

# ACTUALIDAD ANALÍTICA

## BOLETÍN

de la Sociedad Española de Química Analítica



Número 14, Junio 2006

## Sociedad Española de Química Analítica (SEQA)

### PRESIDENTA

Carmen Cámara  
(Univ. Complutense)

### SECRETARIA

Yolanda Madrid  
(Univ. Complutense)

### TESORERO

Enrique Barrado  
(Univ. Valladolid)

### VOCALES

Vicente Ferreira  
(Univ. Zaragoza)  
Maite Galcerán  
(Univ. Barcelona)  
Arántzazu Narváez  
(Univ. Alcalá de Henares)  
Darío Prada  
(Univ. La Coruña)

Alfredo Sanz-Medel  
(Univ. Oviedo)  
Manuel Silva  
(Univ. Córdoba)  
Carlos Ubide  
(Univ. País Vasco)  
José Miguel Vadillo  
(Univ. Málaga)

## SUMARIO

Junio 2006, Número 14

- 3 Constitución del Grupo de Docencia de la SEQA  
E. Barrado
- 4 "In memoriam" del Prof. Pinilla  
L. Hernández
- 4 "In memoriam" del Prof. Capitán  
J.L. Vilchez
- 6 X Reunión del Grupo Regional Andaluz de la SEQA (GRASEQA)  
J.M. Vadillo
- 6 XX Reunión Nacional de Espectroscopía - IV Congreso Iberico de Espectroscopía  
J.M. Vadillo
- 7 Nuestros grupos de investigación
- 8 Estudio de la interacción del ADN con el cis-Pt mediante técnicas de espectrometría de masas  
María Montes Bayón

## EDITORIAL

Estimados amigos:

por segunda en esta nueva etapa, ACTUALIDAD ANALÍTICA vuelve a ver la luz intentando hacer llegar a todos los socios de la SEQA información de utilidad. Muy a nuestro pesar, hemos debido incluir en este número la triste noticia de la pérdida de dos de los grandes de la Química Analítica española: Fermín Capitán y José María Pinilla. No hay mejor manera de ser recordado que a través de los ojos de los amigos, y podréis comprobar en las emotivas reseñas que José Luis Vilchez y Lucas Hernández nos realizan, que tanto Fermín como José María han marcado un estilo en la universidad española difícil de imitar, y han dejado una huella indeleble tanto en lo científico como en lo personal.

Siguiendo con la línea empezada en el número de Marzo, hemos vuelto a incluir información sobre un grupo de investigación de la SEQA. Hemos aprovechado la oportunidad del reciente premio que la Real Sociedad Española de Química ha otorgado al Prof. Marcelo Blanco en el área de la Química Analítica para invitarle a contribuir en este número a que conozcamos un poco más su grupo de investigación.

Un saludo muy cordial a todos.

José Miguel Vadillo

## CONSTITUCIÓN DEL GRUPO DE DOCENCIA DE LA SEQA

La Presidenta de la SEQA informó en su carta dirigida a todos los socios que se vio publicada en el anterior número de ACTUALIDAD ANALÍTICA del interés existente en la Junta de Gobierno de realizar un seguimiento y coordinación de la docencia relacionada con la Química Analítica. Con este motivo, se convocó a una reunión en Madrid el día 27 de Marzo de 2006 a escogidos miembros de la comunidad universitaria expertos en aspectos docentes, con el objetivo de constituirse como Grupo de Educación de la SEQA.

Los reunidos, con presencia de la Profesora Carmen Cámara, Presidenta de la SEQA, aceptan el encargo de la Junta Directiva de la Asociación de constituirse como grupo de Educación, acordando el siguiente esquema:

Coordinador:

Prof. Miguel Valcárcel (UCO)

Vocales:

Prof. Darío Prada (UDC)

Prof. José Antonio Pérez (UAM)

Prof. Eladio J. Martín-Mateos (USAL)

Prof. Angel Ríos (UCLM)

Prof. Carlos Ubide (EHU)

Secretario:

Prof. Enrique Barrado (UVA)

Se estima que el grupo debería completarse con algún miembro más.

Analizada la "ficha" del Título de grado, se constata que la situación de la Química Analítica es aceptable, ya que se encuentra al mismo nivel que otras áreas de la Química. Se estudia la propuesta realizada en la última Conferencia de Decanos, para adaptar esta propuesta al libro blanco, y se acuerda dar el máximo apoyo a José Antonio Pérez, que forma parte de la comisión creada al efecto.

Se considera que para el desarrollo de la Química Analítica en el título de Grado, puede ser aceptable el esquema siguiente, convenientemente adaptado al plan definitivo.

-Química General: 2,5 ECTS

Equilibrios iónicos en disolución

-Química Analítica General (5 ECTS) (+2,5)

Concepto.-Proceso Analítico Global.-Proceso de Medida Químico.-Obtención de datos cuantitativos. Expresión de resultados.-Muestreo y Tratamiento de muestras.-Análisis de componentes mayoritarios: Cualitativo y Cuantitativo: Volumétrico y Gravimétrico

-Técnicas de separación no cromatográficas

Análisis Instrumental (5 ECTS+ 2,5)

-Introducción al Análisis Instrumental y los instrumentos.-(Calibrado y Regresión?).-Técnicas Ópticas: Atómicas y Moleculares.-Técnicas electroquímicas.

Técnicas de separación y Quimiometría (5 ECTS +2,5)

-Técnicas de separación cromatográficas e hibridación (con especial énfasis en la Espectrometría de masas). (Introducción a la Quimiometría?)

Además, la comisión consideraría positiva la incorporación de asignaturas experimentales al citado plan.

