

LIBRO DE RESÚMENES

XXIII REUNIÓN DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE QUÍMICA
ANALÍTICA

JORNADA DE ESPECIACIÓN

VII JORNADA DOCENTE EN QUÍMICA ANALÍTICA



Universidad de Oviedo



Oviedo, 12-15 de Julio de 2022

BIENVENIDA

Queridos miembros de la comunidad analítica,

Volvemos a reunirnos, esta vez en Oviedo, en nuestra XXIII Reunión como Sociedad Española de Química Analítica (SEQA) tras haber dejado atrás unos difíciles meses donde la interacción personal, que siempre lleva asociada nuestra reunión bianual, nos estaba vetada. Por ello, este encuentro que debía haberse celebrado en 2021 como continuación de la última reunión en Valladolid en 2019, ha tenido que ser pospuesto hasta el momento actual. En este sentido, hemos querido aprovechar la circunstancia para celebrar, paralelamente, las Jornadas Docentes que tan amplia aceptación han tenido por parte de nuestra comunidad científica en todas las anteriores ediciones.

A pesar del tiempo transcurrido desde la última reunión, nos ha sido grato continuar observando el crecimiento de esta comunidad científica y el avance en la diversidad de los campos de investigación que aborda que quedan patentes en el programa científico que se muestra en la actual reunión. El número de comunicaciones presentadas desde muy diversas perspectivas indica que se está realizando mucha y buena ciencia analítica en nuestro país tanto por grupos consolidados como emergentes, con un notable aumento en el número de socios jóvenes. Pero hemos de ser conscientes de que lo que ahora estamos recogiendo en la actual SEQA no deja de ser el fruto de un enorme esfuerzo de quienes nos precedieron, algunos incluso que ya no están con nosotros. Ellos ayudaron a gestar y aglutinar a la comunidad analítica en los momentos más complejos y a crear un germen que ha fructificado en la actual comunidad que muestra estar activa y presente en sus encuentros.

Esperamos que los atractivos y densos programas científicos, tanto de la XXIII Reunión SEQA como de las Jornadas Docente y de Especiación sean interesantes para todos vosotros y que el encuentro en Oviedo vuelva a ser el foro ideal para el encuentro científico, pero también para la interacción personal entre diferentes generaciones de químicos analíticos. La SEQA y la organización local, como en anteriores ediciones, han intentado promover un atractivo programa de becas que facilite dicho objetivo. Igualmente, agradecemos el patrocinio de las empresas por su esfuerzo y colaboración.

Esperamos que esta reunión en Oviedo sirva para estrechar aún más los lazos dentro de esta sociedad que contribuye al valor y riqueza de la Química en nuestro país formando grandes docentes e investigadores.

Maria Montes Bayón

Presidenta de la SEQA

COMITÉ ORGANIZADOR LOCAL

Presidenta: María Montes Bayón

Vicepresidenta: Elisa Blanco González

Secretario: Mario Corte Rodríguez

Vocales:

María Jesús Lobo Castañón

Noemí de los Santos

Rosario Pereiro García

Jörg Bettmer

Luisa María Sierra Zapico

Rosana Badía Laiño

José Ignacio García Alonso

José Manuel Costa Fernández

María Teresa Fernández Abedul

María del Carmen Blanco López

Jorge Ruiz Encinar

Alfonso Fernández González

Beatriz Fernández García

COMITÉ CIENTÍFICO

Presidenta: María Montes Bayón

Vicepresidenta: Lourdes Ramos Rivero

Secretaria: Beatriz Fernández García

Tesorero: Miguel del Nogal Sánchez

Vocales:

Soledad Muniategui Lorenzo

Javier Galbán Bernal

José Luis Luque García

Juan Francisco García Reyes

Arsenio Muñoz de la Peña Castrillo

José Manuel Herrero Martínez

Antonia Garrido Frenich

Fernando Benavente Moreno

Rosa del Carmen Rodríguez Martín-Doimeadios

VII JORNADA DE ESPECIACIÓN: RETOS DE LA ESPECIACIÓN QUÍMICA EN EL SIGLO XXI

PROGRAMA CIENTÍFICO

JORNADA DE ESPECIACIÓN (Sala de Cristal) Martes 12/7/22	
09:30-10:00	Recogida de documentación.
10:00-10:15	Presentación de la Jornada María Carmen Barciela (Presidenta del Grupo de Especiación de la SEQA) María Montes (Presidenta de la SEQA)
10:15-11:00	Conferencia Invitada (I) Moderadores: Tamara García Barrera y José Fermín López Sánchez A metrological approach towards absolute quantification of protein biomarkers of metal metabolism disorders. <i>Heidi Goenaga Infante. National Measurement Laboratory. LGC Limited.</i>
11:00-11:45	Conferencia Invitada (II) Moderadores: Yolanda Madrid y Francisco Laborda Abordando la complejidad de la interacción de metales y nanopartículas metálicas con sistemas vivos mediante técnicas-ómicas. <i>José Luis Luque. Universidad Complutense de Madrid.</i>
11:45-13:00	Pausa café/pósteres
13:00-13:50	Comunicaciones orales Moderadores: María Carmen Barciela Alonso y Tamara García Barrera
13:00-13:20	New instrumental capabilities of Multi-Quadrupole ICP-MS help advancing nanomaterials characterization and medical applications of Single-Cell ICP-MS. Helmut Ernstberger. Perkin Elmer, Milán.
13:20-13:30	Nanomateriales en alimentación animal: Especiación de plata en la digestión gastrointestinal de cerdos. Mariam Bakir Laso.
13:30-13:40	Speciation of silver in feces and manure from chickens fed with a silver-based nanomaterial. Khaoula Ben Jeddou.

13:40-13:50	Estudio de biomoléculas y especies con Se en fracciones proteicas (sarcoplasmáticas, miofibrilares y álcali-soluble) de pescados de consumo frecuente mediante HPLC-UV-ICP-MS y HPLC-ESI-MS/MS. Tamara Fernández Bautista.
13:50-15:45	Almuerzo
15:45 -17:05	Comunicaciones orales Moderadores: Francisco Laborda y Yolanda Madrid
15:45-15:55	Centrifugal ultrafiltration as a pre-concentration procedure for assessing Ag and TiO ₂ NPs in urine. Ana Justo Vega.
15:55-16:05	Silver nanoparticles speciation by SP-ICP-MS in edible seaweed using enzymatic extraction as a sample pre-treatment. Juan José López-Mayán.
16:05-16:15	Influence of intermittent irrigation methods on the chemical nature of arsenic species in rice grain. Andrea Mara.
16:15-16:25	Evaluación de las transformaciones metabólicas de nanopartículas de selenio por plantas y bacterias mediante la aplicación de una plataforma multitécnica. Gustavo Moreno Martín.
16:25-16:35	Estudio metabólico en tejido testicular de ratones expuestos a “cócteles químicos” de metales y fármacos: influencia del selenio y de la microbiota intestinal. Cecilio Parra-Martínez.
16:35-16:45	Improvements in the speciation analysis of platinum nanoparticles via single particle inductively coupled plasma mass spectrometry. Rosa Carmen Rodríguez Martín-Doimeadios.
16:45-16:55	Perturbaciones en el metabolismo de la microbiota de ratones <i>Mus musculus</i> expuestos a diclofenaco y posible interacción con el selenio. Gema Rodríguez-Moro.
16:55-17:05	Determinación de especies de mercurio en cabello de población autóctona de diferentes regiones de Colombia por espectrometría de masas y dilución isotópica con trazador doble. Laura Suárez Criado.
17:05-17:45	Asamblea del Grupo de Especiación de la SEQA
17:45-18:00	Entrega del Premio RSC a la mejor comunicación oral.

XXIII REUNIÓN DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE QUÍMICA ANALÍTICA
PROGRAMA CIENTÍFICO

Martes 12/7/22	
16:00	Recogida documentación XXIII SEQA
18:00-18:30	Ceremonia de apertura
18:30-19:15	Moderadora: María Montes Bayón Conferencia plenaria (I) (Auditorio) Evolución de una pandemia. Diseño de métodos de detección y caracterización del SARS-Cov2. Aplicación clínica y epidemiológica <i>Santiago Melón García. Hospital Universitario Central de Asturias</i>
19:30-21:00	Aperitivo de bienvenida

Miércoles 13/7/22	
09:00-09:15	Sesión Tributo al Profesor Miguel Valcárcel <i>Ángel Ríos Castro. Universidad de Castilla-La Mancha</i>
09:15-10:00	Moderador: Ángel Ríos Castro Conferencia plenaria (II) (Auditorio) Micromotores catalíticos: una aproximación vanguardista para aplicaciones analíticas de (bio)-sensado <i>Alberto Escarpa Miguel. Universidad de Alcalá de Henares</i>
10:00-10:30	Conferencia invitada (I) (Auditorio) Exploring the Impact of Metallic Nanoparticles on Biological Systems by ICP-MS and Complementary Techniques. <i>Jörg Bettmer. Universidad de Oviedo</i>

10:40-11:40	Comunicaciones orales	
	Sesión 1 (Sala cristal)	Sesión 2 (Auditorio)
	Moderadora: Elisa Blanco González	Moderador: Enrique Barrado Esteban
10:40-11:00	Caracterización de AgNPs y AuNPs en lodos de depuradora por espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo en modo de detección de partículas individuales (spICP-MS). Gustavo Moreno Martín.	Electrochemical bioplatfoms for monitoring emerging biomarkers of autoimmune diseases. Esther Sánchez Tirado.
11:00-11:20	Análisis de microplásticos en productos de consumo mediante detección partículas individuales – Espectrometría de Masas con Plasma de Acoplamiento Inductivo utilizando el isótopo de carbono-13. Celia Trujillo Lacasa.	Diagnóstico precoz de infecciones en heridas crónicas mediante un biosensor electroquímico basado en membranas nanoporosas. Celia Toyos Rodríguez.
11:20-11:40	A multi-omics approach to decipher the potential of Rh nanoparticles as photosensitizing agent in photodynamic cancer therapy. Andrés Machuca Marcos.	Determinación de PSA mediante aptasensores electroquímicos para el diagnóstico de cáncer de próstata. Paula Gómez Meijide.
11:40-12:40	Pausa café/pósteres	
12:40-14:00	Comunicaciones orales	
	Sesión 3 (Sala cristal)	Sesión 4 (Auditorio)
	Moderadora: Rosa Martín Doimeadios	Moderador: Miguel del Nogal
12:40-13:00	Determination of zinc oxide and titanium dioxide nanoparticles in moisturising creams by sp-ICP-MS. Iria Rujido Santos.	Optimization of a fluorescent lateral flow immunoassay (F-LFIA) for detection of plasma-derived extracellular vesicles. Baihui Wang.
13:00-13:20	Desarrollo de metodologías para análisis isotópico de micromuestras mediante ICP-MS de tipo multi-colector: investigación de fluidos oculares para el estudio de patologías neurodegenerativas. Lara Lobo Revilla.	Electroanalytical biosensors as powerful tools to face the unprecedented COVID-19 pandemic: Serological quantification of SARS-CoV-2 immunoglobulins and immunity monitoring against emerging variants of concern. Rebeca M. Torrente-Rodríguez.
13:20-13:40	A fit-for-purpose copper speciation method for the determination of exchangeable copper relevant to Wilson's disease. María Estela del Castillo Busto.	Mass-produced materials as basis for low-cost (bio)electroanalysis: pins, tips and tubes. María Teresa Fernández-Abedul.

13:40-14:00	Análisis espacial múltiple de (metalo) proteínas en la matriz extracelular de tejido mamario por LA-MS: influencia en el desarrollo de metástasis del cáncer de mama. María Luisa Fernández Sánchez.	Electrochemical sensor for the assessment of glycosylation level of transferrin: application to disease diagnosis. Agustín González Crevillén.
14:00-16:00	ALMUERZO	
16:00-16:30	Moderador: José Luis Pérez Pavón Conferencia invitada II (Auditorio) An Overview of Electrochemical Carbon Based Sensors for Sensitive Monitoring of Drug Active Compounds and Their Sensitive Applications <i>Sibel Ozkan. University of Ankara.</i>	
16:35-17:35	Comunicaciones orales	
	Sesión 5 (Sala cristal) Moderadora: María Jesús Lobo Castañón	Sesión 6 (Auditorio) Moderador: Jose Manuel Herrero
16:35-16:55	Selective and sensitive electrochemical assay of Regorafenib using a molecularly imprinted polymer based sensor. S. Irem Kaya.	Identificación de firmas lipoproteicas específicas en el plasma a través RMN para diferenciar etapas de la enfermedad de Parkinson: enfoque lipídico no dirigido. Kateryna Tkachenko.
16:55-17:15	High-throughput magnetic-based pipette tip microextraction: determination of testosterone in human saliva as a proof-of-concept. Alberto Chisvert Sanja.	Biosensor electroquímico multiplexado de eventos de metilación global en ácidos nucleicos aplicado a la detección de cáncer y evaluación de su agresividad. María Pedrero.
17:15-17:35	Use of Carbon Dots functionalized with modified Cyclodextrins as carriers of Doxorubicin. María Cruz-Alonso.	Estudio del perfil metalómico plasmático y eritrocitario en obesidad infantil y su asociación con alteraciones del metabolismo glucídico, inflamación y estrés oxidativo. Raúl González Domínguez.
17:35-18:15	Pausa café/pósteres	
18:15-19:00	Moderador: Cristina Nerín de la Puerta Mesa Redonda (Auditorio) “Las mujeres en ciencia: el caso particular de la Química Analítica”	
19:00-19:45	Moderador: Jörg Bettmer	

	Conferencia plenaria III (Auditorio) New analytical approaches to study bioaccumulation in whales <i>Jörg Feldmann. University of Graz.</i>
20:00	Visita guiada por Oviedo

Jueves 14/7/22		
09:00-09:45	Moderadora: Lourdes Ramos Conferencia plenaria IV (Auditorio) Desarrollo computarizado de separaciones cromatográficas. Algunas ideas renovadoras. <i>Rafael Cela Torrijos. Universidad de Santiago de Compostela.</i>	
09:50-10:20	Conferencia invitada III (Auditorio) Metabolomic workflows enabled by isotopically enriched biomass <i>Gunda Koellensperger. University of Viena.</i>	
10:30-11:30	Comunicaciones orales	
	Sesión 7 (Sala cristal) Moderador: José Luis Luque	Sesión 8 (Auditorio) Moderador: Juan F. García Reyes
10:30-10:50	Estudio metabolómico en suero de pacientes con cáncer de pulmón tras intervención quirúrgica mediante cromatografía líquida de ultra alta eficacia acoplada a cuadrupolo tiempo de vuelo (UHPLC-ESI-QTOF-MS). Belén Callejón-Leblic.	A novel methodology for the identification of co-formulants in plant protection products based on chromatographic techniques coupled to high resolution mass spectrometry. Antonio Jesús Maldonado Reina.
10:50-11:10	Estrategias de cuantificación basadas en la combinación de cromatografía líquida bidimensional, dilución isotópica y espectrometría de masas para la cuantificación de biomarcadores clínicos. Pablo Rodríguez González.	Application of HILIC-MS to assess polar compounds distribution in avocado peel, seed and pulp during fruit ripening. Irene Serrano-García.
11:10-11:30	Biomarcadores fecales, hormonas y sus metabolitos como narradores de la historia de la domesticación. El caso del Abrigo de Vallone Inferno, Sicilia, Italia. Asier Vallejo Ruiz.	Targeted bottom-up analysis of protein biomarkers by on-line coupling of aptamer affinity solid-phase extraction and immobilized enzyme microreactor capillary electrophoresis-mass spectrometry. Hiba Salim.

11:30-12:20	Pausa café/pósteres	
12:20-14:00	Comunicaciones orales	
	Sesión 9 (Sala cristal) Moderador: Arsenio Muñoz de la Peña	Sesión 10 (Auditorio) Moderador: Javier Galbán
12:20-12:40	A natural deep eutectic solvent for mercury speciation in water samples. Antonio Canals.	Evaluation of supercritical fluid chromatography time-of-flight mass spectrometry for the determination of chiral drugs in sewage samples. Miguel Cobo Golpe.
12:40-13:00	Polyphenol recovery from agri-food waste using deep eutectic solvents. Javier Saurina.	A multi-factor multi-objective optimization strategy in the determination of polymer additive residues by HS-SPME-GC-MS. Lucía Valverde Som.
13:00-13:20	Disolventes supramoleculares para una evaluación holística del riesgo químico en epidemiología ambiental. Noelia Caballero Casero.	Laser analytical spectrometry for planetary research under mimicked martian conditions at the UMA LASERLAB Thermal Vacuum Chamber. José Miguel Vadillo Pérez.
13:20-13:40	3D printing for designing novel sample preparation devices in Analytical Chemistry. Enrique Javier Carrasco Correa.	Rapid and sensitive detection of a peptidic biomarker of Staphylococcus aureus in sputum by a displacement ELISA method with a Smartphone-based reading system. Arántzazu Narváez García.
13:40-14:00	Dispositivos de extracción in-situ para el análisis de aguas. Soledad Cárdenas Aranzana.	FTIR-ATR Analysis of Reactants and Products of Novel Lipophenols Synthesis. Ángel Sánchez-Illana.
14:00-16:00	ALMUERZO	
16:00-16:30	Moderador: Fernando Benavente Conferencia invitada IV (Auditorio) Alimentómica verde y sostenibilidad <i>Elena Ibañez Ezequiel. CSIC</i>	
16:30-17:30	Comunicaciones orales	
	Sesión 11 (Sala cristal)	Sesión 12 (Auditorio)

	Moderador: Antonia Garrido French	Moderadora: Soledad Muniategui
16:30-16:50	Diferenciación entre aceites de oliva virgen sometidos a distintos criterios agronómicos empleando fluorescencia no destructiva. Elisabet Martín Tornero.	Cribado no selectivo de contaminantes orgánicos traza en aguas superficiales mediante bibliotecas empíricas y combinatorias de espectrometría de masas en tándem, redes y grupos moleculares. Pedro A. Segura.
16:50-17:10	A novel approach for protein profiling and classification of food products based on MALDI-TOF-MS and chemometrics. Application to quinoa grains. Laura Pont Villanueva.	Analytical method based on UAE-in situ-clean-up-LC-MS/MS for the determination of 60 PPCPs in sewage sludge samples. Nereida Pérez Lemus.
17:10-17:30	Desarrollo de un modelo multivariable para la determinación del tiempo de vida útil de aceites vegetales refinados en condiciones forzadas. Sandra Martín Torres.	Determinación on-site de NO ₂ en el aire ambiente mediante smartphone+app para captura y análisis digital de imágenes. María Cerrato-Álvarez.
17:30-18:15	Pausa café/pósteres	
18:15-19:45	Asamblea General SEQA (Auditorio)	
20:00	Ceremonia de clausura XXIISEQA	
21:00	Cena del Congreso. Hotel de la Reconquista. Entrega de Premios	

VII JORNADA DOCENTE EN QUÍMICA ANALÍTICA

PROGRAMA

JORNADA DOCENTE (I) Jueves 14/7/22	
16.30-17:00	Recogida de Documentación
17:30-19:30	Café / visita pósteres docencia

JORNADA DOCENTE (II) (Sala Cristal) Viernes 15/7/22	
9:45-10:00	Presentación de la Jornada Noemí de los Santos y Rebeca Miranda <i>Universidad de Oviedo</i>
10:00-10:30	Conferencia Invitada (I) Adaptación de la asignatura Química Analítica a la enseñanza basada en metodologías activas en distintos grados impartidos en la Facultad de Farmacia de la Universidad del País Vasco: debilidades y fortalezas. <i>Alberto Gómez Caballero. UPV</i>
10:30-11:00	Conferencia Invitada (II) Herramientas Didácticas para promover el aprendizaje activo y favorecer la interactividad y dinamización en el aula. <i>Asier Vallejo. UPV</i>
11:00-12:30	Comunicaciones Orales
11:00-11:15	La clase inversa (presencial o virtual) como estrategia de enseñanza-aprendizaje en asignaturas de Química Analítica. Xavier Subirats.

