientes para los tres derivados proporcionan entonces un cromatograma. Además, cada analito también muestra una señal para la variante deuterada, que se agrega como patrón interno al principio.

El único paso manual en la preparación de la muestra es pesar las muestras de grasa/aceite. La preparación posterior está completamente automatizada, incluida la inyección en un sistema GC-MS. El análisis de 2-MCPD y 3-MCPD en una muestra se puede realizar conjuntamente en una sola ejecución. Se pueden preparar varias muestras simultáneamente. Durante el tiempo de transesterificación, obligatorio de 16 horas, se puede utilizar el inyector automático para otras opciones de preparación de muestra, como diluciones estándar.

Aplicación Zwagerman - Draft ISO 18363-4

En la transesterificación alcalina (temperatura ambiente), el 3-MCPD libre resultante se convierte muy rápidamente en glicidol, lo que conduce a un resultado erróneo.

En algunos métodos, esta conversión de glicidol se compensa de forma diferente. A -25 °C, se controla cinéticamente o se vuelve a calcular mediante la adición de otro haluro (bromuro de sodio) en una segunda preparación. Una alternativa es la adición de un estándar de éster de 3-MCPD marcado con $^{13}\text{C}_3$, que permite que la conversión del 3-MCPD se contabilice directamente en una serie de preparación de muestras. Por tanto, cada muestra requiere solo una ejecución de preparación de muestra.

Este método modificado fue publicado en 2015 por Zwagerman et al. y representa una alternativa elegante y robusta para el control de procesos. Actualmente se encuentra en proceso de estandarización y

también ha sido automatizado con CHRONECT Workstation MCPD.

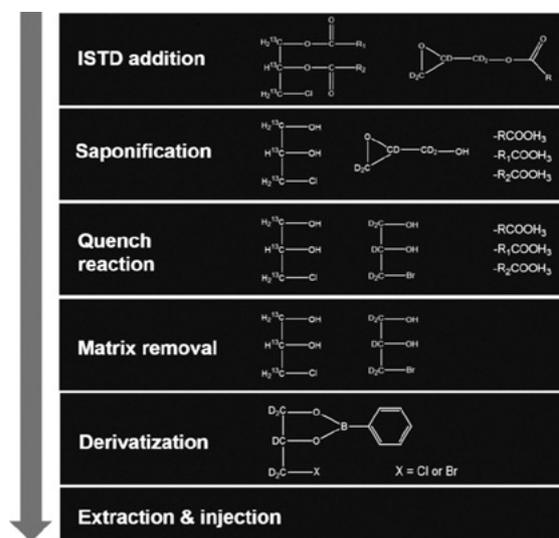


Figura 3. Secuencia esquemática de la reacción.

Puesta en marcha

Las estaciones de trabajo CHRONECT están preinstaladas en Axel Semrau. Dentro del alcance de una extensa prueba de aceptación en fábrica (FAT), no solo se verifica la función técnica correcta, sino también el rendimiento analítico. Esta ejecución de prueba se repite después de la instalación como parte de una prueba de aceptación del sitio (SAT) en el laboratorio del cliente. De esta forma, se verifica la precisión analítica. El sistema está listo para usarse inmediatamente después de la instalación. El concepto FAT/SAT garantiza que los sistemas se integren directamente en el flujo de trabajo del laboratorio y se utilicen de forma productiva lo más rápido posible.

La formación y mantenimiento garantizan la disponibilidad operativa permanente y aseguran que los conocimientos necesarios para el funcionamiento del sistema estén disponibles incluso en caso de cambios de personal.


SUGELABOR, S.A.
www.sugelabor.com

 Axel Semrau®

<https://www.axelsemrau.de/en/>

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

1. Para publicar artículos en *CTA* no es necesario ser socio de la SECyTA.
2. El idioma de la revista y, por tanto de escritura de los artículos, es el castellano, aunque se admiten también artículos en inglés.
3. Los artículos pueden ser de los siguientes tipos:
 - a) Trabajos originales de investigación.
 - b) Revisiones bibliográficas.
 - c) Artículos de divulgación.
 - d) 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

BE **EXTRAORDINARY**

The Zeno revolution is now...

Introducing the SCIEX ZenoTOF 7600 system

Driven by the power of the Zeno trap coupled with EAD fragmentation technology.



This high-resolution accurate mass system encompasses the power of the Zeno trap with electron activated dissociation (EAD) or Collision Induced Dissociation (CID) technologies, allowing you to uncover structural information that was previously inaccessible.

- Reach MS/MS scan rates of up to 133Hz without sacrificing resolution
- Achieve sensitivity gains of up to 5-20x with Zeno trap pulsing
- Overcome duty cycle deficiencies injected to TOF
- Characterize large molecules including post-translation modification (PTMs)
- Understand molecular structures of entire compound classes

Now, you can be extraordinary.

Learn more at [sciex.com/zenorevolution](https://www.sciex.com/zenorevolution)



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]. © 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-07-13384-A