Los Profesores Eladio Martín, Carlos Ubide y Darío Prada quedan encargados de profundizar más en el mismo, desarrollando un "proyecto docente" de las mismas. La propuesta se publicará en la web para que pueda recibir aportaciones de todos los socios. Del mismo modo se encarga al Prof. Ríos que se complete la "ficha sobre casos resueltos" que ya estaba en estudio, y se divulgue para que todos los socios puedan hacer las aportaciones que estimen oportunas.

Para el cuarto curso se considera que pueden incorporarse asignaturas experimentales (si no se incluyen en los tres primeros). Se considerará asimismo apropiados los 15 ECTS para el proyecto fin de carrera, así como las prácticas en empresa, que en el mejor de los casos deberían dar origen al mencionado proyecto.

Con el fin de poder proponer, si hubiere lugar, algún tipo de "mención" para el cuarto curso se acuerda que el Secretario recabe información a todos los Directores de Departamento sobre las asignaturas optativas que se están impartiendo actualmente, así como el número de alumnos que las cursan y la evolución de dicho número en los últimos años

En cuanto al posgrado, una vez estudiada la problemática, desarrollo antes del grado, futuras acreditaciones, etc. se acuerda que se extienda la solicitud de información sobre los posgrados existentes, cursos monográficos de doctorado, número de alumnos y evolución.

Se acuerda preparar en el mes de Junio o Julio un taller sobre nuevas metodologías docentes, adaptado a las asignaturas de Química Analítica en el nuevo Grado. Se encarga este tema a los Prof. Valcárcel y Ríos.

Este taller podría celebrarse, en principio, en Madrid o alrededores, aunque también se estudiará la posibilidad de realizarlo en más de una sede.

## “IN MEMORIAM” DEL PROFESOR PINILLA

El pasado 25 de Abril, nos abandonó el Profesor José María Pinilla después de una corta y cruel enfermedad. Para mí es muy difícil expresar en unas pocas palabras tantos años de estrecha colaboración y sobre todo de amistad. Sin embargo voy a intentar resumir en pocos renglones la personalidad del profesor Pinilla, para que aquellos que no lo conocieron tengan una idea de la pérdida de un gran profesional de la Química Analítica.

Creo que la mejor definición profesional del Prof. Pinilla está en el título: “PROFESOR”, era en su labor docente donde desgranaba toda su personalidad: claridad de ideas, ingenio, agudeza, entusiasmo, siempre dispuesto a transmitir sus conocimientos sin importarle el tiempo que pudiera dedicarle a ello.

Pero si grande era como profesor, querido por todos sus alumnos, no lo era menos como persona, siempre de buen humor, (hasta el último día tuvo en su boca el chascarrillo apropiado a las situaciones por difíciles que estas fueran), amigo de todo el mundo, dispuesto siempre a participar en cualquier actividad fuera de tipo Universitario o de otro tipo (gran jugador de Dominó de lo que se jactaba habitualmente con otros colegas aficionados a este juego)

El profesor Pinilla tenía una bien definida Vocación Universitaria, por ello participaba activamente en todos los aspectos de la vida Universitaria, tanto en tareas de representación, como en comisiones de trabajo donde dejaba su impronta, consiguiendo

siempre que reinara la cordura y el buen hacer; amante del consenso, nunca de las luchas internas que muchas veces se manifiestan en el quehacer universitario.

Era un enamorado de la Química Analítica y su proyección en la formación de los Químicos; partidario siempre de transmitir los fundamentos científicos de nuestra disciplina y defensor de una pedagogía basada en el razonamiento científico.

Entre sus alumnos es famosa la frase “Usted que opina Sta o Sr.... Esto es así o así”, en mitad de una explicación, manteniendo con ello siempre la atención de los que le escuchaban. Disponía de una brillante y clara dialéctica que empleaba habitualmente como recurso didáctico.

Desde la realización de su tesis Doctoral el profesor Pinilla cultivó la electroquímica como área de su investigación. Era en el electroanálisis donde el disfrutaba, el estudio de los mecanismos electroquímicos le apasionaban, sobre todo si los podía relacionar con un equilibrio de formación de complejos.

Su trayectoria profesional y su currícula no tiene valor, por grande que era, comparado con su trayectoria como hombre de bien que derramó a lo largo de su vida.

El recuerdo de “el Pini”, como cariñosamente lo llamábamos todos los que con él hemos trabajado y convivido, estará siempre presente y en las diferentes situaciones que surjan nos acordaremos de su sentencia ingeniosa. Descansa en Paz “Pini”.

## “IN MEMORIAM” DEL PROFESOR CAPITÁN

El día 6 del pasado mes de abril falleció en Granada Fermín Capitán García. Aunque siempre es difícil glosar en unas líneas la trayectoria vital de una persona, en este caso concurren algunas circunstancias singulares. Profesor universitario vocacional, solía decir que había tenido la gran suerte de poder trabajar en lo que le gustaba y que se lo pagaran por añadidura. Perteneció a una generación de universitarios que tuvieron que hacer frente a una situación extraordinariamente dura en la universidad granadina de la posguerra, en la que la docencia, sobre todo en ciencias experimentales como es la Química, se encontraba en una situación de carencia absoluta de medios y necesitada de una renovación de contenidos. Ese grupo de jóvenes universitarios fueron los que con su trabajo, su constancia, su esfuerzo y total dedicación vertebraron la docencia, impulsaron la investigación y conformaron la actual Universidad de Granada.