11:15-11:30	Enseñanza online de la Química Analítica: nuevas oportunidades tras el confinamiento por COVID-19. Josu López-Gazpio.
11:30-11:45	Aprendizaje basado en el estudio de casos en la asignatura experimental Laboratorio de Química Analítica para la mejora de competencias profesionalizadoras. Óscar Núñez.
11:45-12:00	La enseñanza de la Química (Analítica) en el Grado de Criminalística: Ciencias y Tecnologías Forenses. Alberto Escarpa.
12:00-12:15	Aprendizaje basado en fenómenos para la adquisición de competencias experimentales. Soledad Cárdenas Aranzana.
12:15-12:30	ODS y Química Analítica: el papel de la divulgación científica como herramienta para concienciar sobre el desarrollo sostenible. Emma Gracia-Lor.
12:30-13:00	Pausa Café / visita pósteres
13:00-14:15	Mesa Redonda/Discusión con los conferenciantes.
14:15-16:00	Almuerzo y discusión de pósteres
16:00-17:00	Taller (Noemí de los Santos y Rebeca Miranda) Evaluación práctica de estrategias participativas con el móvil: Oops, ¡cuántas apps!
17:00-17:30	Clausura de la Jornada

Índice de resúmenes

Página

1. Jornada de especiación: Conferencias invitadas 1

ILE1	Heidi Goenaga Infante	A metrological approach towards absolute quantification of protein biomarkers of meta metabolism disorders	3
ILE2	José L. Luque García	Abordando la complejidad de la interacción de metales y nanopartículas metálicas con sistemas vivos mediante técnicas ómicas	4

2. Jornada de especiación: Presentaciones orales 5

ESP1	Helmut Ernstberger	New instrumental capabilities of multi-quadrupole ICP-MS help advancing nanomaterials characterization and medical applications of single-cell ICP-MS	7
ESP2	Mariam Bakir Laso	Nanomateriales en alimentación animal: Especiación de plata en la digestión gastrointestinal de cerdos	8
ESP3	Khaoula Ben Jeddou	Speciation of silver in feces and manure from chickens fed with a silver-based nanomaterial	9
ESP4	Tamara Fernández Bautista	Estudio de biomoléculas y especies con Se en fracciones proteicas (sarcoplasmáticas, miofibrilares y álcali-solubles) de pescados de consumo frecuente mediante HPLC-UV-ICP-MS y HPLC-ESI-MS/MS.	10
ESP5	Ana Justo Vega	Centrifugal ultrafiltration as pre-concentration procedure for assessing Ag and TiO ₂ NPs in urine.	11
ESP6	Juan José López-Mayán	Silver nanoparticles speciation by SP-ICP-MS in edible seaweed using enzymatic extraction as a sample pre-treatment	12
ESP7	Andrea Mara	Influence of intermittent irrigation methods on the chemical nature of arsenic species in rice grain	13
ESP8	Gustavo Moreno Martín	Evaluación de las transformaciones metabólicas de nanopartículas de selenio por plantas y bacterias mediante la aplicación de una plataforma multitécnica.	14
ESP9	Cecilio Parra-Martínez	Estudio metabolómico en tejido testicular de ratones expuestos a “cócteles químicos” de metales y fármacos: influencia del selenio y de la microbiota intestinal	15

ESP10	Rosa Carmen Rodríguez Martín- Doimeadios	Improvements in the speciation analysis of platinum nanoparticles via single particle inductively coupled plasma mass spectrometry	16
ESP11	Gema Rodríguez Moro	Perturbaciones en el metabolismo de la microbiota de ratones <i>Mus musculus</i> expuestos a diclofenaco y posible interacción con el selenio	17
ESP12	Laura Suárez Criado	Determinación de especies de mercurio en cabello de población autóctona de diferentes regiones de Colombia por Espectrometría de Masas y dilución isotópica con trazador doble.	18

3. Jornada de especiación: Posters..... 19

P1	Ana Cristina Giménez Inglaturre	Aplicación de single cell ICP-MS para el estudio de los efectos sinérgicos bactericidas de las nanopartículas de plata y antibióticos.	21
P2	Alba Morales Rodríguez	Obtaining algae arsenosugars by preparative chromatographic techniques	22
P3	Eduardo Bolea Morales	Estudios de movilización de especies de plata en heces de cerdos alimentados con nanomateriales de plata: implicaciones medioambientales	23
P4	Francisco Javier Soto Cruz	Transferencia materno-infantil de elementos traza y metabolitos durante la lactancia en madres positivas a SARS-CoV-2	24
P5	María Millán Martínez	Desarrollo de una metodología para la especiación de cromo en material particulado atmosférico	25
P6	Ana Isabel González de las Torres	Eliminación de especies de Sb en el electrolito de cobre y evolución de las especies de As y Fe en una planta de electrorrefinación	26

4. XXIII Reunión de la SEQA: Conferencias plenarias 27

PL1	Santiago Melón García	Evolución de una pandemia. Diseño de métodos de detección y caracterización del SARS-COV2. Aplicación clínica y epidemiológica	29
PL2	Alberto Escarpa Miguel	Micromotores catalíticos: una aproximación vanguardista para aplicaciones analíticas de (bio)-sensor	30

PL3	Jörg Feldmann	New analytical approaches to study bioaccumulation in whales	31
PL4	Rafael Cela Torrijos	Desarrollo computarizado de separaciones cromatográficas. Algunas ideas renovadoras	32

5. XXIII Reunión de la SEQA: Conferencias invitadas..... 33

IL1	Jörg Bettmer	Exploring the impact of metallic nanoparticles on biological systems by ICP-MS and complementary techniques	35
IL2	Sibel A. Ozkan	An overview of electrochemical carbon based sensors for sensitive monitoring of drug active compounds and their sensitive applications	36
IL3	Gunda Koellensperger	Metabolomic workflows enabled by isotopically enriched biomass	37
IL4	Elena Ibáñez Ezequiel	Alimentómica verde y sostenibilidad	38

6. XXIII Reunión de la SEQA: Presentaciones orales..... 39

OR1	Gustavo Moreno Martín	Caracterización de AgNPs y AuNPs en lodos de depuradora por espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo en modo de detección de partículas individuales (spICP-MS)	41
OR2	Esther Sánchez Tirado	Electrochemical bioplatforms for monitoring emerging biomarkers of autoimmune diseases	42
OR3	Celia Trujillo Lacasa	Análisis de microplásticos en productos de consumo mediante detección partículas individuales – espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo utilizando el isótopo de carbono-13	43
OR4	Celia Toyos Rodríguez	Diagnóstico precoz de infecciones en heridas crónicas mediante un biosensor electroquímico basado en membranas nanoporosas	44
OR5	Andrés Machuca Marcos	A multi-omics approach to decipher the potential of rhodium nanoparticles as photosensitizing agent in photodynamic cancer therapy.	45
OR6	Paula Gómez Meijide	Determinación de PSA mediante aptasensores electroquímicos para el diagnóstico de cáncer de próstata	46
OR7	Iria Rujido-Santos	Determination of zinc oxide and titanium dioxide nanoparticles in moisturising creams by sp-ICP-MS.	47

OR8	Baihui Wang	Optimization of a fluorescent lateral flow immunoassay (F-LFIA) for detection of plasma-derived extracellular vesicles	48
OR9	Lara Lobo Revilla	Desarrollo de metodologías para análisis isotópico de micromuestras mediante ICP-MS de tipo multi-colector: investigación de fluidos oculares para el estudio de patologías neurodegenerativas	49
OR10	Rebeca M. Torrente-Rodríguez	Electroanalytical biosensors as powerful tools to face the unprecedented COVID-19 pandemic: Serological quantification of SARS-CoV-2 immunoglobulins and immunity monitoring against emerging variants of concern.	50
OR11	María Estela del Castillo Busto	A fit-for-purpose copper speciation method for the determination of exchangeable copper relevant to Wilson's disease	51
OR12	María Teresa Fernández-Abedul	Mass-produced materials as basis for low-cost (bio) electroanalysis: pins, tips and tubes.	52
OR13	María Luisa Fernández Sánchez	Análisis espacial múltiple de (metalo-)proteínas en la matriz extracelular de tejido mamario por LA-MS: influencia en el desarrollo de metástasis del cáncer de mama	53
OR14	Agustín González Crevillén	Electrochemical sensor for the assessment of glycosylation level of transferrin: application to disease diagnosis.	54
OR15	S. Irem Kaya	Selective and Sensitive Electrochemical Assay of Regorafenib Using a Molecularly Imprinted Polymer Based Sensor	55
OR16	Kateryna Tkachenko	Identificación de firmas lipoproteicas específicas en el plasma a través RMN para diferenciar etapas de la enfermedad de Parkinson: enfoque lipidómico no dirigido	56
OR17	Alberto Chisvert Sanía	High-throughput magnetic-based pipette tip microextraction: determination of testosterone in human saliva as a proof-of-concept	57
OR18	María Pedrero	Biosensor electroquímico multiplexado de eventos de metilación global en ácidos nucleicos aplicado a la detección de cáncer y evaluación de su agresividad.	58
OR19	María Cruz-Alonso	Use of carbon dots functionalized with modified cyclodextrins as carriers of doxorubicin	59
OR20	Raúl González Domínguez	Estudio del perfil metalómico plasmático y eritrocitario en obesidad infantil y su asociación con alteraciones del metabolismo glucídico, inflamación y estrés oxidativo	60

OR21	Belén Callejón-Leblic	Estudio metabolómico en suero de pacientes con cáncer de pulmón tras intervención quirúrgica mediante cromatografía líquida de ultra alta eficacia acoplada a cuadrupolo tiempo de vuelo (UHPLC-ESI-QTOF-MS)	61
OR22	Antonio Jesús Maldonado Reina	A novel methodology for the identification of co-formulants in plant protection products based on chromatographic techniques coupled to high resolution mass spectrometry	62
OR23	Pablo Rodríguez González	Estrategias de cuantificación basadas en la combinación de cromatografía líquida bidimensional, dilución isotópica y espectrometría de masas para la cuantificación de biomarcadores clínicos	63
OR24	Irene Serrano-García	Application of HILIC-MS to assess polar compounds distribution in avocado, peel, seed and pulp during fruit ripening.	64
OR25	Asier Vallejo Ruiz	Biomarcadores fecales, hormonas y sus metabolitos como narradores de la historia de la domesticación. El caso del Abrigo de Vallone Inferno, Sicilia, Italia.	65
OR26	Hiba Salim	Targeted bottom-up analysis of protein biomarkers by on-line coupling of aptamer affinity solid-phase extraction and immobilized enzyme microreactor capillary electrophoresis-mass spectrometry	66
OR27	Antonio Canals	A natural deep eutectic solvent for mercury speciation in water samples	67
OR28	Miguel Cobo Golpe	Evaluation of supercritical fluid chromatography time-of-flight mass spectrometry for the determination of chiral drugs in sewage samples	68
OR29	Javier Saurina	Polyphenol recovery from agri-food waste using deep eutectic solvents	69
OR30	Lucía Valverde-Som	A multi-factor multi-objective optimization strategy in the determination of polymer additive residues by HS-SPME-GC-MS	70
OR31	Noelia Caballero Casero	Disolventes supramoleculares para una evaluación holística del riesgo químico en epidemiología ambiental.	71
OR32	José Miguel Vadillo Pérez	Laser analytical spectrometry for planetary research under mimicked Martian conditions at the UMA LASERLAB thermal vacuum chamber	72
OR33	Enrique Javier Carrasco Correa	3D printing for designing novel sample preparation devices in Analytical Chemistry	73

OR34	Arántzazu Narváez García	Rapid and sensitive detection of a peptidic biomarker of Staphylococcus aureus in sputum by a displacement ELISA method with a Smartphone-based reading system	74
OR35	Soledad Cárdenas Aranzana	Dispositivos de extracción in-situ para el análisis de aguas.	75
OR36	Ángel Sánchez-Illana	FTIR-ATR analysis of reactants and products of novel lipophenols synthesis	76
OR37	Elísabet Martín Tornero	Diferenciación entre aceites de oliva virgen sometidos a distintos criterios agronómicos empleando fluorescencia no destructiva	77
OR38	Pedro A. Segura	Cribado no selectivo de contaminantes orgánicos traza en aguas superficiales mediante bibliotecas empíricas y combinatorias de espectrometría de masas en tándem, redes y grupos moléculares	78
OR39	Laura Pont Villanueva	A novel approach for protein profiling and classification of food products based on MALDI-TOF-MS and chemometrics. Application to quinoa grains.	79
OR40	Nereida Pérez Lemus	Analytical method based on UAE-in situ-clean-up-LC-MS/MS for the determination of 60 PPCPs in sewage sludge samples	80
OR41	Sandra Martín Torres	Desarrollo de un modelo multivariable para la determinación del tiempo de vida útil de aceites vegetales refinados en condiciones forzadas	81
OR42	María Cerrato-Álvarez	Determinación on-site de NO ₂ en el aire ambiente mediante smartphone+APP para captura y análisis digital de imágenes.	82

7. XXIII Reunión de la SEQA: Posters 83

P33	Tamara Fernández Bautista	Análisis de Se y Hg en fracciones proteicas extraídas del músculo de pescados de consumo habitual. Evaluación de su unión a biomoléculas e interacción	85
P34	Beatriz Gómez Gómez	Identificación y caracterización de partículas de SiO ₂ y TiO ₂ en cacao en polvo y productos de confitería mediante TEM y spICP-MS. Evaluación de distintos tratamientos de muestra.	86
P35	José Fermín López Sánchez	Characterization musts, wines and sparkling wines based on their elemental composition determined by ICP-OES and ICP-MS	87
P36	Mario Domínguez García	Development of nanosensors for tyramine detection in food packages	88

P37	Agustina Guiberteau Cabanillas	Evaluación de antioxidantes en pasta de tomate mediante voltamperometría	89
P38	Agustina Guiberteau Cabanillas	Análisis voltamperométrico de compuestos fenólicos en las diferentes etapas de obtención del aceite de oliva virgen extra.	90
P39	Víctor Ruiz-Valdepeñas Montiel	Bioplataforma electroanalítica con sensibilidad modulable y sin amplificación de la diana para la detección de ácidos nucleicos de relevancia en seguridad alimentaria.	91
P40	Alejandra Arroyo Cerezo	Espectroscopia Raman con compensación espacial para el control no invasivo de productos alimenticios	92
P41	Evaristo Ballesteros	Trace-level determination of 14 phthalates in bottled water by solid-phase microextraction and high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry	93
P42	Evaristo Ballesteros	Simultaneous detection of phenolic compounds in dairy products by gas chromatography-mass spectrometry	94
P43	Noelia Caballero Casero	Cromatografía líquida bidimensional para la determinación simultánea de nucleótidos monofosfato y residuos de fármacos veterinarios en leche de oveja.	95
P44	Alegría Carrasco Pancorbo	Síntesis y caracterización de un polímero de impronta molecular para la extracción selectiva de p-cumárico de frutos de aguacate.	96
P45	Alegría Carrasco Pancorbo	Hass avocado samples from different production countries: How different are their LC-MS metabolic profiles?	97
P46	Antonia María Carro Díaz	Microextracción por difusión en fase gas en el análisis de productos secundarios de oxidación lipídica en alimentos.	98
P47	Adrián de la Fuente Ballesteros	Development and validations of a new method for determining acaricide residues in honey samples from different botanical origins by GC-MS.	99
P48	Jaime Domínguez Manzano	Aplicación de técnicas de procesamiento de imagen RGB en combinación con métodos quimiométricos para la caracterización del estado de maduración en ciruelas de la variedad Friar	100
P49	Isabel Durán Martín-Merás	Fluorescencia sensibilizada por lantánidos en combinación con herramientas quimiométricas para la determinación de oxitetraciclina en mieles	101

P50	Sergio Forcada Mazo	Caracterización preliminar del microbioma de la leche de tanque en explotaciones lecheras expuestas a diferentes grados de contaminación ambiental	102
P51	Sergio Forcada Mazo	Selección de normalizadores de la expresión diferencial de miARN en muestras de leche de tanque de ganaderías lecheras expuestas a diferentes grados de contaminación ambiental	103
P52	Rocío Galindo-Luján	Protein profiling of quinoa grains by liquid chromatography with ultraviolet absorption detection and chemometrics: a promising tool for food fraud prevention	104
P53	Rosa García Arrona	Determinación de ácido ascórbico en zumos de frutas y productos farmacéuticos mediante análisis de imagen digital	105
P54	Salvador Garrigues Mateo	Direct determination of γ -butyrolactone in beverages by infrared spectroscopy	106
P55	Esther Gómez Mejía	Convirtiendo las cáscaras de cítricos en productos de alto valor añadido: composición y estabilidad fenólica de extractos bioactivos frente a tratamientos de congelación y secado	107
P56	Antonio Jesús Maldonado-Reina	Transformation products and degradation kinetics of chlorantraniliprole: laboratory and field studies in tomato samples applying LC-HRMS and non-targeted analysis	108
P57	Miriam Medina García	Discriminación/Clasificación de chufas de distinto origen geográfico combinando técnicas cromatográficas y quimiométricas	109
P58	Antonio Molina-Díaz	Classification of different olive oil categories using ambient mass spectrometry	110
P59	Olga Monago Maraña	Cuantificación no destructiva de azúcares en manzanas mediante espectroscopía Raman.	111
P60	Romina Monasterio	Quantitative characterization of the phenolic compounds profile of Arauco virgin olive oil exposed to different storage conditions	112
P61	Romina Monasterio	Characterisation of the minor fraction of edible and cosmetic argan oils by LC-MS. Quantitative evaluation of saponins	113
P62	Luis Muñoz de Bustamante	Encapsulación de β -caroteno natural con SUPRASoleoresin-NLCs y su aplicación como ingrediente funcional en yogur	114
P63	Óscar Núñez	Characterization and classification of honey samples based on botanical varieties by HPLC-UV fingerprinting and profiling strategies	115