Aragonés de nacimiento (Zaragoza, 1920), el profesor Capitán García obtuvo en 1941 el título de

Maestro Nacional por la Escuela Normal de Barcelona. Posteriormente se licenciaba en Ciencias Químicas en la Universidad de Barcelona en 1943. En dicha Universidad realizó la Tesis Doctoral con el Dr. Buscarons y fue Profesor Auxiliar. Posteriormente, en 1962, se licenció en Farmacia por la Universidad de Madrid. Tomó posesión de la cátedra de Química Analítica de la Universidad de Granada en 1951, permaneciendo al frente de la misma hasta su jubilación en 1986. En 1987 fue nombrado Catedrático Emérito, cargo que desempeñó hasta 1998. En 1973 ganó la Cátedra de Química Analítica de la Universidad de Barcelona pero un providencial pinchazo de su Renault en Taramay (Almuñécar) consiguió que la belleza de esta tierra despejasen sus dudas y decidiera permanecer en Granada.

En su dilatada vida profesional el profesor Capitán García desempeñó diferentes cargos tanto en la Universidad de Granada como en el Instituto de Edafología del CSIC. Es autor de diversas obras de su especialidad y en su currículum cuenta con más

de 100 memorias de Licenciatura y Tesis Doctorales y 300 artículos científicos y comunicaciones a congresos

El Profesor.- Ejerció su labor docente de forma ininterrumpida durante 53 años de vida académica. La falta de medios en la Universidad de la posguerra le obligó a impartir, durante largos años, materias muy alejadas a su especialidad, además de las propias, y lo realizó con tal maestría que sus alumnos diseminados por toda España no lo han olvidado. Son muchos los profesionales que no dudan en calificarlo como el mejor pedagogo que conocieron.

A su gran capacidad de trabajo y conocimiento de su disciplina, Química Analítica, unía unas cualidades docentes poco comunes. Conseguía lo que de entrada parecía imposible, entusiasmar a un auditorio estudiantil con una retahíla de reacciones químicas a las que lograba dar una coherencia y una lógica evidente para todos sus oyentes. Siempre trascendió la materia específica que tenía que tratar hacia la metodología y lógica subyacentes. Enseñaba de forma clarividente una forma de enfocar los problemas relacionados con el análisis químico de la materia y ello con un lenguaje atractivo y poderoso.

Escenificaba magistralmente sus clases en las que practicaba el método socrático y realizaba todo un alarde de recursos pedagógicos personales. Su seguridad cordial, su señorío cordial, su afabilidad y su universal saber cautivaba al alumno desde el primer día de clase y le hacía cómplice en el aprendizaje. Tenía la virtud de hacer amena y atractiva cualquier materia por árida que resultase haciendo realidad el axioma manjoniano de deleitar enseñando.

A esta capacidad docente se unía otro rasgo que no por universitario es universal como es su respeto hacia el alumno, como caso particular de su respeto hacia el otro. Era habitual que recibiera a los alumnos que fuesen a verle en cualquier momento y si estaba en su mano le resolviera el problema. Sin ser profesor fácil, siempre prefirió equivocarse a favor del alumno que en su contra y lo que hoy es obligatorio, la tutoría para el alumno, lo hizo durante toda su vida teniendo que ir los alumnos obligatoriamente a ver cada uno de sus exámenes tras la corrección de los mismos para mostrarles en qué se habían equivocado o rectificar si el error era suyo.

El Maestro.- Fue continuador de la escuela de Química Analítica iniciada por su maestro el Dr. Buscarons al que siempre profesó admiración y respeto. Formó a sus discípulos en el trabajo, su lema fue el rigor y la constancia para alcanzar la meta. Como preparador de oposiciones era

riguroso y generoso, no escatimando ningún esfuerzo en la preparación de los temarios y en los debates científicos que seguían a la exposición de los temas. Cuántos domingos sin calefacción en el aula utilizaba su bufanda para resguardarse del frío mientras tomaba el tema a algún opositor. De esta manera surgió de su magisterio un nutrido grupo de profesores (12 catedráticos de Universidad y 30 profesores titulares de Universidad) que en la actualidad hacen y enseñan Química y han dejado su testimonio y su estilo en numerosas Universidades de nuestro país y en el Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Centró su vida en la Universidad y de ella hizo su principal afición que compartió con su familia. Luisa, su mujer, siempre fue su incondicional apoyo. Su ingente labor universitaria contó con algunos reconocimientos como la Encomienda con Placa de la Orden Alfonso X el Sabio, la Medalla de Oro de la Universidad de Granada y la Medalla de Oro de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada.

D. Fermín siempre supo, con un estilo excepcional, mantener el criterio sin necesidad de llegar a la confrontación, establecer sus pautas de conducta invitando al diálogo, oír y dejarse oír, y favorecer un entorno afectivo en un ambiente fraternal y de comprensión.

Hemos hablado del cariño con que sus alumnos le recordaban y ello se materializaba sistemáticamente en la celebración de las bodas de plata de las múltiples promociones que habían salido de esta 'su casa'. Siempre era invitado como 'Padrino' o como 'Maestro' a las mismas. D. Fermín, que guardaba las fichas de todas sus promociones de alumnos, ponía la nota afectiva y simpática 'pasando lista' y comentando sobre la 'fotografía del pasado' los cambios producidos.

Se nos fue D. Fermín y con él, un estilo, una forma de ser, un talante, una profesionalidad, una entrega, un magisterio que serán difíciles de llenar en el vacío que deja. Ha sido siempre fiel modelo y ejemplo en su conducta profesional y humana, así como gran maestro, digno de ser imitado. A quienes lo trataron como amigo y compartieron con él las tareas universitarias les será imposible olvidarlo.

Si bien es cierto que los hombres, incluidos los grandes, pasan, su obra permanece. Es en sus alumnos, sus discípulos y en definitiva en nuestra Sociedad y nuestra Universidad donde ésta se perpetúa y se integra formando parte de su patrimonio. Este patrimonio reunido a lo largo de sus 500 años de existencia y del que el Profesor Fermín Capitán García ya es una parte del mismo y al que siempre permanecerá unido.

## X REUNIÓN DEL GRUPO ANDALUZ DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE QUÍMICA ANALÍTICA (GRASEQA)

La X reunión del Grupo Regional Andaluz de la Sociedad Española de Química Analítica (GRASEQA) tuvo lugar en Cádiz del 8 al 9 Junio de 2006. Como viene siendo tradicional desde su primera edición, ha significado una oportunidad de reunir a los Químicos Analíticos andaluces en el marco de una reunión que ha conjugado perfectamente unas interesantes jornadas de intercambio científico con un atractivo programa social.

Esta X edición se ha programado en torno a una serie de conferencias y una mesa redonda bajo el subtítulo de "El Análisis y la Industria Alimentaria". Como conferenciantes invitados se ha contado con la presencia del Dr. Sánchez Sáez, Subdirector del Centro Nacional de Alimentación de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria (CNA-AESA) que expuso la charla titulada "Seguridad alimentaria y controles analíticos"; el Prof. Cacho Palomar, Catedrático de Química Analítica de la

Universidad de Zaragoza, que habló sobre la correlación entre el análisis sensorial e instrumental; y el Prof. Cela Torrijos, Catedrático de Química Analítica de la Universidad de Santiago de Compostela que trató en su conferencia sobre la utilidad de la Quimiometría en el análisis y control de procesos alimentarios.

La reunión tuvo presente en todo momento el reciente y triste fallecimiento de D. Fermín Capitán, y el emotivo homenaje que el Prof. Pérez Bustamante recibió con motivo de su reciente jubilación.

La reunión se ha complementado con la exposición por parte de diversas casas comerciales de sus nuevos avances en instrumentación y metodología de análisis, y de nuevos libros y publicaciones relacionados con las distintas facetas de la Química Analítica.

## XX REUNIÓN NACIONAL DE ESPECTROSCOPIA - IV CONGRESO IBÉRICO DE ESPECTROSCOPIA (XX RNE - IV CIE)

El próximo mes de Septiembre (10-14) se celebra en Ciudad Real la XX Reunión Nacional de Espectroscopia y el IV Congreso Ibérico de Espectroscopia. Se trata de un encuentro científico bianual que se inició en Barcelona en 1968. El objetivo es fomentar el intercambio de información entre grupos de investigación que proceden de la Universidad, CSIC y otros centros de I+D de empresas, así como conocer los últimos avances en la instrumentación en las distintas ramas de la Espectroscopia.

La Sociedad de Espectroscopia Aplicada (SEA) es la encargada de la organización de esta edición con la ayuda de la Universidad de Castilla-La Mancha (UCLM). Como sociedades colaboradoras se encuentran la Sociedad Española de Química Analítica (SEQA), Sociedade Portuguesa de

Bioquímica (SPB) y el Comité de Espectroscopia de la Sociedad Española de Óptica (SEDOptica). LA SEQA será la encargada de recoger el testig de la SEA dentro de dos años y organizar la próxima edición.

La XX RNE - IV CIE presentará un formato atractivo, que incluirá:

- Conferencias generales
- Conferencias específicas
- Contribuciones orales
- Sesiones de paneles
- Jornadas técnicas sobre instrumentación
- Cursos cortos

Toda la información se encuentra disponible en la página web del congreso ([www.xxrne.es](http://www.xxrne.es))



## NUESTROS GRUPOS DE INVESTIGACIÓN



**Nombre del grupo de investigación**  
Grupo de Quimiometría Aplicada

**Coordinador**  
Marcelo Blanco Romia

**Dirección**  
Departamento de Química, Unidad de Química  
Analítica  
Facultad de Ciencias, Edificio Cn  
08193-Bellaterra (Barcelona)  
Teléfono: +34 935811367  
Fax: +34 935812379

### OBJETIVO GENERAL DE LA ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN

El Grupo de Quimiometría Aplicada está trabajando, desde finales de los 80, en el desarrollo y aplicación de procedimientos quimiométricos de análisis multivariable al análisis químico a partir de datos espectroscópicos. El objetivo general de la investigación realizada ha sido el desarrollo de métodos analíticos rápidos, sin tratamiento de la muestra, y adecuados para su implementación en el control de calidad en diversos campos industriales (farmacéutico, químico, textil, petroquímico, etc.). La orientación de la investigación ha ido variando a lo largo del tiempo para dar una respuesta adecuada a la evolución de las demandas de la industria en el análisis de control, que ha pasado del clásico control del producto final (comprobación del cumplimiento de especificaciones) a un control global del proceso de fabricación; la calidad ha dejado de ser un atributo del producto para serlo del sistema.

Para obtener la señal multivariable característica del compuesto o proceso, se han utilizado técnicas instrumentales de espectroscopia molecular: espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-vis), espectroscopias de infrarrojo medio (IR) e infrarrojo cercano (NIR), fluorescencia y dicroísmo circular. Otra técnica analítica utilizada ha sido la electroforesis capilar, en una línea de trabajo equivalente a las espectroscópicas: desarrollo de métodos más rápidos y eficaces que los de cromatografía líquida (CL).

Los estudios espectroscópicos no sólo se han aplicado a sistemas discontinuos sino también a sistemas dinámicos, lo que ha conducido al desarrollo de métodos quimiométricos de calibración multivariable aplicados al análisis cinético diferencial y enzimático y a la evolución temporal de los diferentes compuestos del proceso.

Un objetivo importante del grupo de investigación es desarrollar metodologías basadas en NIR de aplicación en diversos campos industriales, con el

objeto de mostrar la potencialidad de la técnica y a la vez demostrar que es posible aplicar metodologías alternativas para la resolución de cuestiones de interés, que faciliten la obtención de información relevante del proceso productivo y que, en consecuencia, conduzcan a una mejora de la productividad.