P64	Fidel Ortega Gavilán	Perfil de similitud cromatográfica: una metodología innovadora para la detección de mezclas fraudulentas de aceites de oliva vírgenes	116
P65	Laura Palacios Colón	Trace-level determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in dairy products available in spanish supermarkets by semi-automated solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry detection	117
P66	Christian Hazael Perez-Beltrán	Discriminación de Tequilas Blancos 100% agave y mixtos mediante espectroscopia Raman con compensación espacial y análisis multivariable	118
P67	Arrate Rivas Macho	Estabilidad oxidativa de aceites de origen vegetal y marino microencapsulados. Potencial aplicación al tratamiento de la obesidad infantil	119
P68	Sandra Rodríguez Varillas	Evaluation of antioxidant properties of carbon dots obtained from wasted green coffee beans	120
P69	Iván Romero Sánchez	Modelo de digestión in vitro para evaluar la bioaccesibilidad de las aflatoxinas B1, B2, G1 Y G2 presentes en arroz.	121
P70	Javier Saurina	Determination of biogenic amines and amino acids by liquid chromatography with pre-column derivatization. Application to the characterization of wine and cava by chemometric methods	122
P71	M. Laura Soriano Dotor	Puntos cuánticos de grafeno pasivados para la determinación y degradación de carbarilo presente en zumos de frutas	123
P72	María Vergara	Allergenic protein analysis in food by on-line aptamer affinity solid-phase extraction capillary electrophoresis-mass spectrometry	124
P73	María del Carmen Villegas-Álvarez	Desarrollo de un nuevo método analítico para foodómica basado en microextracción en fase líquida con fibra hueca (HF-LPME) asistido por ultrasonidos: aplicación a leche materna	125
P74	José Manuel Herrero Martínez	Aptamer-functionalized stir bar sorptive extraction for selective isolation, identification and determination of concanavalin A in food by mass spectrometry	126
P75	Ana Álvarez-Barrios	Efecto de la inflamación en la homeostasis de metales en un modelo celular de epitelio pigmentario de la retina	127
P76	Ana Arias-Borrego	Estudio del perfil metabólico y la composición elemental de la leche materna humana en madres con deficiencia de yodo	128
P77	Héctor Estévez Sánchez	Antimycobacterial effect of selenium nanoparticles on mycobacterium tuberculosis	129

P78	Beatriz Fernández García	Determinación y localización de proteínas específicas en células individuales empleando nanoclústeres de iridio como marca elemental mediante ICP-MS: "single cell" versus ablación láser	130
P79	Paula García Cancela	Detección de nanopartículas de cobre endógenas en esporas individuales de <i>Streptomyces coelicolor</i> y su efecto en el metabolismo secundario	131
P80	Paula García Cancela	Estudio del efecto protector del selenio nanoparticulado en la ferroptosis mediante ICP-MS	132
P81	Sara González Morales	Seguimiento del titanio iónico y nanoparticulado liberado in vivo a partir de desechos de implantes dentales metálicos utilizando (single particle)-ICP-MS	133
P82	Héctor González-Iglesias	Aplicaciones basadas en espectrometría de masas para el estudio de la homeostasis de metales en muestras biológicas de volumen limitado	134
P83	Lucía Gutiérrez Romero	Estudios in vivo e in vitro sobre la incorporación y toxicidad de nanopartículas de óxido de hierro ultrapequeñas	135
P84	Lara Lobo Revilla	Expresión génica y análisis isotópico en un modelo celular in vitro para investigar el rol del Zn como elemento protector frente a eventos inflamatorios asociados a enfermedades oculares neurodegenerativas	136
P85	Jaime Martínez García	Determinación de elementos traza en vesículas extracelulares: evaluación de diferentes sistemas de introducción de muestras en el ICP-MS para la comparación de células control con células sometidas a estrés oxidativo.	137
P86	Rosario Pereiro	Hacia la búsqueda de los patrones de calibración ideales para la cuantificación de proteínas específicas en células individuales con ablación láser acoplado a ICP-MS	138
P87	Alejandro Rodríguez-Penedo	Nanoclústeres de paladio como marca específica para la determinación bimodal GFAP en fluidos biológicos: detección electroquímica y por ICP-MS	139
P88	Andrés Suárez Priede	Caracterización de nanopartículas de CeO ₂ mediante la técnica de single particle ICP-MS para aplicaciones biomédicas	140

P89	Julio Bastos-Arrieta	Voltammetric determination of hydrochlorothiazide and caffeine as anthropogenic impact indicators	141
P90	Nielene María Mora Diez	Estudio voltamperométrico de tiramina en presencia de tirosina y triptófano	142
P91	Pablo Rioboó Legaspi	Innovative electroanalytical determination of SARS-CoV-2 and Streptococcus pneumoniae using Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP)	143
P92	Concepción Rodríguez Oñate	Glucose electrochemical biosensor based on copper nanoflowers	144
P93	Roberto Álvarez-Fernández García	Elucidation of the biomolecular mechanisms associated to the anti-tumoral effect of silver and selenium based nanosystems by untargeted metabolomics	145
P94	Guillermo Aragonese-Cazorla	A novel multifunctional nanosystem as potential chemotherapeutic agent against cancer: design, synthesis and bio-analytical characterization	146
P95	Julio Bastos-Arrieta	Application of spectroelectrochemical measurements in reflection cell to quantitative analysis: study of the Fe(II)/Fe(III) – 1,10-phenanthroline system	147
P96	Irati Berasarte	Determinación de riboflavina producida por bacterias lácticas mediante análisis de imagen digital	148
P97	Lidia Blasco Corchado	Determinación de anticuerpos en conjugados anticuerpo-fármaco mediante HPLC MS/MS para su uso en ensayos clínicos como terapia antitumoral.	149
P98	M. Pilar Buendía Nacarino	Combining transcriptomic and metabolomic approaches to evaluate the toxicity mechanisms associated to Ag nanoparticles exposure	150
P99	María Criptana Cabello Manjavacas	A PoCT system to for detection of 2-Heptyl-3-hidroxy-4(1H)-quinolone, the Pseudomonas quinolone signal, based on an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	151
P100	Javier Camacho Aguayo	Enzymatic generation of AuPt nanoparticles as an alternative to colorimetric biosensors. Application to the determination of tyramine	152
P101	Alexandru Cobzariu	Evaluation of circulating lncRNAs as diagnostic biomarkers for colorectal cancer screening	153
P102	Miguel del Nogal Sánchez	Fast methods based on mass spectrometry for peptide identification. Application to sex determination of human remains in tooth enamel	154

P103	Sara Escudero-Cernuda	Therapeutical potential of mesenchymal stem cells secretome from human uterine cervix on breast cancer therapy	155
P104	Francesc A. Esteve Turrillas	Metabolism of the TH-PVP synthetic cathinone using zebrafish larvae and embryonic acute toxicity	156
P105	María Teresa Fernandez del Campo García	Análisis cuantitativo rápido de aminoácidos en orina basado en el uso de una precolumna de protección directamente acoplada a un espectrómetro de masas	157
P106	Daniel Gallart-Mateu	Illness risk markers in urine of active smokers, non-smokers and vapers	158
P107	Patricia García Atienza	Development of a smoking simulation chamber for the evaluation of the inhalation uptake of synthetic cannabinoids	159
P108	Estefanía García Calvo	Mass spectrometry-based metabolomics for elucidating the toxicity mechanisms associated to ZnSe/ZnS quantum dots exposure	160
P109	Samuel García García	Determination without derivatization of monohydroxy polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine as biomarkers of PAH-exposed workers	161
P110	Diego García Gómez	Cromatografía líquida bidimensional (2D-LC) para la monitorización terapéutica conjunta del antiviral Favipiravir y sus metabolitos	162
P111	Tamara García-Barrera	Determinación simultánea de ácidos biliares, diclofenaco y sus principales metabolitos en hígado de mamíferos expuestos a cócteles químicos.	163
P112	Estela Giménez	Analysis of cancer biomarker glycans by capillary liquid chromatography-mass spectrometry	164
P113	Alberto Gómez Caballero	Peptide imprinted nanoparticles as anti-CB1 antibody substitutes for bioanalysis.	165
P114	Raúl González Domínguez	Aplicación de técnicas metabolómicas complementarias para estudiar el efecto de la ingesta de algas comestibles	166
P115	Iria González Mariño	Use of guard columns coupled to mass spectrometry as a fast screening methodology for the determination of plasticizer metabolites in urine	167
P116	Adriana González-Gago	Desarrollo de un método de referencia basado en dilución isotópica con doble trazador para la determinación de creatina y creatinina en suero humano mediante cromatografía bidimensional con detección por espectrometría de masas en tándem (2D-LC-ESI-MS/MS)	168

P117	Cristina Gutiérrez López	Insights on selenium nanoparticles disruption of hepatocarcinoma cells molecular pathways based on studies of targeted metabolomics by LC-Qq-Q-MS and non-targeted metabolomics by GC-TOF-MS.	169
P118	Andrea Lizette Larraga Urdaz	Estudio de los parámetros lumínicos de una fuente LED para terapia fotodinámica del cáncer de mama	170
P119	Ángel López Molinero	Determinación de tiramina y cadaverina mediante microfluidica en papel y generación de nanopartículas cromogénicas de Au	171
P120	Adrián Margüello Molina	Untargeted metabolomics to reveal the biomolecular mechanisms underlying rhodium nanoparticles-based photodynamic cancer therapy	172
P121	María Luisa Marina Alegre	Quantification of DL-2-hydroxyglutarate in clinical samples by an enhanced in-source fragmentation UPLC-TOF strategy	173
P122	María Pilar Martínez Moral	Evaluación de alteraciones en la salud del organismo analizando una muestra de orina: un set de 19 biomarcadores para la evaluación multiparamétrica del estado del estrés oxidativo, estrés nitrativo, inflamación y alteraciones metabólicas.	174
P123	Helena Mateos Cuadrado	L1CAM as neuronal extracellular vesicle's marker for biosensor applications	175
P124	Candela Melendreras	Turn-off luminescence sensors based on nano-MOFs to detect biogenic amines	176
P125	Jesús Nicolás Carcelén	Production of ¹⁵ N-enriched biomass from algae and characterization of labeled metabolites through an untargeted metabolomics workflow	177
P126	Javier Peña González	Development of a method for the determination of polyamines including N-acetylated forms in human saliva via benzylation and gas chromatography-mass spectrometry	178
P127	David Perez-Guaita	Point-of-care analysis of metabolic, proteic and cellular markers in urine using infrared spectroscopy	179
P128	Gabriel Pino-Peco	Lateral flow immunoassay for extracellular tumor marker detection	180
P129	María Isabel Rodríguez-Cáceres	Estudios mediante fluorescencia molecular de aminas biógenas aromáticas	181
P130	Ana Sayago	Metabolómica de alto rendimiento y amplia cobertura para la determinación de compuestos fenólicos en muestras alimentarias y biológicas	182

P131	L.M. Sierra	Influence of oncometabolites in the response to cisplatin induced DNA damage	183
P132	María Teresa Tena Vázquez de la Torre	Estudios volatolómicos en suero y orina para la identificación de biomarcadores de diagnóstico de cáncer de páncreas y el seguimiento de la evolución de la enfermedad	184
P133	María Teresa Tena Vázquez de la Torre	Determinación simultánea de los biomarcadores de estrés oxidativo 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina y malondialdehído en muestras de suero. Aplicación a un estudio de estrés oxidativo inducido en ratones	185
P134	David Vicente-Zurdo	Novel BIM-RIV hybrids as promising multitarget compounds for the potential treatment of Alzheimer's disease	186
P135	Mario Corte Rodríguez	Estudio comparativo del comportamiento de un nuevo nebulizador irrompible para ICP-MS. Uso en múltiples condiciones para análisis por ICP-MS.	187
P136	Juan Francisco García Reyes	Understanding the desorption step in dielectric-barrier discharge (DBD)-based ambient MS methods through a quantitative approach	188
P137	M ^a Soledad Medina Vázquez	¿Es posible independizar el perfil cromatográfico del estado del cromatógrafo? Hacia la "agnostización" de señales instrumentales en cromatografía de gases	189
P138	Diana Morán Tuya	Synthesis and characterization of controlled size starch nanoparticles modified with octenyl succinic anhydride (OSA)	190
P139	Carlos Pagan-Galbarro	Desarrollo de nuevas fases estacionarias basadas en impresión 3D para la determinación de ácidos perfluoroalquílicos de cadena corta	191
P140	Lidia Redón	Assessment of the water adsorption capacity of HILIC columns	192
P141	Xavier Subirats	Characterization of HILIC systems: modelling retention and selectivity in an underivatized silica column	193
P142	María José Ruiz Ángel	Reversed-phase liquid chromatography with micellar mobile phases of sodium dodecyl sulphate and ionic liquid	194
P143	Xavier Subirats	Characterization of HILIC systems: pH and buffer capacity in acetonitrile-rich mobile phases	195
P144	Carlos Josué Tereba Mamani	Modelling the retention behavior in the transition from reversed-phase liquid chromatography to submicellar and micellar liquid chromatography	196

P145	Nora Unceta Zaballa	Cerámicas, un carcelero que nos ayuda a contar las costumbres del ser humano. Productos de consumo identificados en recipientes del neolítico y la edad del Bronce de las cuevas redil de El Mirador (Sierra de Atapuerca, Burgos) y Vallone Inferno (Scillato, Sicilia)	197
P146	Olga Valencia García	Aplicación del concepto de entropía a la evaluación de modelos de clase con más de 2 clases	198
P147	Olga Valencia García	Soft multivariate calibration models based on relative errors	199
P148	Lucía Abad-Gil	Determination of parabens in cosmetic products by HPLC with amperometric detection using disposable screen-printed carbon-based electrodes	200
P149	Cristian Azorín	Trace determination of tetrahydrocannabinol (THC) in cosmetic products by stir bar sorptive dispersive microextraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry	201
P150	José Manuel Díaz Cruz	Data fusion of optical and chromatographic fingerprints for the authentication of herbal medicines	202
P151	Francesc A. Esteve Turrillas	Analytical strategy for the double confirmation of new psychoactive substances in seized material	203
P152	Daniel Gallart-Mateu	Double confirmation of new psychoactive substances in seized blotters	204
P153	Salvador Garrigues Mateo	Fast discrimination of recreational and non-recreational marijuana by near infrared spectroscopy and chemometrics (PLS-DA-NIR)	205
P154	María Elena Hergueta Castillo	Investigación de co-formulantes en diferentes tipos de formulados de productos fitosanitarios mediante análisis no dirigido usando LC-HRMS	206
P155	Eliseo Herrero Hernández	Determinación de aminoglucosidos en formulaciones farmacéuticas y en suero mediante cromatografía líquida de pares iónicos	207
P156	José Manuel Herrero Martínez	Metal-organic frameworks as solid-phase sorbents for the isolation of third-generation synthetic cannabinoids in oral fluids using HPLC with fluorescence detection	208
P157	Miguel Muñoz Bartual	Development of paper-based molecularly imprinted polymers by laser pointer activation for methamphetamine extraction	209

P158	Natalia Novo-Quiza	Validación de un método VALLME y PTV-GC-MS/MS para la estimación de la fracción bioaccesible inhalatoria de compuestos orgánicos presentes en el material particulado atmosférico (PM2.5).	210
P159	Guillem Peris-Pastor	Métodos analíticos simples y rápidos para la determinación de vitaminas en productos cosméticos mediante cromatografía de líquidos con detección ultravioleta	211
P160	Ángel Ríos Castro	Síntesis y control analítico de nano-formulaciones de coenzima Q10	212
P161	Víctor Vállez-Gomis	Stir bar sorptive-dispersive microextraction by a poly(methacrylic acid-co-ethylene glycol dimethacrylate)-based magnetic sorbent for the determination of tricyclic antidepressants and their main active metabolites in human urine	213
P162	Carlos Bendicho Hernández	Trapping of volatile covalent hydrides onto cellulose/silver nanocomposites for ICP-MS determination	214
P163	Pilar Bermejo Barrera	Diseño de fases estacionarias para la separación de nanopartículas de plata mediante cromatografía hidrodinámica y detección por ICP-MS	215
P164	Beatriz Gómez Nieto	Optimization of a slurry sampling method for the fast determination of trace, minor, and mayor elements in construction materials by High Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry	216
P165	Isela Lavilla	Sonochemical synthesis of Fe ₃ O ₄ -PbS nanocomposites and simultaneous extraction of Pb(II) in water samples followed by electrothermal atomic absorption spectrometry determination	217
P166	Rosa Carmen Rodríguez Martín-Doimeadios	Potentials and limits of electrical asymmetrical flow field-flow fractionation with a multi-detector array platform for the characterization of metallic nanoparticles	218
P167	Javier Terán Baamonde	Interaction of metals with microplastics derived from biopolymers in marine environment	219
P168	José Manuel Andrade Garda	Variable selection and support vectors machine to identify polymer pollution	220
P169	M.M. Arce	How to explore a ternary mixture diagram to optimize the gradient profile for the separation of four primary aromatic amines by means of HPLC-FLD	221

P170	M.M. Arce	Combination of a HPLC-FLD method with PARAFAC2 decomposition for the determination of four primary aromatic amines in paper napkins	222
P171	Marina Arenas Molina	Método analítico para la determinación enantioselectiva de fármacos y metabolitos quirales en matrices ambientales sólidas mediante LC-MS/MS	223
P172	Sofía Barreales-Suárez	Identificación de metabolitos de carbamazepina en plantas silvestres sometidas a ensayos de exposición.	224
P173	Irene Caño-Carrillo	Comprehensive analysis of polar and multiresidue-type pesticides using 2D-LCMS	225
P174	Enrique Javier Carrasco Correa	3D printed immunoaffinity sorptive optosensor for determination of microcystin-LR in seawater	226
P175	Miguel Cobo Golpe	Estimation of the concentrations of semi-volatile compounds in indoor air through analysis of water condensates	227
P176	Rafael de Fátima Vélez-Vélez	Determinación de subproductos de desinfección en agua tratada por ozonización mediante microextracción en fase líquida de fibra hueca y cromatografía de gases acoplada a detector de captura de electrones	228
P177	Omaira de la Hera Fernández	¿Es efectivo el CO2 como atmosfera protectora de cebos proteicos para el control de la especie invasora Vespa velutina?	229
P178	Paloma de Oro Carretero	Determinación de contaminantes orgánicos persistentes y sus metabolitos mayoritarios en líneas celulares y larvas de pez cebra para estudios de metabolización	230
P179	María Jesús Dueñas Mas	Microextracción con disolventes supramoleculares (SUPRAS) contenidos en sondas de vidrio para la detección ultrarrápida de bisfenoles mediante espectrometría de masas ambiental	231
P180	Victoria Fernández Fernández	Automated determination of multiclass micropollutants in surface water samples by liquid chromatography tandem mass spectrometry on-line combined with solid-phase extraction	232
P181	Juan Francisco García Reyes	Dielectric barrier discharge ionization mechanisms: polycyclic aromatic hydrocarbons as case of study	233
P182	Mireya Granados Povedano	Aplicación de GC-Q-Exactive ORBITRAP en la identificación y cuantificación de coformulantes en hojas de planta de tomate y suelo	234

P183	Mireya Granados Povedano	Búsqueda de coformulantes mediante HS-SPME-GC-HRMS en hoja de tomate de cultivo hidropónico y agua del sistema de fertirriego	235
P184	María Amparo Hernández García	Colorimetric μ TPAD for cyanide determination	236
P185	Félix Hernández Hernández	Preliminary assessment of pharmaceuticals occurrence in urban wastewaters and surface waters from Peru: proposals for future monitoring and environmental risk assessment	237
P186	Jorge Lejo Santiago	Development of a green multiresidue method for the analysis of organophosphorous flame retardant (OPFRS) in seawater	238
P187	Ángel López Molinero	Determinación rápida no enzimática de formaldehído mediante generación de nanopartículas de Au con lectura de imágenes digitales	239
P188	María Loreto Lunar Reyes	Síntesis y caracterización de bio-disolventes supramoleculares a partir de monoglicéridos	240
P189	Carmen Mejías Padilla	Determinación de antibióticos y metabolitos por LC-MS/MS en heces de aves migratorias como herramienta para evaluar su exposición	241
P190	S. Muniategui Lorenzo	Examining silver nanoparticles biosynthesis for the determination of pyrogallol in rainwater	242
P191	José Antonio Murillo Pulgarín	Determinación simultánea de carbaril y tiabendazol mediante fluorescencia en proyección angular	243
P192	Mónica Palomino Vasco	Resolución de una mezcla binaria de hidrocarburos aromáticos policíclicos mediante fluorescencia molecular y métodos quimiométricos de primer orden	244
P193	María Isabel Rodríguez-Cáceres	Estudios mediante fluorescencia molecular de los pesticidas clotianidina y tiametoxam	245
P194	Cristina Román Zas	Characterisation of tyre and road wear particles (TRWP), major source of microplastics, by spectroscopic methods. Application to environmental samples.	246
P195	Joel Sánchez-Piñero	Análisis de diversos contaminantes orgánicos en material particulado atmosférico (PM _{2,5}) de un entorno industrial del arco atlántico	247
P196	Lourdes Algar Zafrá	Formación de enlaces CH- π : un mecanismo eficaz para la extracción con disolventes supramoleculares de hidrocarburos policíclicos aromáticos en suelos	248
P197	José Bernal del Nozal	Enantioselective separation of anticoagulant rodenticides by using supercritical fluid chromatography	249

P198	Jorge Bintanel Cenis	Extraction of PCBs from fatty matrices using deep eutectic solvents	250
P199	María de los Santos-Martín	Extracción asistida por ultrasonidos de compuestos fenólicos de hojas de arándano utilizando disolventes eutécticos profundos naturales (NADES) para la valorización de residuos agroalimentarios	251
P200	Victoria Fernández Fernández	Selective extraction and determination of basic micropollutants in sludge from municipal sewage treatment plants	252
P201	José Grau	Low toxicity deep eutectic solvent-based ferrofluid as a green approach for the determination of UV filters in environmental waters by stir bar dispersive liquid microextraction	253
P202	María Elena Hergueta Castillo	Estudio de la estabilidad de disoluciones patrón y de trabajo para la determinación cuantitativa de fungicidas triazólicos empleando técnicas ortogonales (LC-HRMS y NMR)	254
P203	Helmut Ernstberger	Novel possibilities for interference removal using multi-quadrupole ICP-MS	255
P204	Pablo Fanjul-Bolado	Monitorización electroquímica de la permeación de hidrógeno a través de diferentes láminas de hierro	256
P205	Francisco Laborda García	Analytical applications in consumer products of the particle collision electrochemical methods in the detection, size characterization and quantification of metallic nanoparticles	257
P206	María Celia García Álvarez-Coque	Non-conventional solvents formed by surface active ionic liquids	258
P207	Pablo Fanjul-Bolado	Método electroquímico cinético para la detección de mezclas de especies electroactivas utilizando electrodos serigrafados	259
P208	Rafael Lucena Rodríguez	Potencial de palillos de madera prelavados como sorbentes en bioanálisis	260
P209	Arturo Soria Soria	Comparison of accelerated solvent extraction method with modern and conventional methods for recovery and quantification of phytobiotics in broiler feed	261
P210	Edward Charles Baker	3D printed device for off-line solid-phase extraction of chlorophenols combined with microchip capillary electrophoresis	262
P211	Juan L. Benedé	Nanomaterials in microextraction techniques for the determination of cosmetic-related compounds	263

P212	Estefanía Costa Rama	Micropipette tips as multifunctional low-cost tools for electroanalytical (bio)sensing	264
P213	Soledad González Rubio	Cubosomic supramolecular solvents: synthesis, characterization, and potential for high-throughput multiclass testing of banned substances in urine	265
P214	Guillermo Lasarte-Aragonés	Paper-supported DES as sorbent material: synthesis and application in microextraction	266
P215	María del Pozo Vázquez	Nanopuntos de dicalcogenuros de metales de transición en el desarrollo de sensores ópticos	267
P216	José Manuel Díaz Cruz	Oxidized 2D layered black phosphorus: a new approach to enhance the voltammetric performance of sensors	268
P217	Isabel Sanz Vicente	Biosensores enzimáticos desechables para la determinación simultánea de histamina e histamina/tiramina usando un smartphone	269

8. Jornada docente: Conferencias invitadas 271

ILD1	Alberto Gómez Caballero	Adaptación de la asignatura Química Analítica a la enseñanza basada en metodologías activas en distintos grados impartidos en la Facultad de Farmacia de la Universidad del País Vasco: debilidades y fortalezas	273
ILD2	Asier Vallejo	Herramientas didácticas para promover el aprendizaje activo y favorecer la interactividad y dinamización del aula	274

9. Taller de la Jornada docente 275

10. Jornada docente: Presentaciones orales 279

ORD1	Xavier Subirats	La clase inversa (presencial o virtual) como estrategia de enseñanza-aprendizaje en asignaturas de Química Analítica	281
ORD2	Josu Lopez-Gazpio	Enseñanza online de la Química Analítica: nuevas oportunidades tras el confinamiento por COVID-19	282
ORD3	Óscar Núñez	Aprendizaje basado en el estudio de casos en la asignatura experimental Laboratorio de Química Analítica para la mejora de competencias profesionalizadoras.	283

ORD4	Alberto Escarpa	La enseñanza de la Química (Analítica) en el Grado de Criminalística: Ciencias y Tecnologías Forenses	284
ORD5	Soledad Cárdenas Aranzana	Aprendizaje basado en fenómenos para la adquisición de competencias experimentales	285
ORD6	Emma Gracia-Lor	ODS y Química Analítica: el papel de la divulgación científica como herramienta para concienciar sobre el desarrollo sostenible	286

11. Jornada docente: Posters 287

P7	Lucía Abad-Gil	Los recursos audiovisuales como herramienta de refuerzo en la docencia de las prácticas de laboratorio	289
P8	José Manuel Andrade Garda	¿Y si los alumnos pusieran los exámenes?	290
P9	Fernando Benavente	Acercar el laboratorio al aula y el aula al laboratorio para la mejora de los aprendizajes y las competencias	291
P10	José Bernal del Nozal	BYOD como herramienta de gamificación para mejorar el aprendizaje de una asignatura experimental en Grado de Química	292
P11	Alegría Carrasco Pancorbo	El "arte" de evaluar: reflexión acerca de los diferentes sistemas de evaluación y su aplicación en Química Analítica	293
P12	Antonia María Carro Díaz	Recursos didácticos en la enseñanza-aprendizaje en modo semi-presencial	294
P13	Estefanía Costa Rama	Otros contenidos para la docencia de la Química Analítica: evolución de la Química Analítica a través de las propiedades de los dispositivos y metodologías analíticas	295
P14	José Manuel Díaz Cruz	Implementación de electrodos serigrafados en laboratorios de docencia de Química Analítica	296
P15	Jaime Domínguez Manzano	Impacto de nuevas alternativas de entrega académica: implementación en entorno e-learning de ejercicios de Química Analítica	297
P16	María Teresa Fernández-Abedul	Contenidos para la enseñanza de la Química Analítica: Fuerza y vulnerabilidad de la Química Analítica	298
P17	Rosa García Arrona	Derribando mitos con ciencia	299
P18	Estela Gimenez	Metodologías de aprendizaje basado en la resolución de problemas y evaluación formativa i acreditativa para favorecer el aprendizaje en la asignatura de Laboratorio de Química Analítica	300

P19	Esther Gómez Mejía	Experiencias de laboratorio basadas en la Química Analítica para fomentar el interés de los alumnos de secundaria en el ámbito STEM	301
P20	Adriana González-Gago	El laboratorio invertido y su aplicación a las prácticas de química en el Grado en Ingeniería en Tecnologías Industriales de la Universidad de Oviedo	302
P21	María del Mar López Guerrero	Aprendizaje basado en problemas (ABP) para motivar a estudiantes de ingeniería, determinando la calidad del vinagre en el laboratorio	303
P22	Rafael Lucena Rodríguez	Presentaciones póster: herramienta para la evaluación y comunicación de los resultados de prácticas de laboratorio en química analítica.	304
P23	Rebeca Miranda Castro	Evaluación colaborativa entre pares aplicada a la elaboración de los informes de laboratorio.	305
P24	Romina Monasterio	Reflexiones acerca de cómo lograr un aprendizaje significativo de los distintos tipos de calibración metodológica	306
P25	Nielene María Mora Díez	Clase al revés con estudiantes de 1º de Grado	307
P26	Óscar Núñez Burcio	Aula invertida como estrategia de aprendizaje activo para mejorar la selección de métodos de calibración en estudiantes de la asignatura Análisis Instrumental	308
P27	María Pedrero	Innovar, atraer y disfrutar con la enseñanza y el aprendizaje de la Química, objetivo del Dpto. de Química Analítica de la UCM	309
P28	David Pérez Guaita	Introducción a la programación de aplicaciones para el análisis multivariante en el laboratorio de química analítica	310
P29	Eduardo Pinilla-Gil	Aplicación de una macro para cálculo de incertidumbres en una práctica de campo y laboratorio sobre determinación de ozono en el aire ambiente	311
P30	María Teresa Tena Vázquez de la Torre	Interacción profesor-estudiante y estudiante-estudiante mediante mini-videos para enseñar y aprender Química Analítica	312
P31	Javier Terán Baamonde	La herramienta Kahoot! más allá del aula	313
P32	Nora Unceta Zaballa	Incorporación de los objetivos de desarrollo sostenible en el diseño curricular de la Química Analítica	314

Jornada de especiación

Conferencias invitadas





A Metrological approach towards absolute quantification of protein biomarkers of metal metabolism disorders

Heidi Goenaga Infante

LGC Limited, Queens Road, Teddington, Middlesex, TW11 0LY, United Kingdom

The global metabolic disorders drugs market is expected to grow from \$143 billion in 2020 to \$146 billion in 2021 at a compound annual growth rate (CAGR) of 2.2%. The market is expected to reach \$198 billion in 2025 at a CAGR of 8% [1]. In particular, metal metabolism disorders (MMD) are those with genetic origin and, for which the functions and levels of physiologically relevant metals in the blood are controlled by specific proteins. Inherited metabolic disorders can result in protein malfunction and therefore, deficiency or toxic accumulation of metals in the body. There are several examples of MMD, of which Wilson's disease (toxic copper levels accumulate in the liver, brain, and other organs) and hemochromatosis (the intestines absorb excessive iron, which builds up in the liver, pancreas, joints, and heart) are very important with regards to metal accumulation/toxicity [1,2]. Diagnosis usually involves gene mutation testing, clinical observations and bio-chemical testing [e.g. non Ceruloplasmin (CER)-bound Cu or exchangeable Cu for Wilson's disease and total blood Fe, serum Ferritin (light chain) for hemochromatosis].

In Wilson's disease, exchangeable Cu (CuEXC) is currently measured by nephelometry as the amount of total Cu minus that of CER-bound Cu. The main limitation of this test lies in the inaccuracy of measuring CER by immunological methods not able to distinguish between the apo-CER and the active holo-CER, thus leading to biased results. In Fe disorders, Ferritin is the main storage protein for iron in tissues and is engaged in its uptake, accumulation and release in cells. The level of serum Ferritin directly reflects the level of stored iron and is normally quantified using an antibody test that detects the Ferritin protein, to diagnose iron-related disorders like hemochromatosis. For Ferritin determination, the WHO, which revised its global guidelines for the use of Ferritin thresholds in patient groups with iron deficiency and those at risk of iron overload, recognises that there is no specific recommendation on variability among analytical methods and commutability. From the foregoing account, there is an urgent need for reference methods for the quantification and identification of biochemical markers used for the early diagnosis and treatment monitoring of MMD. This lecture will demonstrate the potential of novel Metallomic approaches based on the combination of plasma Cu protein speciation and tissue multi-element imaging to monitor both CuEXC and effects of chelating therapy in Wilson's disease patients. It will also describe first efforts to produce natural and an isotopically-enriched sulphur standards of light human ferritin towards isotope dilution quantification of such biomarker species in human serum.

[1] M. Umair, M. Alfadhel, Cells, 2019, 8, 1598.

[2] C. R. Ferreira, W. A. Gahl, Trans. Sci. Rare Diseases, 2017, 2, 101.



ABORDANDO LA COMPLEJIDAD DE LA INTERACCIÓN DE METALES Y NANOPARTÍCULAS METÁLICAS CON SISTEMAS VIVOS MEDIANTE TÉCNICAS-ÓMICAS

José L. Luque García

Departamento de Química Analítica, Universidad Complutense de Madrid.

La contaminación de los ecosistemas y la exposición a metales tóxicos es una de las principales preocupaciones en todo el mundo. Algunos de estos metales se encuentran ubicuamente en el medio ambiente debido a su liberación en cantidades sustanciales como consecuencia de actividades geológicas y/o impactos antropogénicos. A pesar de que algunos de estos metales son micronutrientes esenciales a bajas concentraciones, pueden causar una amplia gama de efectos nocivos en exceso. Además, en los últimos años, las nanopartículas (NPs) han recibido una gran atención por su uso y aplicabilidad en muchos nuevos productos. Una estimación reciente sugiere que actualmente hay en el mercado más de 1.000 productos de consumo que contienen NPs, muchas de las cuales son NPs metálicas, por lo que cada vez los niveles de exposición a estas NPs son más elevados.

La mayoría de los estudios realizados hasta ahora para evaluar la toxicidad de metales y NPs metálicas se han centrado en el desarrollo de métodos analíticos para la determinación de especies tóxicas en diferentes muestras, como suelos contaminados, aguas y tejidos vegetales y animales, utilizando principalmente técnicas de análisis elemental como la espectroscopia atómica de absorción y emisión; siendo hoy en día la espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) la técnica analítica más ampliamente usada para el análisis simultáneo y multielemental, así como con fines de especiación. Sin embargo, poco se ha hecho para comprender los mecanismos moleculares que subyacen a la toxicidad de los metales y la forma en que interactúan con sistemas vivos.

El conocer estos mecanismos de interacción es importante no sólo desde el punto de vista toxicológico, sino también desde el punto de vista biomédico. Las propiedades citotóxicas de metales y NPs metálicas se emplean en la actualidad, de forma controlada, para el tratamiento de determinadas enfermedades. Tal es el caso, por ejemplo, de compuestos de Pt que se usan en clínica como terapia antitumoral; o de las NPs de Ag, usadas como agente bactericida.

En esta conferencia se discutirá el papel de las tres grandes técnicas ómicas: genómica, proteómica y metabolómica, como complemento a otras técnicas analíticas para el estudio de la interacción de metales y NPs metálicas con sistemas vivos a nivel molecular [1]. Se pondrá de manifiesto la utilidad de estas técnicas para descifrar los mecanismos biomoleculares responsables de los efectos tóxicos observados [2], y las posibilidades para regularlos con fines terapéuticos [3]. Se prestará especial atención a las particularidades de los tres grupos de biomoléculas, y a cómo dichas diferencias condicionan la estrategia analítica a emplear, especialmente desde el punto de vista instrumental. Finalmente, se presentarán ejemplos seleccionados con objeto de demostrar la necesidad de estas técnicas para obtener una visión completa y global sobre la toxicidad y el potencial biomédico asociado a las especies metálicas.

[1] J.L. Luque-García, P. Cabezas-Sánchez, C. Cámara (2011) *Trends Anal. Chem.* 30, 703.

[2] M.N. Fernández, R. Muñoz-Olivas, J.L. Luque-García (2019) *Nanotoxicology*, doi:10.1080/17435390.2019.1579374.

[3] S. Montalvo-Quiros, G. Aragonés-Cazorla, L. García-Alcalde, M. Vallet-Regí, B. González, J.L. Luque-García (2019) *Nanoscale* 11, 4531.

Jornada de especiación

Presentaciones orales





New instrumental capabilities of Multi-Quadrupole ICP-MS help advancing nanomaterials characterization and medical applications of Single-Cell ICP-MS

Helmut Ernstberger, .

PerkinElmer, n/a, n/a, Viale dell'Innovazione, 3, 20125, Milano, helmut.ernstberger@perkinelmer.com

The advent of Multi-Quadrupole technology has enabled the highest levels of interference control in ICP-MS. In this contribution the current capabilities of nanoparticle characterization by ICP-MS are reviewed and the performance advantages using Multi-Quadrupole ICP-MS are outlined. Employing ICP-MS to study the distribution of elements in single cells has received increasing attention in the medical field. Possible advances in the field of Single-Cell ICP-MS linked to Multi-Quadrupole capabilities will be discussed.

..



Nanomateriales en alimentación animal: Especiación de plata en la digestión gastrointestinal de cerdos

Mariam Bakir Laso, Khaoula Ben Jeddou, M^a Sierra Jiménez, M^a Teresa Gómez, Francisco Laborda.

Universidad de Zaragoza, Instituto Universitario de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón (IUCA), Grupo de Espectroscopía Analítica y Sensores (GEAS), Pedro Cerbuna 12, 50009, Zaragoza, mbakir@unizar.es

Durante años, los antibióticos se han utilizado como aditivos en alimentación animal para prevenir la incidencia de enfermedades infecciosas y mejorar los rendimientos de producción. Sin embargo, esta práctica causa la retención de antibióticos en los tejidos animales y su incorporación a la cadena alimentaria, con implicaciones en el desarrollo de resistencias a antimicrobianos. Por esta razón, la Unión Europea prohibió su uso como aditivos alimentarios en ganadería en 2003 [1]. Desde entonces, se han estudiado numerosas sustancias con propiedades similares a los antibióticos, demostrándose que la plata (tanto iónica como en forma de nanopartículas metálicas (AgNPs)) puede ser una buena alternativa a estas sustancias, debido a sus propiedades antimicrobianas [2,3].