En etapas más recientes, el grupo ha empezado a trabajar en el control analítico de procesos, buscando métodos rápidos que puedan ser aplicados on-line e in-line a un proceso industrial para determinar directamente los parámetros de interés, ya sea composición química o propiedades físicas. Para ello se han aplicado metodologías diferentes para el registro de la información espectral y también para el tratamiento de dicha información.

Estudios concretos realizados en los diversos campos se citan seguidamente:

- Farmacia: Es este el campo en el que nuestro grupo de investigación tiene más experiencia y realizado mayor número de aportaciones, y en el que hemos contribuido a poner de manifiesto la potencialidad del NIR en la obtención de resultados analíticos rápidos y de calidad comparable a la de otros métodos, en una actividad que está estrictamente regulada por organismos nacionales, europeos e internacionales.

Nuestro grupo ha desarrollado una nueva metodología para la preparación de bibliotecas de espectros NIR para la identificación de materias primas adecuada a su utilización en la industria farmacéutica. La aplicación de adecuados algoritmos de calibración multivariable ha permitido el desarrollo y la validación de métodos rápidos, exactos y precisos, para la determinación de uno o simultánea de varios principios activos en preparados farmacéuticos intermedios del proceso y acabados. Muchos de los métodos desarrollados se están utilizando en diferentes

laboratorios farmacéuticos. Especial atención merecen los estudios sobre polimorfismo que han dado lugar a proponer metodologías alternativas a las convencionales en este campo para la caracterización, determinación y estudios de estabilidad de polimorfos.

La adopción por parte de la Food and Drug Administration (FDA) de nuevas metodologías aseguramiento de la calidad y de mejora de la competitividad esta conduciendo a la definición de nuevos sistemas de control de los procesos de fabricación que se engloban en las Process Analytical Technologies (PAT) para asegurar una calidad definida del producto final. En este momento, el grupo estudia la aplicación de la espectroscopia NIR en las PAT.

- Textil: Se han desarrollado métodos para la determinación de mezclas de fibras naturales y artificiales (algodón poliéster) y de productos de acabado de fibras artificiales (acrílicas).

- Petroquímica: Constituye, probablemente, el estudio más interesante y de mayor trascendencia industrial de los realizados por el grupo. Se ha puesto a punto, en colaboración con una empresa, una nueva metodología basada en espectroscopia NIR para la determinación en continuo de parámetros físicos (índice de penetración, viscosidad, densidad, etc.) y composición de asfaltos. Esta metodología se está aplicando en la monitorización de estos parámetros físicos en una planta de destilación en Tarragona y es una de las primeras plantas del mundo en el desarrollo y utilización de esta tecnología.

- Curtidos: Se han puesto a punto nuevos métodos para el seguimiento de baños de tintura,

determinación de grasa en pieles, caracterización de cueros, etc., utilizando UV-Vis y espectrometría NIR. Se han desarrollado nuevos métodos de control de calidad de productos acabados.

- Alimentación: En esta área, que es la que dio origen y desarrollo al NIR, nuestro grupo ha realizado muy pocas aportaciones. La clasificación de aceites de oliva según su denominación de origen a partir de medidas en el IR ha sido el estudio más significativo.

- Cementera: No existen antecedentes en la bibliografía acerca de aplicaciones del NIR es este campo y, aunque nuestros estudios son todavía incipientes, demuestran ya la potencialidad de la técnica en el control rápido y previo a su comercialización de morteros para aplicaciones especiales.

- Control analítico de procesos: Este es uno de los campos más prometedores de la utilización del NIR para el seguimiento en tiempo real de la evolución de procesos químicos y biológicos. Para el modelado del proceso y para la obtención de modelos de calibración se han aplicado tanto técnicas quimiométricas convencionales como otras de segundo orden. Se han estudiado y desarrollado nuevos métodos para la monitorización de fermentaciones de interés industrial y de bioprocesos a partir de medidas NIR y fluorescencia. Otros estudios se orientan hacia la obtención información cuantitativa en procesos de esterificación industrial (esterificación de mono o polialcoholes con ácidos grasos) sin tener que utilizar o con una utilización mínima de valores de referencia.

### LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Optimización de modelos enzimáticos y determinación simultánea de analitos en matrices biológicas

Seguimiento y control de bioprocesos utilizando técnicas quimiométricas tridimensionales

Resolución cinético diferencial de mezclas de enantiómeros de compuestos con actividad farmacológica

Estudio, utilizando FT-IR y NIR, de los acabados tradicionales de piel. Clasificación por tipo acabado.

Estudio e identificación del tipo de acabado (estucado, offset y alto brillo) del papel

Desarrollo de nuevas metodologías basadas en espectroscopia NIR y de técnicas de imagen química para su implementación en las PAT

Control analítico de procesos (PAC) en reacciones de interés industrial

Establecimiento de nuevas metodologías en el campo de los morteros industriales para aplicaciones especiales mediante técnicas NIR convencionales y de imagen química

### MIEMBROS DEL GRUPO

#### Profesorado

Dr. Marcelo Blanco Romia  
Dra. Hortensia Iturriaga Martínez  
Dr. Santiago MasPOCH Andrés  
Dr. Jordi Coello Bonilla  
Dr. Jordi Gené Torradella

#### Estudiantes tercer ciclo

Manel Alcalà Bernárdez  
José Manuel Amigo Rubio  
Manel Bautista Mercader  
Carlos Cairós Barreto  
Miguel Castillo Martínez  
Rosa Cantero Gómez  
Jordi Cruz Sánchez

#### Colaboradores

Dra. Trinidad Canals Parelló



# ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN DEL ADN CON EL CIS-Pt MEDIANTE TÉCNICAS DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS

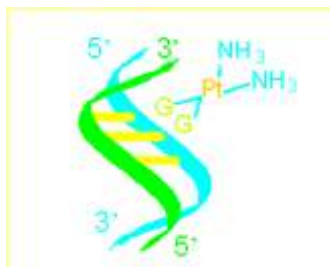
Maria Montes Bayón  
Departamento de Química Física y Analítica  
Facultad de Química  
Universidad de Oviedo

## Introducción

El Cis-diaminodicloroplatino (II) (cis-Platino) es un fármaco antineoplásico ampliamente utilizado hoy en día en el tratamiento de diversos cánceres (ovario, testículo, pulmón, etc.). Sus cualidades antineoplásicas y anticancerígenas se conocen desde principios de los setenta y ha sido utilizado ampliamente, desde entonces, como fármaco en quimioterapia. En cuanto a su estructura química, se trata de un complejo con átomo central de platino (II) rodeado por dos átomos de cloro y dos moléculas de amonio en la posición cis.