En este trabajo se ha estudiado la evolución de un nanomaterial a base de nanopartículas de plata metálica depositadas en micropartículas de caolín a lo largo el proceso digestivo gastrointestinal, hasta su eliminación en heces y purines de cerdos. Las distintas etapas del proceso de digestión se han simulado *in vitro*, mientras que las heces y purines han sido obtenidos a partir de un experimento *in vivo* con cerdos alimentados con piensos que contenían el nanomaterial a base de plata y caolín como aditivo. Además, se ha estudiado la acumulación de Ag en distintos tejidos de cerdos (músculo, hígado y riñón) con el objetivo de conocer la seguridad en su consumo por parte de los humanos.

Para la especiación de plata en los extractos del proceso de digestión y en heces se ha utilizado single particle-ICP-MS, cromatografía hidrodinámica acoplada a ICP-MS y microscopía electrónica de transmisión. Además, el contenido total de Ag en los distintos extractos del proceso de digestión, tejidos, heces y purines se ha determinado por ICP-MS. Se ha observado que entre el 8-13 % de la plata total se libera en la etapa intestinal (fracción biodisponible), siendo en su mayor parte Ag (I). No se observaron acumulaciones significativas en músculo y riñón (<0.1 y 0.064 ± 0.039 mg kg⁻¹, respectivamente) siendo algo superiores en hígado (0.39 ± 0.31 mg kg⁻¹). La mayor parte de la Ag se eliminó a través de las heces, mayoritariamente en forma de Ag (I) (97%). Las partículas de plata detectadas en heces presentaron tamaños entre 20-40 nm con composiciones que ponen de manifiesto transformaciones a lo largo del proceso digestivo.

[1] Unión Europea, Reglamento (CE) 1831/2003, 2003., [2] T.C. Dakal, A. Kumar, R.S. Majumdar, V. Yadav, Front. Microbiol. 7 (2016) 1-17., [3] M. Fondevila, R. Herrero, M.C. Casallas, L. Abecia, J.J. Duchá, Anim. Feed Sci. Technol. 150 (2009) 259-269.



Speciation of silver in feces and manure from chickens fed with a silver-based nanomaterial

Khaoula Ben Jeddou, Mariam Bakir, María S. Jiménez, Francisco Laborda

Universidad de Zaragoza, Instituto Universitario de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón (IUCA), Grupo de Espectroscopia Analítica y Sensores (GEAS), Pedro Cerbuna, 12, 50009 Zaragoza, khaoula@unizar.es

Globally, the poultry industry has seen an increased production due to the high demand for chicken meat and eggs. Seeking an improvement of the poultry sector, additives such as antibiotics were used in the past to reduce the risk of pathogens in chickens and to ensure their healthy growth. The excessive use of antibiotics is producing the so-called “antimicrobial resistance” and led to the banning of the non-therapeutic use of antibiotics in animal production from 2003. Thus, the investigation of new antimicrobial agents to replace antibiotics is of great interest. In this context, silver (Ag) in its different forms has been used as a food additive acting as an antimicrobial agent[1]. In this study, an in vivo experiment involving 870 chickens fed with a feed containing a metallic silver-based nanomaterial for a period of 6 weeks was carried out. The objective was to study the accumulation of silver in different tissues of the chickens (liver and muscles) and its excretion through the feces. Results have shown that silver did not accumulate in muscle tissues. Liver tissues showed concentration of ca. 1 mg kg⁻¹ when the animals were slaughtered after finishing the feeding period with the silver additive, being reduced to less than 0.4 mg kg⁻¹ after an elimination period of 1 week. The contents of silver in feces and manure were 75 and 30 mg kg⁻¹, which confirms that most of silver was excreted.

In order to study the potential environmental impact of manure from chickens fed with the silver based additive, the different silver species in the chicken feces and manure, as well as the silver released by leaching were studied using different techniques (ICP-MS, single particle-ICP-MS and Hydrodynamic Chromatography coupled to ICP-MS). Feces and manure, collected from the large intestine and ground stock-yards, respectively, were subjected to water leaching following the procedure developed by Kosson et al.[2] Moreover, different extraction methods, namely tetramethyl ammonium hydroxyde (TMAH) and tetrasodium pyrophosphate (TSPP) in combination with Na₂S, were applied to extract different silver species present in the samples. The amount of silver leached from feces and manure accounted for 6 and 5 mg kg⁻¹, respectively, with ionic silver being the most abundant species, although Ag containing particles were also detected. Results of TMAH and TSPP/Na₂S extractions revealed that most of the silver present in feces and manure was in the form of ionic silver (81% of the extracted silver). TSPP/Na₂S extraction revealed the presence of different Ag-containing nanoparticles: metallic Ag (12%), AgCl (4%) and Ag₂S (3%), suggesting the transformation of metallic silver nanomaterial during the gastro-intestinal digestion process.

[1] M. Fondevila, Potential use of silver nanoparticles as an additive in animal feeding. Silver nanoparticles (2010) 325–334.

[2] D.S. Kosson, H.A. Van Der Sloot, F. Sanchez & A.C. Garrabrants, An Integrated Framework for Evaluating Leaching in Waste Management and Utilization of Secondary Materials. Environmental Engineering Science (2002) 19(3), 159–204.



Estudio de biomoléculas y especies con Se en fracciones proteicas (sarcoplasmáticas, miofibrilares y álcali-solubles) de pescados de consumo frecuente mediante HPLC-UV-ICP-MS y HPLC-ESI-MS/MS.

Tamara Fernández Bautista, Beatriz Gómez Gómez, Roberto Palacín García, Emma Gracia Lor, Teresa Pérez Corona, Yolanda Madrid Albarrán.

Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Avenida Complutense s/n, 28040, Madrid, tamarf02@ucm.es

El pescado es un alimento de gran consumo que constituye una de las principales fuentes de proteínas de alta calidad en nuestra dieta [1], además de aportar importantes micronutrientes. Por ello, conocer en profundidad qué elementos esenciales aporta, o si puede verse afectado por la presencia de algún compuesto tóxico, resulta de gran relevancia para preservar la salud de los consumidores. Entre los elementos que los peces pueden acumular en sus tejidos musculares se encuentra el selenio. El selenio (Se) es un elemento traza considerado un micronutriente esencial para los organismos vivos y con importantes propiedades antioxidantes, asignándosele incluso un papel preventivo frente a ciertos cánceres o a enfermedades de carácter inmunológico, como el VIH [2]. La principal fuente de obtención de Se en humanos es a través de la dieta, sobre todo a través de la ingesta de pescado. De forma general, el Se se puede encontrar en los alimentos en distintas formas químicas: Se(IV), Se(VI) o en forma de selenoaminoácidos como la selenometionina (SeMet), selenocisteína (SeCys) y la selenometilselenocisteína (SeMeSeCys), que dan lugar a las selenoproteínas. Su concentración y la forma química en la que se encuentre pueden afectar a su biodisponibilidad, acumulación y toxicidad, siendo las especies inorgánicas más tóxicas que las especies orgánicas [3].

En este trabajo se ha investigado, por primera vez, la distribución de Se unido a biomoléculas mediante SEC-UV-ICP-MS en distintas fracciones proteicas (sarcoplasmáticas, miofibrilares y álcali-solubles) extraídas del músculo (parte comestible) del atún, pez espada y salmón (piscifactoría vs. salvaje). Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto que este analito se encuentra unido a biomoléculas de bajo peso molecular, en torno a unos 8 kDa, para todas las fracciones proteicas de todos los pescados analizados. Además, se llevaron a cabo estudios de especiación de Se de las hidrólisis enzimáticas de las distintas fracciones proteicas, así como de las proteínas solubles extraídas de todos los pescados objeto de estudio, mediante HPLC-ICP-MS y, por primera vez, confirmados por HPLC-ESI-MS/MS. En todos los casos se confirmó la presencia de SeMeSeCys y, además, en las proteínas solubles del atún se identificó también SeMet.

Agradecimientos:

Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2020-114714RB-100), Comunidad de Madrid y fondos europeos FSE y FEDER (S2018/BAA-4393, AVANSECAL-II CM).

[1] J. Burger et al., *Sci. Total Environ.* 443 (2013) 278-286, [2] Heras et al., *Anal. Bioanal. Chem.* 400 (2012) 1717-1727, [3] F. Gosetti et al., *Food Chem.* 105 (2007) 1738-1747



CENTRIFUGAL ULTRAFILTRATION AS A PRE-CONCENTRATION PROCEDURE FOR ASSESSING Ag AND TiO₂ NPs IN URINE

Ana Justo Vega, Lidia Janza Candal, Raquel Domínguez González, Pilar Bermejo Barrera, Antonio Moreda Piñeiro.

Santiago de Compostela, Facultad de Química, Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Avenida das Ciencias, s/n, 15782, Santiago de Compostela, ana.justo.vega@rai.usc.es

The widespread use of nanoparticles (NPs) in many industrial sectors, such as the food and cosmetic industry, has led to a growing concern about the safety and potential toxicological impact on both the environment and human health. The bioavailability/assimilation of these entities by the organism would ultimately lead to the presence of NPs in human blood and urine. The challenge when detecting, characterizing and quantifying NPs in complex samples relies on the unique physicochemical properties NPs exhibit. The solid nature of NPs, their fate and behavior and the low concentration level expected are key points when addressing the question in the nano domain. Moreover, information about not only mass concentration but also number concentration and size is usually required. Therefore, new innovative approaches to assess NPs in environment matrices and biological fluids are highly demanded.

For this purpose, the possibilities of centrifugal ultrafiltration (CUF) as a preconcentration method for isolating NPs have been explored. In CUF, the target analytes below the molecular weight cut-offs (MWCO) are forced to cross the membrane by ultracentrifugation [1]. In the current communication, centrifugal filters consisting of 15 mL tubes with a 30 kDa MWCO membrane were used. Results showed optimum conditions consisted of two successive loading stages of 15.0 mL of urine (5000 g for 25 min) and a final washing stage (15.0 mL of 1.0 % (w/v) glycerol, 5000 g, 20 min).

The proposed method combines CUF with single-particle inductively coupled plasma mass spectrometry (SP-ICP-MS) for Ag and TiO₂ NPs determination. When working with dwell times in the μ s range, one particle at a time can be detected. This technique provides useful information about the number concentration and the particle size distribution of a NP suspension. The developed procedure was further validated in terms of limits of detection and quantification, repeatability and analytical recovery; and applied to real urine samples. In such way, basal levels of Ag and TiO₂ NPs were obtained.

Acknowledgements

The authors wish to acknowledge the financial support of Ministerio de Economía y Competitividad (projects INNOVANANO, reference RT2018-099222-B-100), and Xunta de Galicia (Grupo de Referencia Competitiva, grant number ED431C2018/19).

[1] F. Laborda, E. Bolea, G. Cepriá, M. T. Gómez, M. S. Jiménez, J. Pérez-Arantegui, J. R. Cartillo, Anal. Chim. Acta 904 (2016) 10-32, ,



Silver nanoparticles speciation by SP-ICP-MS in edible seaweed using enzymatic extraction as a sample pre-treatment

Juan José López-Mayán, Blanca Álvarez-Fernández, Elena Peña-Vázquez, María Carmen Barciela-Alonso, Antonio Moreda Piñeiro, Pilar Bermejo-Barrera.

Universidad de Santiago de Compostela, Química, Química Analítica Nutrición y Bromatología, Avenida das Ciencias sn, 15701, Santiago de Compostela, juanjoselopez.mayan@usc.es

Silver nanoparticles (AgNPs) have special antibacterial, optical, electrical and thermal properties that imply many fields of applications (catalysis, medical, domestic and industrial product manufacturing, health care, biosensing, electronics, photonics food industry). Due to this, AgNPs end up in the marine environment where they can interact with the marine biota. In the last years, the European population has increased the consumption of seaweed, because they are a great source of vitamin B-12, selenium, omega-3, dietary fibre, fatty acids, and iodine. Despite this, they are bioconcentration organisms that can bioaccumulate pollutants as nanomaterials; then AgNPs could be transferred to the trophic chain.

The objective of this research work is the optimization of an analytical method for the speciation of AgNPs from seaweed using ultrasound energy and an enzymatic hydrolysis method and subsequent determination by single particle inductively coupled plasma mass spectrometry (SP-ICP-MS).

Parameters affecting the isolation of AgNPs were properly optimized using a *Palmaria palmata* (red seaweed) sample previously exposed to AgNPs. Type of sonication (bath vs. ultrasonic probe), ultrasound amplitude, sonication time, sonication mode (pulsed vs. continuous sonication), the concentration of the enzymes mixture (Macerozyme R-10®), and enzymatic hydrolysis time were properly optimized.

The total content in the algae was quantified by ICP-MS after microwave-assisted acid digestion. The stability of AgNPs during extraction was tested by transmission electron microscopy (TEM) and using a standard of 15 nm of polyvinylpyrrolidone (PVP)-coated AgNPs. The limits of detection in number and size were 2.40×10^6 particles L⁻¹ and 14 nm, respectively. The repeatability in the measurements resulted in a relative standard deviation lower than 19%.

Finally, the proposed methodology was applied to the analysis of five red (*Palmaria palmata*) and five green (*Ulva* sp.) seaweed samples.

..



Influence of intermittent irrigation methods on the chemical nature of arsenic species in rice grain

Andrea Mara, Antonino Spanu, Iaria Langasco, Francesco Barracu, Mario Antonello Deroma, José Fermín López-Sánchez, Paola Meloni, Maria Itria Pilo, Angels Sahuquillo Estrugo, Nadia Spano, and Gavino Sanna.

University of Sassari, Chemical Sciences and Technologies, Department of Chemical, Physical, Mathematical and Natural Sciences, Via Vienna, 2, 07100, Sassari, a.mara@studenti.uniss.it

Although As bioaccumulation in rice grains is a global health problem, its speciation is not a less issue of concern¹. Despite the ascertained effectiveness of the intermittent irrigation methods in greatly reducing the amount of total As in rice grains², knowledge of its influence on the distribution of its chemical species is insufficient so far. Hence, this contribution was aimed to measure, using a validated IC-ICP-MS method³, the concentrations of As(III), As(V), dimethylarsinic acid (DMA), and monomethylarsonic acid (MMA) in grains from twenty-six different rice genotypes irrigated either with continuous flooding (CF), periodical saturation (SA) or sprinkler irrigation (SP). In CF-irrigated rice, As(III) and DMA prevailed in roughly equal amounts and the total As mean concentration was ca. 150 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Switching to the intermittent methods, only As(III) was found in SA-irrigated rice in 60-70% lower concentration than measured in CF, while a 93% reduction in the total amount of As was observed in SP-irrigated rice where As(V) it is the main species. Organoarsenical species were always below the relevant LoDs in rice irrigated with intermittent methods, while only DMA was determined in high amounts in rice irrigated with CF. Principal component analysis (PCA) clearly explained the influence of the irrigation method on the total amount of As, the nature of its species, and their correlation. In addition, PCA highlighted meaningful differences in the distribution of As species as a function of the rice genotype, while no effect attributable to the rice subspecies (Indica or Japonica) was observed. Hence, the irrigation method was the most influent factor on the final concentration and speciation of As. In particular, sprinkler irrigation has proven to be the best option both to reduce the total amount of As and to orientate their chemical species towards forms like As(V), significantly less toxic than As(III), which is predominant in rice irrigated by CF.

T. Llorente-Mirandes, et al. *Food Chem.* 147 (2014) 377, A. Spanu, et al. *Sci. Total Environ.* 748 (2020) 142484, I. Langasco, et al. *J. Environ. Manage.* 302 (2022) 114105



Evaluación de las transformaciones metabólicas de nanopartículas de selenio por plantas y bacterias mediante la aplicación de una plataforma multitécnica.

Gustavo Moreno Martín, Elena Espada-Bernabé, Beatriz Gómez-Gómez, María Eugenia León-González, Yolanda Madrid.

Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Av. Complutense de Madrid, s/n, 28040, Madrid, gusmoren@ucm.es

Las nanopartículas de selenio (SeNPs) presenta propiedades como elevada actividad biológica, biodisponibilidad, y menor toxicidad comparada con las especies orgánicas e inorgánicas de este metaloide [1]. Esto ha provocado su creciente aplicación en diversas áreas relacionadas con el diagnóstico médico, el transporte de fármacos e incluso la fertilización de los campos de cultivo, como sustituto del seleniato [2]. A pesar de estas ventajas, los estudios de interacción de estas nanopartículas con sistemas biológicos son escasos.

En este trabajo se han evaluado las transformaciones metabólicas de las SeNPs a especies volátiles de selenio y selenoaminoácidos en su interacción con las especies de plantas *Raphanus sativus* y *Brassica juncea* y las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Para la detección y cuantificación in vivo de las especies volátiles orgánicas de selenio liberadas durante el cultivo de plantas y bacterias en presencia de SeNPs, se desarrolló una metodología basada en HS-SPME con estandarización interna en fibra, y análisis con GC-MS. Los resultados reflejaron que ambas bacterias y plantas transformaban las SeNPs a DMSe y DMDSe. Además, en las bacterias se detectó una especie mixta de azufre y selenio (DMSeS). Por otro lado, la determinación de las especies no volátiles de selenio se realizó mediante HPLC-ICPMS y HPLC-ESI-MS/MS, previa extracción enzimática de las especies. En el caso de las bacterias la extracción enzimática fue precedida por la lisis de la pared celular bacteriana. Mientras las plantas transformaron las SeNPs en los selenoaminoácidos SeMet, SeMetSeCys y γ -Glu-Se-MetSeCys, las bacterias produjeron SeCys. La identificación inequívoca de este aminoácido necesitó un proceso de carbamidometilación previo a la extracción. Finalmente, ambas bacterias fueron capaces de sintetizar SeNPs biogénicas durante su crecimiento en presencia de selenito. Las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas sintetizadas se determinaron utilizando una plataforma multitécnica (TEM, DLS y spICP-MS) previa disrupción mecánica de la pared bacteriana. La optimización se centró en la medida de las nanopartículas mediante spICPMS. Se obtuvieron nanopartículas esféricas, con un tamaño medio de (55 ± 19) nm y (142 ± 69) nm para *E. coli* y *S. aureus*, respectivamente.

Agradecimientos

Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2020-114714RB-I00); Comunidad de Madrid y Fondos Europeos (FSE y FEDER) (S2018/BAA-4393); Beca predoctoral CTQ/18-CT43/18 de la Universidad Complutense de Madrid; Contrato CT4/21-CT5/21 de la Comunidad de Madrid.

[1] A. Khurana, S. Tekula, M.A. Saifi, P. Venkatesh, C. Godugu, *Biomed. Pharmacother* 111 (2019) 802-812, [2] A. Kumar, K. S. Prasad. *J. Biotechnol* 325 (2021) 152-163,



Estudio metabólico en tejido testicular de ratones expuestos a “cócteles químicos” de metales y fármacos: influencia del selenio y de la microbiota intestinal

Cecilio Parra-Martínez, Belén Callejón-Leblic, Marta Selma-Royo, María Carmen Collado, Nieves Abril, Tamara García-Barrera.

Huelva, Facultad de Ciencias Experimentales, Departamento de Química, Campus El Carmen. Avda. Fuerzas Armadas S/N, 21007, Huelva, cecilio.parra@dqcm.uhu.es

La infertilidad continúa en tendencia creciente y se estima que alrededor del 15% de las parejas son infértiles, siendo la masculina responsable del 40-50% de estos casos. Estudios previos asocian la infertilidad a problemas de exposición a contaminantes ambientales, debido a su presencia en el medio ambiente y los alimentos [1]. Por otro lado, el mercurio (Hg), arsénico (As) y cadmio (Cd) se han asociado frecuentemente a problemas de fertilidad. No obstante, los experimentos de exposición controlada a “cócteles químicos” integrando diferentes contaminantes nos permiten evaluar el efecto real de los contaminantes encontrados en el medio ambiente [2]. El selenio (Se) es uno de los elementos más estudiados por su efecto antagonista frente a numerosos xenobióticos, además de tener capacidad de modular la microbiota intestinal incrementando la abundancia de algunos géneros con importancia en la salud [3].

El objetivo de este estudio es evaluar el impacto de una mezcla de As, Hg, Cd, diclofenaco y flumequina en el metaboloma testicular así como el posible papel de la microbiota intestinal y de la suplementación con Se. Para ello, 60 ratones *Mus musculus* se dividieron en 6 grupos: control, expuesto a coctel químico (CC), CC suplementado con Se (CC-Se), microbiota deprimida por antibióticos (Abx), Abx-CC y CC+Abx+Se. Se llevó a cabo una extracción de los metabolitos del tejido testicular y se analizaron mediante cromatografía líquida de ultra-alta eficacia acoplada a cuadrupolo tiempo de vuelo (UHPLC-QTOF).

Se observó un incremento en la mortalidad de los grupos CC, que fue mayor aún en el grupo Abx-CC. Cabe destacar que los ratios de mortalidad fueron normales en los grupos suplementados con Se (CC-Se y Abx-CC-Se). Asimismo, se identificaron 177 metabolitos significativamente alterados en los diferentes tratamientos. Estos metabolitos participan principalmente en el metabolismo de los glicerofosfolípidos o esfingolípidos lo cual sugiere que la exposición induce perturbaciones en el metabolismo lipídico de los testículos de ratón. A pesar del descenso de mortalidad en el grupo CC-Se el número de metabolitos alterados es mayor en éste, indicando un importante efecto de la suplementación, situación que también ocurrió en el grupo Abx. Muchos de los metabolitos alterados por el CC se modularon a niveles del grupo control tras la suplementación con Se. Además, se determinaron numerosas asociaciones entre los metabolitos alterados por el CC en los testículos y los diferentes géneros bacterianos determinados en el contenido intestinal de los ratones mediante secuenciación por Illumina del ADN ribosomal 16S.

[1] J. Pizzorno, Environmental Toxins and Infertility, *Integr. Med.* 17(2018) 8., [2] T. García-Barrera, J.L. Gómez-Ariza, M. González-Fernández, F. Moreno, M.A. García- Sevillano, V. Gómez-Jacinto, 403 (2012) 2237., [3] B. Callejón-Leblic, M. Selma-Royo, M. C. Collado, J.L. Gómez-Ariza, N. Abril, T. García-Barrera, *J. Proteom. Res.* 21 (2022) 758.



Improvements in the speciation analysis of platinum nanoparticles via single particle inductively coupled plasma mass spectrometry

Rosa Carmen Rodríguez Martín-Doimeadios, Armando Sánchez Cachero, María Jiménez Moreno, Nuria Rodríguez Fariñas.

Universidad de Castilla-La Mancha, Facultad de Ciencias Ambientales y Bioquímica, Departamento de Química Analítica y Tecnología de Alimentos, Avenida Carlos III, s/n, 45005, Toledo, rosacarmen.rodriguez@uclm.es

The increasing importance of inductively coupled plasma mass spectrometry in single particle mode (SP-ICP-MS) for the characterization of metallic nanoparticles in last decades is undoubtless. This approach enables to simultaneously determine the size and ultratrace concentrations of spherical nanoparticles and their dissolved forms in aqueous samples. Its great potential as a sizing and counting technique has been widely proved, but several considerations must be taken into account to obtain reliable results.

SP-ICP-MS allows the differentiation between the dissolved and particulate forms of an element based on the transient signals or events registered above a steady baseline. However, it presents some limitations associated to data acquisition and processing. The ideal situation is that each particle event corresponds to a single particle, but multiple or incomplete particle events cannot be discarded. Moreover, possible overlaps between the distribution of nanoparticles and the background must be avoided. Sample introduction is also a critical step which affects to sample flow rate and transport efficiency, which is especially sensitive to matrix effect. Thus, critical parameters influencing this time-resolved analysis should be carefully addressed.

In this work, detection capabilities of SP-ICP-MS related to particle size and number concentrations have been investigated for the case of platinum nanoparticles in order to improve signal discrimination and sensitivity. Different parameters related to data acquisition (dwell time, number of data points, adequate signal intensity range) or data treatment (mathematical algorithm applied) were evaluated with the aim to limit multiple and split events and improve the differentiation between both dissolved and particle signals. The effect of sample matrix and nebulization efficiency has also been studied. Working under the optimal conditions, the potential of this technique in the environmental field has been demonstrated by the analysis of platinum nanoparticles in road dust samples. The improvements performed in the detection capabilities have enabled to enhance the signal discrimination between the ionic and particulate platinum naturally occurring in road dusts, even though spiked samples have also been analyzed. Our results highlight that the underlying concepts behind the SP-ICP-MS approach need to be fully understood to improve the potential of this promising analytical tool specially for its successful application in complex matrices.



Perturbaciones en el metabolismo de la microbiota de ratones *Mus musculus* expuestos a diclofenaco y posible interacción con el selenio

Gema Rodríguez-Moro, José Antonio Gómez-Morlote, Nieves Abril, Tamara García-Barrera

Universidad de Huelva, Facultad de Ciencias Experimentales, Departamento de Química, Campus El Carmen.
Avda. Fuerzas Armadas S/N, 21007 Huelva, gema.moro@dqcm.uhu.es

La presencia de compuestos farmacéuticos en los ecosistemas acuáticos debido a su extenso uso en medicina humana y veterinaria y su posterior liberación al medio ambiente, representa un problema de interés creciente debido a la actividad biológica intrínseca de dichas sustancias [1]. En general, los residuos farmacéuticos y sus metabolitos suelen detectarse en el medio ambiente a niveles traza (ng L⁻¹ a µg L⁻¹), por debajo de las dosis terapéuticas utilizadas con fines médicos, pero incluso a estos niveles bajos, pueden inducir efectos tóxicos en determinados seres vivos o acumularse [2]. El diclofenaco (DCF), un antiinflamatorio no esteroideo utilizado para tratar el dolor y la inflamación, es uno de los productos farmacéuticos más comúnmente detectado en agua, sin embargo, las investigaciones que se han realizado hasta la actualidad sobre sus efectos a largo plazo en los organismos vivos son escasas y poco concluyentes. Por otro lado, el selenio (Se) es un elemento esencial para los mamíferos, y su interacción antagonica frente a la toxicidad de algunos xenobióticos ha sido ampliamente estudiada [3]. En este estudio, evaluamos el impacto de la exposición a DCF en el metabolismo de la microbiota intestinal del ratón de laboratorio *Mus musculus* así como el posible efecto protector de la suplementación con Se. Para ello, 30 ratones *Mus musculus* se dividieron en tres grupos: Grupo control, grupo expuesto a DCF en agua, grupo suplementado con pienso enriquecido con Se, grupo expuesto a DCF en agua y suplementado con Se. El análisis metabólico se ha llevado a cabo mediante una plataforma de análisis metabólico basada en el uso de la espectrometría de masas orgánicas combinando la cromatografía líquida de alta eficacia (UPLC) acoplada a cuadrupolo tiempo de vuelo (QTOF) y cromatografía de gases con trampa de iones (GC-MS). El análisis bioestadístico mediante análisis multivariante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA), mostró una clara separación entre los grupos de estudio. Asimismo, los metabolitos con influencia significativa en la clasificación, y que por tanto podrían utilizarse como posibles marcadores biológicos de DCF, se identificaron mediante bases de datos y MS/MS. Los resultados han permitido descifrar los cambios en el metaboloma de la microbiota intestinal inducidos por la exposición a DCF y la suplementación con Se en organismos vivos. Finalmente, el análisis de rutas metabólicas mostró la biosíntesis de ácidos biliares primarios como principal ruta metabólica tras la exposición a diclofenaco.

[1] A. Ginebreda, I. Muñoz, M. López de Alda, R. Brix, J. López-Doval, D. Barceló. *Environment International* 36 (2010) 153.

[2] K. Kümmerer. *J. Environ. Manage.* 90 (2009) 2354.

[3] T. García-Barrera, J.L. Gómez-Ariza, M. González-Fernández, F. Moreno, M.A. García- Sevillano, V. Gómez-Jacinto, 403 (2012) 2237.



DETERMINACIÓN DE ESPECIES DE MERCURIO EN CABELLO DE POBLACIÓN AUTÓCTONA DE DIFERENTES REGIONES DE COLOMBIA POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS Y DILUCIÓN ISOTÓPICA CON TRAZADOR DOBLE

Laura Suárez Criado, Pablo Rodríguez-González, José Marrugo-Negrete, Sergi Díez y J. Ignacio García Alonso

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica, Julián Clavería 8, 33006 Oviedo, suarezclaura@uniovi.es

El mercurio (Hg) es una sustancia tóxica que despierta gran interés público debido a su creciente emisión a la atmósfera por causas naturales o actividades antropogénicas como la minería artesanal de oro. Durante este proceso no solo se liberan vapores nocivos de Hg a la atmósfera, sino que, también se vierten residuos de Hg a ecosistemas acuáticos, donde una gran cantidad se transforma en metilmercurio (MeHg). Este MeHg se biomagnifica a lo largo de la cadena trófica de modo que el consumo de pescado es la vía de exposición a Hg más importante para los seres humanos[1].

Colombia es uno de los principales países productores de oro del mundo, con una gran parte de su población rural empleada en tareas relacionadas con la minería. El uso de Hg en la minería artesanal está muy extendido hasta el punto de que Colombia es el país más contaminante per cápita. La determinación de las especies de Hg en muestras de población autóctona permite obtener una visión de la exposición general, ya sea de manera directa por vapores de Hg o por consumo de pescado contaminado. La mayoría de los estudios de exposición humana al mercurio se centran en la determinación de HgT en diferentes biomarcadores biológicos como sangre, cabello u orina. Sin embargo, la cuantificación no solo de la concentración de mercurio total (HgT) sino también de mercurio inorgánico (Hg(II)) y metilmercurio (MeHg) puede ofrecer una información más detallada de las fuentes de exposición[2].

En este trabajo se determinaron las concentraciones de MeHg, Hg(II) y HgT en muestras de cabello de 96 individuos, en su mayoría no relacionados directamente con la minería artesanal de oro pertenecientes a seis departamentos de Colombia: cinco regiones andinas (Nariño, Chocó, Antioquia, Bolívar y Sucre) y una región amazónica (Vaupés). La determinación de las especies de Hg se llevó a cabo cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas de plasma inductivo (GC-ICP-MS). Las muestras se cuantificaron mediante análisis por dilución isotópica con trazador doble para obtener una cuantificación exacta y precisa y una corrección de la interconversión entre las especies durante el proceso de preparación de muestra[3].

[1] N.E. Selin, *Annu. Rev. Environ. Resour.* 34 (2009) 43-63.

[2] C. Calao-Ramos, A.G. Bravo, R. Paternina-Urbe, J. Marrugo-Negrete, S. Díez, *Environment International* 146 (2021) 106216.

[3] S. Queipo Abad, P. Rodríguez-González, E. Martínez-Morillo, W. C. Davis, J. I. García Alonso, *Science of The Total Environment*, 676 (2019) 314-323.

Jornada de especiación

Posters





APLICACIÓN DE SINGLE CELL ICP-MS PARA EL ESTUDIO DE LOS EFECTOS SINÉRGICOS BACTERICIDAS DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y ANTIBIÓTICOS

Ana Cristina Giménez Ingalaturre, Mariam Bakir Laso; María Pilar Goñi Cepero; Francisco Laborda García.

Universidad de Zaragoza, Instituto de Ciencias Ambientales de Aragón (IUCA), Grupo de Espectroscopía, Analítica y Sensores (GEAS), C/ Pedro Cerbuna, 12, 50009, Zaragoza, acgimenez@unizar.es

La Resistencia a antimicrobianos es uno de los mayores retos de salud pública a nivel mundial ya que es una amenaza creciente que deteriora la eficacia de los antibióticos. Una estrategia para reducir el consumo de los antibióticos y combatir esta resistencia a antimicrobianos es el uso de nanomateriales a base de plata. Los compuestos de plata son utilizados por su efecto bactericida, y su utilización en forma de nanopartículas de plata puede presentar ventajas adicionales.

El objetivo de esta línea de trabajo consiste en el estudio del efecto bactericida de nanomateriales a base de plata, así como de los efectos sinérgicos que pueda presentar el uso de estos nanomateriales en combinación con antibióticos convencionales. El objetivo analítico se basa en el desarrollo y aplicación de métodos analíticos para cuantificar la plata presente en bacterias individuales que previamente han sido incubadas con nanomateriales de plata.

La técnica de detección de células individuales mediante espectrometría de masas con plasmas de acoplamiento inductivo (SC-ICP-MS) permitió demostrar que las bacterias estudiadas contenían plata, lo que implicaba que la plata había sido internalizada o adsorbida por dichas bacterias durante los cultivos microbiológicos. Para determinar la forma química en la que se encontraba la plata que había interactuado con las bacterias se llevó a cabo una digestión alcalina. Las suspensiones digeridas se midieron mediante técnicas complementarias como detección de partículas individuales mediante ICP-MS (Single Particle-ICP-MS) y cromatografía hidrodinámica (HDC). Los resultados obtenidos demostraron que la plata interactuaba con las bacterias en forma de nanopartículas y de plata disuelta.

Además, se combinó un antibiótico convencional con Ag(I) o nanopartículas de plata y se estudiaron los efectos sinérgicos de ambas combinaciones frente a diferentes bacterias. Los resultados demostraron que en el caso de las combinaciones con Ag(I), la dosis del antibiótico convencional se redujo hasta 8-12 veces, en función de la bacteria estudiada; a la vez que se mantenía la actividad bactericida del antibiótico. En el caso de las combinaciones con nanopartículas de plata, la dosis del antibiótico se redujo hasta 4-8 veces.

Como conclusión general, single cell-ICP-MS permite detectar y cuantificar el contenido de plata internalizada o adsorbida por las bacterias. Complementada con otras técnicas, SC-ICP-MS permite determinar las especies de plata involucradas en la actividad bactericida de la plata individualmente o en combinación con antibióticos convencionales, lo que ayuda a explicar sus mecanismos de acción.



Obtaining algae arsenosugars by preparative chromatographic techniques

Alba Morales Rodríguez, José Fermín López Sánchez, Dolores Barrón Bueno, Cristina Minguillón Llombart, Ángeles Sahuquillo Estrugo

Universidad de Barcelona, Facultad de Química, Departamento de Ingeniería Química y Química Analítica, Martí i Franquès, 1-11, 08028 Barcelona, alba.morales@ub.edu

Arsenic is present in nature in a diversity of forms and oxidation states, and it is involved in a multitude of natural processes. Therefore, many living organisms that are in contact with As easily absorb it. It is known that the inorganic species of arsenic have a higher toxicity than other organic species such as thioarsenics and arsenosugars, among others [1].

The consumption of edible algae has increased in recent years due to their high content of essential nutrients and therapeutic properties. These algae contain arsenic species, generally in the form of arsenosugars, being them the main forms found in the most common algae with glycerol, phosphate, sulphonate, or sulphate as a terminal group [2]. For this reason, there is an urgent need to have data available on the composition, toxicity, and metabolism of this type of food, to establish potential limits of consumption.

The main problem in this area of research is the lack of commercial available arsenosugars standards, which hinders the quantification and characterization of these species.

The main objective of this work is to determine working conditions and to evaluate the applicability of a type of preparative chromatography, such as countercurrent chromatography (CCC), to obtain and characterize standards of predominant arsenosugars from *Fucus Vesiculosus* algae. This chromatographic technique is a modality of liquid chromatography in which both, the mobile and the stationary phases are liquid. The stationary phase is not supported by a physical support and, therefore, the solute can access its entire volume. In addition, it offers great reproducibility, and permits the treatment of larger amount of sample than HPLC [3].

The search of a suitable solvent system (stationary/mobile phase) will be performed in batch using liquid-liquid extraction experiments. Ternary phase diagrams will be used to select the systems assayed, which will be tested at different compositions. The polar nature of the target compounds will require the use of biphasic mixtures of high polarity. To ensure that the species of interest are in their neutral form and therefore able to be distributed between the two phases (aqueous and organic), different acids (such as TFA) will be assessed.

The system which will be able to distribute the species in ratios about 50/50 between the two phases and which distributes the species in a differentiated manner will be selected to carry out the separation by CCC. HPLC-ICP-MS will be used to assess the content of arsenic species.

[1] Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) (2007). Toxicological profile for arsenic. United States: Department of Health and Human Services, Public Health Service.

[2] A. Sahuquillo, J.F. López-Sánchez, A. Llorente-Mirandes, A. Pell-Lorente, R. Rubio, M.J. Ruiz-Chancho, Environmental Problems in Marine Biology: Methodological Aspects and Applications (2017), Chapter 5, 85-102. CRC Press.

[3] C. Minguillón. Countercurrent chromatography, scope and perspectives: Application to chirotechnology. Chem. Eng. Technol. 35 (2012) 35.



Estudios de movilización de especies de plata en heces de cerdos alimentados con nanomateriales de plata: implicaciones medioambientales

Eduardo Bolea Morales, Mariam Bakir, M^a Sierra Jiménez, M^a Teresa Gómez, Francisco Laborda.

Universidad de Zaragoza, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, Pedro Cerbuna, 12, 50009, Zaragoza, edbolea@unizar.es

El problema del desarrollo de resistencia antimicrobiana como consecuencia del uso de antibióticos como aditivo animal en granjas ganaderas, ha dado lugar a una búsqueda de posibles alternativas a los antibióticos cuyo impacto en el medio ambiente y la salud humana sea limitado. Una de estas alternativas es el uso de plata tanto iónica como en forma de nanopartículas metálicas (AgNPs).