Su mecanismo de acción ha sido objeto de numerosos estudios, aunque todavía no está establecido si su entrada en la célula se produce por difusión pasiva, transporte activo o una combinación de ambos. Dentro de la célula, la especie predominante parece ser aquella en la que uno de los átomos de Cl<sup>-</sup> se substituye por un grupo OH<sup>-</sup> (complejo monohidratado). A continuación se produce la interacción coordinativa covalente entre las nucleobases del ADN (adenina, guanina, citosina y timina) y el complejo monohidratado del cis-Platino para formar el aducto monofuncional o monoaducto. Seguidamente, se hidroliza el segundo Cl<sup>-</sup> generando el aducto bidentado o bifuncional estable (intracadena e intercadena) que distorsionan la estructura espacial del ADN. La formación de aductos del cis-Platino entre nucleótidos del ADN inhibe la replicación del mismo mediante la producción de errores de transcripción y la imposibilidad de que las cadenas se separen para la replicación.

En cuanto a la estereoquímica de la reacción, el cis-Platino se une preferentemente al N7 de la adenina y de la guanina. La razón principal es que el anillo imidazol del sistema purínico de ambas bases es muy nucleofílico y presenta una elevada afinidad por los grupos hidroxilo de la forma monohidratada del cis-Platino. En este caso el aducto más estable y como consecuencia el más abundante (65%) es el que se obtiene de la reacción del cis-Platino con dos guaninas adyacentes de la misma hebra de ADN como se muestra en la Figura 1.



## Técnicas de Análisis de Aductos del ADN

Estudios recientes han puesto de manifiesto que la actividad antitumoral del cis-Platino está directamente relacionada con la formación de aductos con el ADN sin embargo, también su toxicidad (por interacción con células no-tumorales). Por tanto la formación de dichos aductos es un parámetro fármaco-cinético a optimizar en tratamientos de quimioterapia: mejorando la efectividad en células tumorales y disminuyendo los efectos colaterales. En consecuencia la detección y determinación de estos aductos del cis-Platino con el ADN tanto in-vitro como in-vivo posee un extraordinario interés en la actualidad.

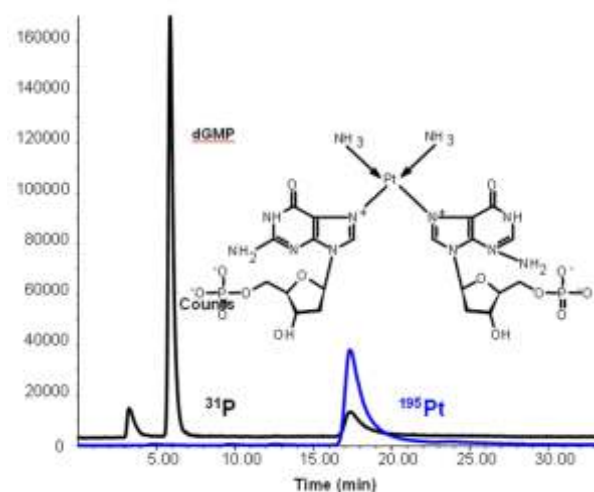
Dentro de las técnicas más comúnmente empleadas se encuentran aquellas donde lo que se mide es la integridad del ADN, como son: ensayos COMET, ensayos TUNEL, ensayo de Micronucleos y 31P-post-labeling. Este último es el método más sensible para detectar cambios en el ADN (con la posibilidad de detectar 1 aducto por cada 10<sup>10</sup> nucleótidos). Este método se basa primero en la digestión del ADN (a nucleótidos 3'-monofosfato generalmente) seguida de la preconcentración selectiva de los aductos y eliminación de los nucleótidos no modificados. A continuación, los aductos se someten al marcaje radiactivo mediante 31P y posteriormente son separados por cromatografía y detectados a través de la emisión radiactiva del 31P.

Aunque el método del 31P-post-labeling es altamente sensible, es necesario emplear reactivos peligrosos y caros y además no es selectivo para los aductos del cis-Platino. En este sentido, las técnicas de Espectrometría de Masas moleculares (Electrospray o MALDI) han empezado a utilizarse recientemente para abordar este tipo de estudios porque aunque la sensibilidad es menor que en la técnica 31P-post-labeling, se puede obtener información estructural del tipo de aducto formado.

## Espectrometría de Masas orgánica e inorgánica en el estudio de aductos del cis-Platino

Una posibilidad alternativa para la detección sensible y selectiva de aductos del cis-Platino con las nucleobases del ADN es el empleo de técnicas de especiación con detectores elementales (p.e. plasma de acoplamiento inductivo, ICP-MS). El ICP-MS ha mostrado sus excelentes características para la detección de metales y semi-metales en estudios de especiación analítica. Sin embargo son bastantes recientes los estudios que ilustran la posibilidad de detectar no-metales como es el fósforo. Este elemento posee varios problemas para su detección mediante ICP-MS: es monoisotópico ( $m/z$  31) y posee interferencias poliatómicas ( $^{15}N^{16}O^+$ ,  $^{14}N^{17}O^+$ , etc.). Además posee un primer potencial de ionización elevado (10.484 eV) lo que hace que la sensibilidad de la detección mediante ICP-MS sea relativamente baja.