En este trabajo se ha llevado a cabo un experimento in vivo con cerdos a los que se ha alimentado con un pienso que contenía un nanomaterial a base de nanopartículas de plata metálica depositadas en micropartículas de caolín. Posteriormente, las heces se han sometido a un proceso de lixiviación en agua según el procedimiento descrito por Kosson et al [1], con el objetivo de valorar el posible impacto de la plata liberada en el medio ambiente tras su eliminación en forma de heces y purines.

El estudio de estas formas de plata se ha llevado a cabo mediante cromatografía hidrodinámica (HDC) y fraccionamiento en flujo con campo de flujo asimétrico (AF4), acopladas a espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS), así como mediante la detección individual de partículas (single particle-ICP-MS). La cuantificación de la plata total liberada se ha llevado a cabo mediante ICP-MS, y la presencia y caracterización por tamaño de las nanopartículas detectadas a través de las distintas técnicas, se ha comparado con los resultados obtenidos mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM).

A partir de los resultados obtenidos, se ha determinado que el porcentaje total de Ag liberada corresponde al 1-5% de la plata total presente en las heces, estando la mayor parte de esta plata liberada en forma de Ag (I), (entre el 90 y el 97%) mientras que el 3-10% restante corresponde a AgNPs, tanto en forma de aglomerados de nanopartículas, con tamaños entre 100 y 800 nm, como de nanopartículas individuales con tamaños entre 15 y 40 nm, similares a las presentes en el material original.

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia Innovación y Universidades y la Fundación de Desarrollo Regional Europeo, proyecto RTI2018-096111-B-I00 (MICINN/FEDER), el proyecto EFA 183/16/OUTBIOTICS, Programa Interreg-POCTEFA 2014-2020, financiado por fondos FEDER.

[1] D.S. Kosson, H.A. Van Der Sloop, F. Sanchez, A.C. Garrabrants, Environ. Eng. Sci. 19 (3) (2002) 159.,



Transferencia materno-infantil de elementos traza y metabolitos durante la lactancia en madres positivas a SARS-CoV-2

Francisco Javier Soto Cruz, Francisco J. Soto-Cruz, Ana Arias-Borrego, Marta Selma-Royo, Christine Bäuerl, Inés Velasco López, Cecilia Martínez-Costa, María Carmen Collado, Tamara García-Barrera.

Huelva, Facultad de Ciencias Experimentales, Departamento de Química, Campus El Carmen. Avda. Fuerzas Armadas S/N, 21007, Huelva, francisco.soto@dqcm.uhu.es

La leche materna es el resultado de millones de años de evolución para producir una fuente de nutrición perfecta para los recién nacidos, ajustándola con precisión a sus requerimientos. La leche materna contiene un elevado número de proteínas complejas, lípidos, carbohidratos, microbiota, hormonas tiroideas, etc, los cuales pueden modificarse durante una sola alimentación y durante la lactancia, para reflejar las necesidades del recién nacido. Sin embargo, en la leche materna también pueden estar presentes elementos (esenciales y tóxicos), así como otros contaminantes, que pueden ser transferidos al recién nacido. Algunos estudios recientes han demostrado la alteración del perfil elemental en suero de pacientes positivos a SARS-CoV-2 [1]. Sin embargo, aunque se ha demostrado que el estado nutricional y de salud materna modifica la composición de la leche, por ejemplo en madres con déficit de yodo [2], el impacto de la infección materna por SARS-CoV-2 en los elementos de la leche humana no se ha estudiado previamente.

Para ello se realizó un estudio transversal en España con 34 madres con COVID-19 (diagnosticadas por PCR) y un grupo control prepandemia (n=20). Se determinaron catorce elementos (Al, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Cd, Tl y Pb) en leche materna mediante plasma de acoplamiento inductivo con detector de masas (ICP-MS). Los resultados mostraron que el COVID-19 tiene un impacto significativo en el perfil elemental de leche materna. La COVID-19 redujo las concentraciones de todos los elementos en la leche materna con la excepción de Zn, As y Tl en comparación con las muestras de control prepandémicas. Los niveles de Zn y Cu tienen un comportamiento opuesto en leche materna de madres con COVID-19 que en muestras de suero descrito por otros autores [1]. Los elementos tóxicos (As y Tl) aumentaron en la leche materna de madres con COVID-19, probablemente debido a los equilibrios homeostáticos con otros biometales alterados.

Este estudio proporciona información importante sobre el impacto de la infección materna por SARS-CoV-2 en la composición elemental de la leche materna que permite una mayor investigación debido a las posibles implicaciones para la salud infantil.

[1] A.V. Skalny, P.S. Timashev, M. Aschner, J. Aaseth, L.N. Chernova, V.E. Belyaev, A.R. Grabeklis, S.V. Notova, R. Lobinski, A. Tsatsakis, A.A. Svistunov, V.V. Fomin, A.A. Tinkov, P.V. Glybochko, *Metabolites*, 2021, 11, 244., [2] A. Arias-Borrego, I. Velasco, J.L. Gómez-Ariza, T. García-Barrera, *Food Chem.* 371 (2022) 131329.,



Desarrollo de una metodología para la especiación de cromo en material particulado atmosférico

María Millán Martínez, Daniel Alejandro Sánchez-Rodas, Ana María Sánchez de la Campa, Jesús Damián de la Rosa

Universidad de Huelva, Facultad de de Ciencias Experimentales, Departamento de Química, Campus El Carmen, Avda. 3 de marzo s/n, 21007 Huelva, rodas@uhu.es

El Cr es un elemento tóxico que puede encontrarse en el material particulado (PM) atmosférico debido principalmente a emisiones antropogénicas. Su toxicidad depende en gran medida de su estado de oxidación. El CrIII está considerado como esencial para el metabolismo humano, mientras que el CrVI es un carcinógeno (Pavesi y Costa Moreira, 2020).

Se han estudiado muestras de PM correspondientes a partículas de la fracción fina, con diámetros $\leq 2.5 \mu\text{m}$ (PM2.5). Las muestras fueron obtenidas de una estación de muestreo situada en el polígono industrial de San Roque (Cádiz), próxima a una importante fábrica de acero. Se seleccionaron ocho muestras (mayo y diciembre 2020) para la puesta a punto de un método de especiación. Las muestras de PM2.5 se obtuvieron empleando un captador de aire de alto volumen (Digitel DPA14) equipado con filtros de fibra de cuarzo, siendo el volumen de aire muestreado en cada periodo de 24 h de 719 m^3 .

En primer lugar, se determinó el contenido total de Cr en las muestras de PM2.5. Para ello se cortó una porción del filtro y se sometió a un ataque ácido y en caliente empleando HF, HNO_3 y HClO_4 . El residuo resultante fue disuelto en HNO_3 al 5% (v/v) y analizado mediante ICP-MS.

La determinación de CrVI se logró desarrollando un método para la extracción selectiva de CrVI de las muestras de PM2.5, basado en el empleo de una disolución 0.01 M NaOH bajo condiciones de agitación y calentamiento a 90 °C (1h). Se tomaron como punto de partida el Método 3060A para la extracción de Cr hexavalente (EPA, 1996) y la metodología de Narukawa et al. 2007 para cenizas volantes. El extracto fue analizado mediante IPC-MS. La metodología propuesta fue validada mediante el dopado de muestras de PM con disoluciones de CrVI, obteniéndose recuperaciones $>95\%$.

Los resultados mostraron que el contenido medio de Cr de las muestras de PM2.5 de mayo fue de 20.7 $\mu\text{g m}^{-3}$, y de 71.8 $\mu\text{g m}^{-3}$ para diciembre. En muchas de las muestras el CrVI fue la especie mayoritaria, representando entre el 45-73% del contenido total de Cr. Estos resultados resaltan la importancia de los estudios de especiación para evaluar el potencial efecto de emisiones antropogénicas al aire sobre la salud humana.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, Proyecto RTI2018-095938-B-100

EPA. Method 3060A (1996). Alkaline digestion for hexavalent chromium
 T. Narukawa, K.W. Riley, D.H. French y K. Chiba, Talanta 73 (2007), 178-84
 T. Pavesi T y J. Costa Moreira, J. Appl. Toxicol. 40(9) (2020), 1183-1197



Eliminación de especies de Sb en el electrolito de cobre y evolución de las especies de As y Fe en una planta de electrorrefinación

Ana Isabel González de las Torres, Michael S. Moats, Guillermo Ríos, Ana Rodríguez Almansa y Daniel Sánchez-Rodas

Universidad de Huelva, Facultad de Ciencias Experimentales, Departamento de Química, Campus El Carmen, Avda. 3 de marzo s/n, 21007 Huelva, rodas@uhu.es

Las concentraciones de antimonio y arsénico, además de sus estados de oxidación (Sb(III), Sb(V), As(III) y As(V)) en el electrolito de electrorrefinación de cobre pueden afectar la calidad del cátodo de cobre a través de la formación de lodos flotantes. Se ha desarrollado una planta piloto a escala de laboratorio para eliminar el Sb del electrolito comercial. La planta piloto consistió en un proceso de pretratamiento con virutas de cobre seguido de intercambio iónico. Los resultados indicaron que el Sb(III) se eliminó por completo del electrolito de cobre, mientras que el Sb(V) se eliminó parcialmente. Las concentraciones de As(III) y As(V) no se vieron afectadas, y el envenenamiento de la resina de intercambio iónico debido a la presencia de Fe(III) se evitó mediante la reducción previa a Fe(II) empleando virutas de cobre. La configuración de operación de la planta piloto se aplicó al diseño de una planta industrial para la eliminación de Sb/Bi en la refinería de Atlantic Copper, situada en Huelva, España. La evolución de las especies de Sb, Fe y As en el electrolito comercial fue estudiada en el periodo 2015-2019, antes y después de la instalación de la planta de eliminación de Sb/Bi en 2018. Los resultados muestran una disminución del 45% del contenido de Sb total en el electrolito (de 0.29 g L⁻¹ a 0.16 g L⁻¹). Esta reducción es más relevante para el Sb(III), cuya concentración disminuyó de 0.18 g L⁻¹ a 0.09 g L⁻¹, mientras que la concentración de Sb(V) disminuyó de 0.11 g L⁻¹ a 0.07 g L⁻¹. La resina también retuvo sobre un 75% del contenido de Bi (0.15-0.22 g L⁻¹). El As total aumentó durante el período de estudio (de 7.7 a 9.0 g L⁻¹) debido a cambios durante el proceso en la planta. La especie mayoritaria de As fue As(V) (93–95%). La concentración total de Fe experimentó poca variación (0.9–1.1 g L⁻¹), siendo el Fe(II) la especie principal (94–96%).

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, Proyecto RTI2018-095938-B-100

Arroyo-Torralvo, F.; Rodríguez-Almansa, A.; Ruiz, I.; González, I.; Ríos, G.; Fernández-Pereira, C.; Vilches-Arenas, L.F. Optimizing operating conditions in an ion exchange column treatment applied to the removal of Sb and Bi impurities from an electrolyte of a copper electro-refining plant. *Hydrometallurgy* 2017, 171, 285–297.

De las Torres, A.I.G.; Moats, M.S.; Ríos, G.; Almansa, A.R.; Sánchez-Rodas, D. Arsenic and antimony speciation analysis in copper electrolyte by liquid chromatography coupled to hydride generation atomic fluorescence spectrometry (HPLC-HGAFS). *Anal. Methods* 2020, 12, 1943–1948.

Riveros, P.A. The removal of antimony from copper electrolytes using amino-phosphonic resins: Improving the elution of pentavalent antimony. *Hydrometallurgy* 2010, 105, 110–114.

XXIII Reunión de la SEQA

Conferencias plenarias





Evolución de una pandemia. Diseño de métodos de detección y caracterización del SARS-Cov2. Aplicación clínica y epidemiológica

Santiago Melón García

Jefe del Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Central de Asturias.

En diciembre de 2019, China declara unos casos de neumonía graves de etiología desconocida. A comienzos de enero de 2020, investigadores chinos logran determinar el agente causante (el SARS-Cov2) y la composición de su genoma.

El virus comienza a expandirse por el resto del mundo y urge el desarrollo de técnicas diagnósticas que permitan conocer los focos de la infección.

En el laboratorio de Virología del HUCA se diseñaron cebadores específicos y se comenzó muy pronto a intentar detectar el SARS-Cov2 (11 febrero de 2020) y a cuantificar la cantidad de virus infeccioso, como se hacía para otras infecciones virales.

Depender de tecnología propia permitió no bajar el rendimiento diagnóstico, como ocurrió en otros laboratorios del país. Se realizaron intentos de hacer diagnóstico a través de la detección de antígenos o de anticuerpos, pero la sensibilidad limitada de los primeros y la tardanza en positivar de los segundos no lograron aplicarse para el diagnóstico rápido de esta infección aguda.

En Asturias, este diagnóstico precoz y el seguimiento estrecho de los casos permitió un control de la infección hasta llegar a no detectar casos en 25 días.

Pero la elevada incidencia en otros lugares y la vuelta a la normalidad provocaron una nueva onda epidémica en noviembre de 2021.

La transmisión descontrolada del virus permitió la evolución del virus hacia variantes más o menos agresivas.

Uno de los sucesos más importantes en este periodo fue el desarrollo de vacunas. Sin duda, estas vacunas influyeron muy positivamente en el control, no tanto de la transmisión viral sino en la gravedad de la infección y la mortalidad. Sin embargo estas vacunas estaban diseñadas sobre una cepa viral determinada y se tenían dudas de cómo actuarían sobre el resto de variantes circulantes.

Esto obligó a los laboratorios a llevar un seguimiento estrecho de las cepas positivas. Para ello, el laboratorio volvió a diseñar sistemas de diagnóstico basados en la amplificación genómica (SNP) para caracterizar rápidamente y en el mayor número de muestras posibles la cepa circulante. Además, se realizaban estudios de caracterización del genoma completo por métodos de secuenciación masiva.

El conocimiento de todos estos datos permitía observar la evolución del virus en cada individuo, con el seguimiento de la carga viral. Se podía actuar en cada ocasión a la hora de liberar o no camas de hospital. Ponia el interés en los focos de infección para controlar la transmisión. Y evaluaba el tipo de virus circulante para conocer sus tasas de transmisión y su gravedad, además de controlar la eficacia de las vacunas que se fueron inoculando a lo largo de todo el año.



Micromotores catalíticos: una aproximación vanguardista para aplicaciones analíticas de (bio)-sensado

Alberto Escarpa

Catedrático de Química Analítica. Universidad de Alcalá.

En esta conferencia se mostrarán los aspectos más relevantes de la tecnología de micromotores catalíticos para aplicaciones analíticas de (bio)-sensado. Se mostrará la base conceptual analítica de dicha aproximación como nueva herramienta (bio)-sensórica y su dimensión vanguardista, así como la síntesis y caracterización de estos micromotores. Seguidamente se abordarán sus prestaciones analíticas y, principalmente, se ilustrarán aplicaciones de interés. Finalmente, se propondrá una perspectiva del impacto de esta microtecnología en un horizonte razonable a medio plazo.



New analytical approaches to study bioaccumulation in whales

Jörg Feldmann

Professor of Analytical Chemistry. University of Graz (Austria).

To study environmental processes a great deal of measurements are usually necessary, but sometimes common routine measurements do not give adequate answers to characterize a fate of POPs or toxic elements in the environment. The development of novel approaches to determine new bio- or environmental markers are necessary. This and its application to environmental samples is the core business of environmental analytical chemistry. In this lecture the bioaccumulation of PFAS (per and polyfluorinated alkylated substances) as well as mercury in pilot and sperm whales will be described.



Desarrollo computarizado de separaciones cromatográficas. Algunas ideas renovadoras.

Rafael Cela Torrijos

Universidad de Santiago de Compostela. Instituto de Investigación en Análisis Químicos y Biológicos (IAQBUS).

El desarrollo computarizado de separaciones cromatográficas, especialmente en cromatografía líquida por su dificultad práctica y porque siempre fue una técnica relativamente lenta, fue un objetivo de la investigación en química analítica y en quimiometría desde comienzos de la década de los años 70 del siglo pasado. La idea de que un programa de pudiera resolver en minutos o segundos, por simulación partiendo de un pequeño grupo de datos experimentales, lo que al cromatografista le llevaba días o semanas de trabajo fue atractivo desde el primer momento y acaparó la atención de gran número de investigadores durante la década de los 80, en la que aparecieron diversos programas informáticos, algunos comerciales y otros no, con estos fines. Después, el interés decayó. Uno de los softwares comerciales (Drylab), se mantuvo en el tiempo de forma continuada y actualmente es casi hegemónico en el mercado, aunque sus cambios e innovaciones han sido realmente muy escasos. Otros que parecían una seria competencia (p.ej. Fusion QbD) finalmente no lo han sido, posiblemente porque tampoco aportaban enfoques realmente novedosos. La situación actual es que una gran mayoría de los cromatografistas continúan desarrollado sus procedimientos de separación por prueba y error, sin confiar en las herramientas comerciales existentes, un buen número de ellos ha invertido fondos en adquirir alguno de los programas comerciales disponibles, aunque insatisfechos con su rendimiento práctico, y que, 50 años después de su andadura, las expectativas originales están lejos de haber sido alcanzadas. De modo particular, la necesidad de conocer totalmente la composición de las muestras para poder aplicar estas herramientas supone su mayor limitación práctica. Analizaremos algunas de las posibles causas para esta situación y propondremos también posibles soluciones a las limitaciones que han provocado el abandono del interés por este tipo de herramientas, tanto desde el punto de vista de cómo se enfocan los objetivos de las separaciones como, sobre todo, de cómo debe orientarse la estrategia para resolver problemas reales y no solo aplicaciones meramente académicas. Varias de estas soluciones han sido uno de los objetivos del trabajo de nuestro equipo durante las dos últimas décadas y trataremos de mostrar cómo se podría plantear una herramienta novedosa y eficaz en este campo para los próximos años.

XXIII Reunión de la SEQA

Conferencias invitadas





Exploring the Impact of Metallic Nanoparticles on Biological Systems by ICP-MS and Complementary Techniques

Jörg Bettmer

Universidad de Oviedo. Departamento de Química Física y Analítica.

The steadily increasing use of nanomaterials in our daily life requires the assessment of their potential impacts on any biological system. Significant data on their biological pathways, their degradation, and their potential toxicity on humans and other organisms are needed in order to guarantee their safe use.

This presentation should highlight some studies of our laboratory that were conducted on gold nanoparticles. Gold nanostructures generally have great potential in various application fields like catalysis, medicine, and cosmetics among others. In order to explore their interaction with biological systems, we carried out various studies on cell lines and rats by developing analytical methods to discover their accumulation, degradation and cellular incorporation. These developments principally made use of inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) in combination with complementary techniques like transmission electron microscopy and electrospray ionisation-mass spectrometry (ESI-MS). The aim was to get deeper insight into important biological processes once the biological specimen gets into contact with gold nanoparticles. These studies involved method developments to demonstrate a potential degradation of gold nanoparticles within the biological system associated with toxicological data [1, 2] and to elucidate the formation and composition of the protein corona surrounding gold nanoparticles after cellular incubation [3, 4]. The observed composition of the protein corona revealed some remarkable aspects how cells internalise nanomaterials, in this case gold nanoparticles.