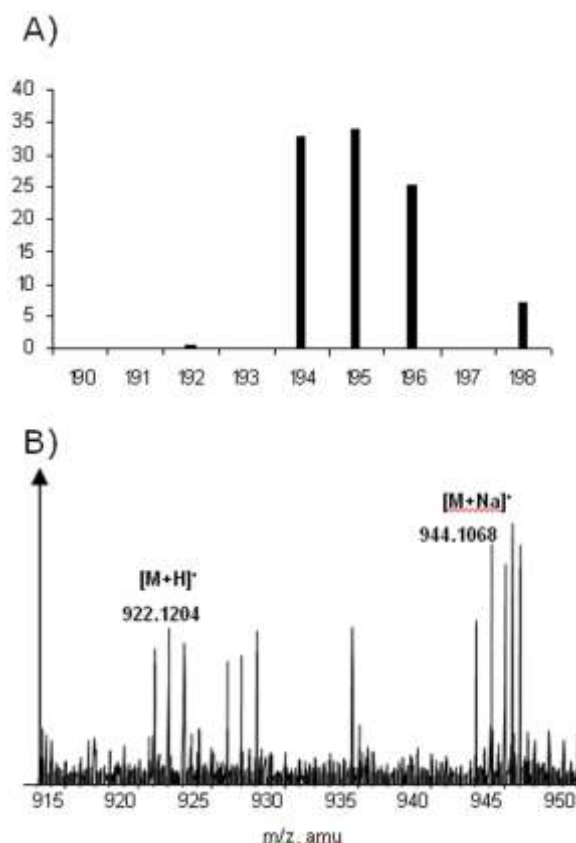
Sin embargo, mediante el uso de equipos de ICP-MS con celdas de colisión y reacción o equipos de alta resolución se pueden eliminar la mayor parte de las interferencias proporcionando límites de detección en las partes por billón (ppb). Mediante el acoplamiento de la cromatografía de líquidos (p.e. de fase reversa con columnas C8 y utilizando como fase móvil 15 mM de acetato de amonio en 15% MeOH/85% H<sub>2</sub>O en modo isocrático) ha sido posible separar los aductos del cis-Platino con la guanina como se muestra en la Figura 2.



Debido a la capacidad multielemental del ICP-MS es posible monitorizar de forma simultánea las señales correspondientes al fósforo y al platino observándose a la vez el complejo (con la estructura que se propone que posee P y Pt) y la guanina libre (del exceso que tan sólo posee la señal del P). Mediante esta metodología ha sido posible detectar la presencia de aductos del cis-Platino con oligonucleótidos sintéticos así como con ADN comercial.

La elucidación estructural del aducto de la guanina con el cis-Platino puede llevarse a cabo mediante técnicas moleculares de masas como el

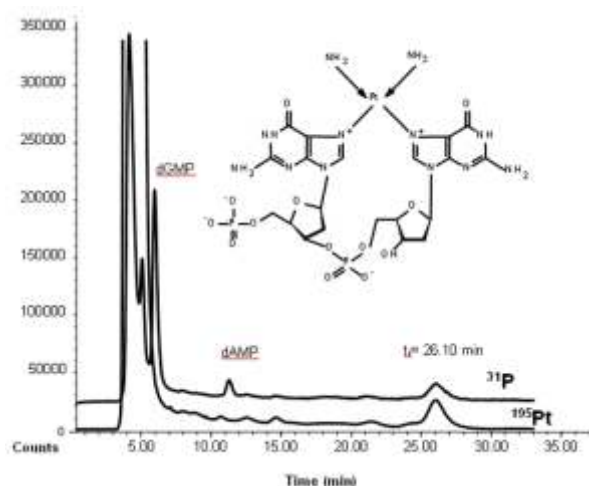
electrospray-masas (ESI-MS). En este caso, se utilizó un sistema híbrido de detección con un analizador de tipo Cuadrupolo-Tiempo de Vuelo (ESI-Q-TOF) y se evaluaron los resultados trabajando tanto en el modo positivo como en modo negativo. Una de las ventajas principales de que el aducto formado posea un heteroátomo como es el platino es que dicho elemento posee un patrón de abundancias isotópicas conocidas y facilita así la búsqueda en el espectro de masas de las especies con Pt. De esta manera, es posible detectar el ión molecular ( $M+H^+$ ,  $m/z$  922) y su conjugado con sodio ( $M+Na^+$ ,  $m/z$  944) y comparar los resultados obtenidos mediante ESI-Q-TOF con la estructura propuesta según que se muestra en la Figura 2. Una confirmación adicional puede llevarse a cabo mediante la posterior "disociación colisional" del ión de interés ( $m/z$  922) en la celda de colisión del ESI-Q-TOF a través del que obtenemos los iones producto del ión precursor fragmentado (CID o MS/MS). La Figura 3 muestra: a) el espectro de masas teórico del Pt, b) el espectro de masas del aducto en modo positivo con el ión molecular a  $m/z$  922 que presenta el patrón de abundancias del Pt.



Los patrones de fragmentación que se obtienen mediante MS/MS resultan bastante complejos debido a que proceden de iones precursores variados (p.e. de la pérdida de cero, uno y dos iones amonio sobre la estructura que se propone en la Figura 2).

Finalmente, la metodología complementaria de HPLC-ICP-MS y ESI-Q-TOF se ha aplicado a la determinación de aductos del

cis-Platino en muestras de ADN ("calf thymus ADN"). Para ello, una vez que el ADN se ha incubado con el cis-Platino, es necesario en primer lugar la separación de la doble hélice del ADN en sus correspondientes cadenas sencillas (se lleva a cabo por calentamiento a 95°C). A continuación, se realiza la hidrólisis enzimática utilizando la Nucleasa S1 que separa el ADN en sus diferentes nucleótidos dejando estructuras del tipo nucleótido 5'-monofosfato. Dichos compuestos son posteriormente separados por cromatografía como se muestra en la Figura 4.

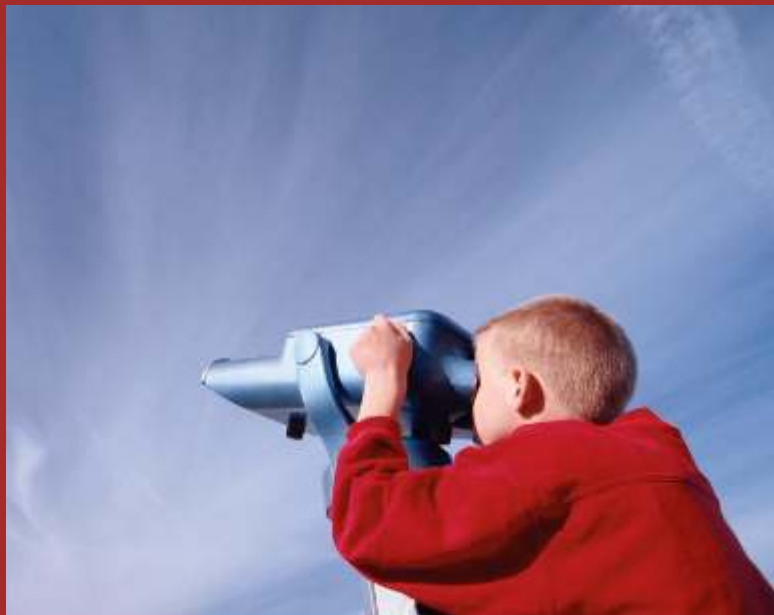


En este caso se observan una gran señal de fósforo durante los primeros cinco minutos del cromatograma correspondiente a los nucleótidos 5'-monofosfatos hidrolizados del ADN así como una señal posterior correspondiente a un compuesto con P y Pt (aunque a un tiempo de retención superior a lo que se había observado en el caso del aducto sintetizado del cis-Platino con la guanina). Mediante estudios posteriores de ESI-Q-TOF se demostró que este aducto posee la estructura que se muestra en la Figura 4 con el grupo fosfato entre las dos guaninas adyacentes (ligeramente diferente al que se muestra en la Figura 2). La estructura de la Figura 4 posee un ión molecular a  $m/z$  904 (no se muestra). Esto se debe a que, una vez formado el aducto con el cis-Platino, el enzima de hidrólisis no puede romper el enlace fosfo-diéster entre las guaninas adyacentes o este se vuelve a formar en poco tiempo.

Finalmente, es de destacar que los resultados obtenidos ponen de manifiesto las ventajas del ICP-MS como detector para no metales, como el fósforo, que está siendo aprovechado por numerosos autores en el campo, por ejemplo, de la fosfo-proteómica o el análisis cuantitativo preciso y exacto, de las secuencias de ADN que se producen mediante PCR. En este sentido, la combinación de la información elemental (ICP-MS) y molecular (ESI-Q-TOF) resulta fundamental en la resolución de este tipo de problemas de bio-inorgánica analítica.

## BIBLIOGRAFÍA

1. M.J.O. Welters, A.M.J. Fichtinger-Schepman, R.A. Baan, A.J. Jacobs-Bergmans, A. Kegel, W.J.F. van der Vijgh, B.J.M. Brakhuis. *British J. Cancer*. 1999, 79, 82.
2. S. E. Sherman, S. J. Lippard. *Chem. Rev.*, 1987, 87, 1153.
3. S. J. Lippard, J. Berg. *Principles of Bioinorganic Chemistry*, 1994. Eds. University Science Books, CA, USA.
4. M. Zeisig, T. hofer, J. Cadet, L. Möller. *Carcinogenesis*, 1999, 20, 1241.
5. P. Iannitti-Tito, A. Weimann, G. Wickham, M. M. Sheil, *Analyst*, 2000, 125, 627-634.
6. A. Sanz-Medel, M. Montes-Bayón, M., M.L. Fernández-Sánchez, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2003,
7. D. Pröfrock, P. Leonhard, W. Ruck and A. Prange, *Anal. Bioanal. Chem.* 2005, 381, 194.
8. W. Bruchert. J. Bettmer, *Anal. Chem.*, 2005, 77, 5072.



Buscamos las cosas que nuestro objetivo.  
Porque nos gusta encontrar las mejores  
opciones.

El mundo está cambiando y nosotros nos adaptamos. Desde  
la química analítica, desde la biología y la medicina. Desde  
la farmacología, desde la industria y desde la agricultura.  
El mundo está cambiando y nosotros nos adaptamos. Desde  
la química analítica, desde la biología y la medicina. Desde  
la farmacología, desde la industria y desde la agricultura.  
El mundo está cambiando y nosotros nos adaptamos. Desde  
la química analítica, desde la biología y la medicina. Desde  
la farmacología, desde la industria y desde la agricultura.

¿Especialistas en Tecnología y Soluciones?

**Thermo**  
FISHER SCIENTIFIC

## SIGMA ALDRICH ANALÍTICA

Contacte con nosotros:  
Teléfono: 900101376  
Fax: 900102028  
E\_mail: [esmarketing@europe.sial.com](mailto:esmarketing@europe.sial.com)

[www.sigmaaldrich.com/analytical](http://www.sigmaaldrich.com/analytical)

ACTUALIDAD  
ANALÍTICA



Número 14, Junio 2006