- [1] C. Lopez-Chaves et al. (2018) *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* 14: 1-12.
- [2] R. Álvarez-Fernández García et al. (2019) *J. Trace Elem. Med. Biol.* 55: 1-5.
- [3] G.P. Szekeres et al. (2020) *Anal. Chem.* 92: 8553-8560.
- [4] G.P. Szekeres et al. (2020) *Nanoscale* 12: 17450-17461.



An Overview of Electrochemical Carbon Based Sensors for Sensitive Monitoring of Drug Active Compounds and Their Sensitive Applications

Sibel A. OZKAN

Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Analytical Chemistry

A sensor is a device that detects and responds to some type of input from the physical environment. The specific input could be voltage, light, or any one of a great number of other environmental phenomena. The sensor can convert the measurement into a readable signal.

For electroanalytical sensor technologies, nanomaterials are mostly used for creating a biosensor, biomarker or nanosensor. In recent years, sensor technology with its wide applications has become very popular in the biomedical and pharmaceutical area. Sensor technology covers the synthesizing and using nanomaterials at the level of atoms, molecules, biomolecules and supramolecular structures. Nano-sized materials can give sensor beneficial properties from analytical perspectives.

Nanoscience is simply science and engineering carried out on the nanometer scale, that is, 10–9 meters. In the past two decades, researchers began developing the ability to manipulate matter at the level of single atoms and small groups of atoms and to characterize the properties of materials and systems at that scale. Electrochemical nanosensors have recently found extensive applications in pharmaceutical and biomedical industries with some advantages such as lower detection limits, wider linear response range, sensitivity, good stability and reproducibility when compared with other sensors and techniques. As the demand for smaller, faster, cheaper, and ultrasensitive qualification and quantification of samples rapidly increases, these methods provide a viable path toward the next generation of electrochemical sensors.

Nowadays, different analytical methods are used in environmental, pharmaceutical, or clinical laboratories and a number of the commercial point-of-care devices work using nanosensors. Electroanalytical biosensors and/or biomarkers are analytical devices that convert a biological response into an electrical signal. Biosensors have been applied in many fields namely food industry, Pharmaceutical industry, medical field, marine sector etc. Various types of biosensors being used are enzyme-based, tissue-based, immunosensors, DNA biosensors, and thermal and piezoelectric biosensors. They provide better stability and sensitivity as compared with the traditional methods. In the early stages of some diseases, trace levels of biomarkers exist in the cells and in the body fluids. Hence, it is very important to develop credible and sensitive detection tests. Commonly, new detection technologies need to be clearly sensitive than the current technologies to be seriously investigated for adoption. Therefore, electroanalytical biomarker studies and strategies for using different nanomaterials are continuously being verified, developed and utilized to increase the sensitivity of biomarkers determination in the body fluids and tissues.

Electrochemical biosensors and nanosensors have recently found extensive applications in pharmaceutical and biomedical industries with some advantages such as lower detection limits, sensitivity, good stability and reproducibility when compared with other sensors and techniques. As the demand for smaller, faster, cheaper, and ultrasensitive quantification of samples rapidly increases, these methods provide a viable path toward the next generation of electrochemical sensors. Nowadays, many different analytical methods are used in environmental, pharmaceutical, or clinical laboratories and a number of the commercial point-of-care devices work using sensors.



Metabolomic workflows enabled by isotopically enriched biomass

Gunda Koellensperger

University of Vienna. Institute for Analytical Chemistry.

Metabolomics is an interdisciplinary science. At its core, the analytical task of measuring the full scope of small molecules within biological systems remains challenging. Mass spectrometry is the unrivalled technology in the field. Successful approaches tackle multi-platform measurements defining and addressing sub-omes (such as metabolites and lipids) and analytical tasks (such as targeted and non-targeted analysis), individually. As a consequence, throughput and metabolome coverage are often conflicting goals. Our group proposed different strategies overcoming this challenge. Our high resolution mass spectrometry methods are based on isotopically enriched biomass, multiplexed extractions and on-line combination of orthogonal chromatographic separations. By tailoring extractions and designing parallel chromatographic separations, we merge metabolomics and lipidomics within one analytical run, significantly increasing the analytical throughput. Finally, the use of isotopically enriched biomass allows accurate absolute quantification and simultaneous discoveries by non-targeted data evaluation.



Alimentómica verde y sostenibilidad

J.D. Sánchez-Martínez¹, D. Ballesteros-Vivas², B. Socas Rodríguez¹, J.A. Mendiola¹, A. Cifuentes¹,
E. Ibáñez¹.

¹Laboratory of Foodomics, Institute of Food Science Research, CIAL, CSIC, Nicolás Cabrera 9, Madrid, 28049, Spain.

²Departamento de Nutrición y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

La seguridad alimentaria y la nutrición están experimentando cambios importantes y enfrentándose a retos cruciales para la consecución de los Objetivos del Desarrollo Sostenible (entre ellos la erradicación del hambre) [1]. Desde el laboratorio de Alimentómica (Foodomics) intentamos abordar los aspectos relacionados con la sostenibilidad y la cadena alimentaria mediante la aplicación de los principios de la Química Verde y de la Química Analítica Verde, conceptos que incorporamos en la disciplina de Alimentómica Verde (Green Foodomics) [2].

En esta presentación se abordan aspectos relacionados con la seguridad, calidad y bioprospección de compuestos bioactivos con valor nutricional o funcional empleando solventes verdes y tecnologías de extracción sostenibles [3]. Un área de interés es la seguridad de los subproductos agroalimentarios y la obtención de extractos con actividad biológica procedentes de los mismos, en concreto, actividad neurodegenerativa.

[1] Bizikova L, Jungcurt S, McDougal K, Tyler S: How can agricultural interventions enhance contribution to food security and SDG 2.1? *Glob Food Sec* **2020**, 26:100450.

[2] Gilbert-López B, Mendiola JA, Ibáñez E: Green foodomics. Towards a cleaner scientific discipline *TrAC Trends Anal Chem* **2017**, 96:31–41.

[3] Ballesteros-Vivas D, Socas-Rodríguez B, Mendiola JA, Ibáñez E, Cifuentes A, Green food analysis: Current trends and perspectives *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry* **2021**, 31:100522.

XXIII Reunión de la SEQA

Presentaciones orales





Caracterización de AgNPs y AuNPs en lodos de depuradora por espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo en modo de detección de partículas individuales (spICP-MS)

Gustavo Moreno Martín, Beatriz Gómez-Gómez, María Eugenia León-González, Yolanda Madrid.

Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Av. Complutense de Madrid, s/n, 28040, Madrid, gusmoren@ucm.es

En el mercado europeo existen 5224 productos de consumo que están registrados en el inventario "The Nanodatabase". De esos productos, 843 y 74 contienen nanopartículas de plata (AgNPs) y de oro (AuNPs), respectivamente [1]. Estas nanopartículas pueden llegar a las estaciones de depuración de aguas residuales (EDAR) [2] donde se acumulan mayoritariamente en los lodos. Dichos lodos se emplean o bien como fertilizantes agrícolas o son incinerados, transfiriéndose de nuevo las nanopartículas al medio ambiente [3].

El objetivo de este estudio ha sido desarrollar un método de extracción de AgNPs y AuNPs en lodos de depuradora para su posterior caracterización por spICP-MS. Para ello, y mediante la aplicación de un ANOVA multifactorial, se evaluó el efecto de la temperatura de secado del lodo, la naturaleza del agente extractante y las condiciones de centrifugación sobre el rendimiento de la extracción. Las condiciones óptimas de extracción seleccionadas (centrifugación a 289 g durante 5 min, utilizando 20 mM de pirofosfato sódico tetraháptico como agente de extracción) proporcionaron unos porcentajes de recuperación en número de partículas de $(70 \pm 2) \%$ y $(56 \pm 1) \%$ para AgNPs y AuNPs, respectivamente, tras analizar los extractos por spICP-MS. La aplicación de TEM evidenció que el procedimiento de extracción no modificaba las propiedades originales de ambas nanopartículas (tamaño y morfología).

El método fue aplicado a estudiar la estabilidad de las AgNPs y las AuNPs en el lodo durante 12 meses. Los resultados proporcionados por spICP-MS mostraron diferencias significativas entre ambas nanopartículas. Aunque el tamaño medio no se vio afectado durante el estudio, las AgNPs experimentaron un proceso de oxidación a los 6 meses, que se reflejó en un aumento en el porcentaje de plata iónica desde $(14 \pm 1) \%$ a los 6 meses a $(24 \pm 2) \%$ a los 12 meses. La metodología desarrollada constituye una herramienta sencilla para evaluar la estabilidad de las nanopartículas en una muestra medioambiental relevante como son los lodos de depuradora.

Agradecimientos

Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2020-114714RB-I00); Comunidad de Madrid y Fondos Europeos (FSE y FEDER) (S2018/BAA-4393); Beca predoctoral CTQ/18-CT43/18 de la Universidad Complutense de Madrid; Contrato CT4/21-CT5/21 de la Comunidad de Madrid.

[1] The Nanodatabase, [https://nanodb.dk/en/\(acceso 18.02.2022\)](https://nanodb.dk/en/(acceso 18.02.2022)), [2] Y. Huang, A.A. Keller, P. Cervantes-Avilés, J. Nelsol, ACS ES&T Water 1 (2021) 205-213, [3] V. Bolaños-Benítez, F. McDermott, L. Gill, J. Knappe, Sci. Total Environ 722 (2020) 396-409



Electrochemical bioplatfoms for monitoring emerging biomarkers of autoimmune diseases

Esther Sánchez-Tirado, Sara Guerrero, Araceli González-Cortés, Lourdes Agüí, Paloma Yáñez-Sedeño, José Manuel Pingarrón

Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Avenida Complutense s/n 28040 Madrid, esther.sanchez@ucm.es.

Autoimmune diseases represent a family of at least 80 illnesses that share a common pathogenesis and affect approximately 3–5% of the world's population, predominantly women. They result from complex interactions among different immune cell types and antigen-presenting cells, such as macrophages and dendritic cells. As key elements of this communication network, cytokines and chemokines orchestrate the recruitment, survival, expansion, effector function and contraction of autoreactive lymphocytes in autoimmunity and increase the expression of other molecules such as matrix metalloproteinases. These cellular interactions result in auto-aggressive responses that target a number of different cell types in different tissues and organs in a relatively large number of autoimmune disorders [1,2].

The diagnosis of these disorders is generally based on the deregulation of the levels of different proteins, as well as the presence of adaptive immune system-mediated disease caused by self-reactive antibodies, called autoantibodies [3].

In this way, measuring the level of these proteins and autoantibodies, considered as predictive analytes of the disease onset or targets of clinical treatments, may be the key to cope this problem, therefore the development of new tools with better analytical characteristics may be essential. In this framework, the boom that electrochemical biosensors technology has reached has been widely demonstrated, providing low-cost analysis of a wide variety of analytes with simple practical application and instrumentation. Searching for better operational characteristics, the use of novel modified biosensing platforms permit to obtain a more sensible and selective analysis in shorter assay-times.

With this purpose, different sandwich-type electrochemical immunosensors have been developed for the individual or multiple determination of proteins, such as cytokines, chemokines or matrix metalloproteinases, and autoantibodies, whose concentration is altered in autoimmune diseases. All these bioplatfoms are based on the use of magnetic particles as a solid microsupports for the implementation of the bioassay format and amperometric transduction on screen-printed carbon electrodes. Once key experimental variables were optimized, the analytical characteristics of the developed immunosensors were established for the electrochemical determination of these biomarkers.

These bioplatfoms demonstrated a good analytical and operational performance, allowing the sensitive and selective determination of the target biomarkers in serum samples of healthy individuals and patients diagnosed with different autoimmune diseases, using simple protocols, reduced test time and sample quantity (four times lower than that required by the conventional ELISA methods), which make them particularly attractive for their use in hospitals or outpatient routine analysis.

[1] P. Santamaría, Cytokines and chemokines in autoimmune disease, Plenum Press, USA, 1967, [2] M. Bender, J. Christiansen, et al. Sci. Am. 325 (2021) 31-33, [3] G.S. Firestein, R.C. Budd, et al., Textbook of rheumatology, Elsevier, Netherlands, 2017



Análisis de microplásticos en productos de consumo mediante detección partículas individuales – Espectrometría de Masas con Plasma de Acoplamiento Inductivo utilizando el isótopo de carbono-13

Celia Trujillo Lacasa^{1,2}, Francisco Laborda¹, Ryszard Lobinski², Isabel Abad-Álvarez¹

¹Universidad de Zaragoza, Instituto Universitario de ciencias medioambientales de Aragón (IUCA), Grupo de Espectroscopia Analítica y Sensores (GEAS), Calle Pedro Cerbuna 12, 50009, Zaragoza, ctrujillo@unizar.es.

²Universite de Pau and Pays de l'Adour, E2S UPPA, CNRS, IPREM UMR 5254. Hélioparc, Av. du Président Pierre Angot, 2, 64053, Pau, Francia

El plástico se ha convertido en un problema mundial, debido a su ubicuidad y persistencia en el medio ambiente. Se calcula que entorno al 10% de todo el plástico producido acaba en forma de fragmentos en los diversos sistemas acuáticos. Estos fragmentos de diferentes tamaños incluyen micro y nanoplásticos. Mientras que los nanoplásticos se definen como partículas de plástico de entre 1 μm y 1 nm, los microplásticos incluyen partículas del rango de 5 mm a 1 μm . El riesgo potencial de los micro y nanoplásticos presentes en el medio ambiente se basa en que pueden ser ingeridos por los organismos, provocando su translocación e internalización, pudiendo ser incorporados a la cadena alimentaria [1]. El limitado conocimiento actual de los efectos que puede producir micro y nanoplásticos se debe principalmente a la falta de métodos robustos para su detección y cuantificación.

Hoy en día diferentes técnicas están siendo utilizadas para la detección, identificación y cuantificación de los microplásticos [2]. Entre ellas se encuentran las técnicas de microscopía, tanto óptica como electrónica (de barrido y de transmisión), las técnicas espectroscópicas en combinación con la microscopía (espectroscopias micro-FTIR y micro-Raman) y las técnicas cromatográficas (cromatografía de gases-espectrometría de masas por pirólisis y desorción térmica), entre otras.

La detección de partículas individuales mediante espectrometría de masas con plasma acoplamiento inductivo (SP-ICP-MS) es una técnica ampliamente utilizada para la detección, caracterización del tamaño y cuantificación de nanopartículas inorgánicas [3]. El análisis de partículas que contienen carbono mediante ICP-MS se ve obstaculizado por la baja sensibilidad intrínseca para este elemento, así como por sus altos niveles de fondo.

En este trabajo se ha realizado el análisis de suspensiones de microplásticos mediante SP-ICP-MS utilizando tiempos de lectura de microsegundos. La detección de micropartículas de poliestireno de hasta 1,2 μm se logró mediante el uso del isótopo ^{13}C . Las micropartículas de plástico de hasta 5 μm se volatilizaron y atomizaron cuantitativamente, permitiendo su detección y cuantificación, utilizando estándares de carbono disuelto, así como la determinación de las distribuciones de tamaños de las partículas detectadas. Se alcanzaron límites de detección de 100 partículas por mililitro para un tiempo de adquisición de 5 minutos. El método desarrollado se aplicó al screening de microplásticos en productos de cuidado personal y su liberación de envases alimentarios. La identidad química de los microplásticos detectados se confirmó mediante espectroscopia infrarroja de reflectancia total atenuada con transformación de Fourier

[1] P. Alexy, E. Anklam, T. Emans, A. Furfari, F. Galgani, G. Hanke, A. Koelmans, R. Pant, H. Saveyn, B. Sokull Kluttgen. Managing the analytical challenges related to micro- and nanoplastics in the environment and food: filling the knowledge gaps. *Food Addit. Contam. Part A*. 37 (2020) 1–10, [2] N.P. Ivleva, Chemical Analysis of Microplastics and Nanoplastics: Challenges, Advanced Methods, and Perspectives, *Chem. Rev.* (2021), [3] E. Bolea, M.S. Jimenez, J. Perez-Arantegui, J.C. Vidal, M. Bakir, K. Ben-Jeddou, A.C. Gimenez-Ingalaturre, D. Ojeda, C. Trujillo, F. Laborda, Analytical applications of single particle inductively coupled plasma mass spectrometry: A comprehensive and critical review, *Anal. Methods*. 13 (2021) 2742–2795J.



Diagnóstico precoz de infecciones en heridas crónicas mediante un biosensor electroquímico basado en membranas nanoporosas

Celia Toyos Rodríguez, Alba Iglesias Mayor, Olaya Amor Gutiérrez, Arnau Bassegoda, Tzanko Tzanov, Alfredo de la Escosura.

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Química Física y Analítica, C/ Julián Clavería 8, s/n, 33006, Oviedo, toyoscelia@uniovi.es

Las heridas crónicas representan un importante desafío en los países desarrollados, afectando de forma silenciosa a entre un 1-2% de la población [1] y siendo la infección el mayor factor de cronicidad. Actualmente, se carece de métodos que permitan un diagnóstico rápido de la presencia de infección, lo que conlleva a una administración deficiente de antimicrobianos, causante de la aparición de bacterias resistentes a antibióticos, y asociada a un aumento de los tiempos de hospitalización y las tasas de mortalidad [2].

En este trabajo [3], se propone una novedosa metodología basada en el uso de membranas de alúmina nanoporosa y electrodos de óxido de indio y estaño sobre soporte de politereftalato de etileno (ITO/PET) para la monitorización de lisozima, una enzima producida por el sistema inmune en respuesta a una infección. Para ello, el peptidoglicano, un componente de la capa bacteriana y sustrato de la lisozima, se inmoviliza en las paredes interiores de los nanocanales, bloqueándolos tanto estérica como electrostáticamente. En presencia de la lisozima, el peptidoglicano se degrada específicamente, produciendo el desbloqueo del nanocanal. Este método analítico permite detectar este biomarcador a niveles de 280 ng/mL. Dadas las extraordinarias propiedades de filtrado de las membranas de alúmina nanoporosa, se pudieron diferenciar con precisión los niveles de lisozima en exudados de heridas de pacientes con úlceras tanto estériles como infectadas, sin necesidad de ningún tratamiento previo de la muestra. Esta tecnología nos acerca a un análisis rápido y descentralizado de las infecciones en heridas crónicas, ayudando a reducir costes y, sobre todo, a salvar vidas.

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (MICINN) (proyecto MCI-21-PID2020-115204RB-I00) y las Ayudas para Grupos de Investigación del Principado de Asturias (SV-PA-21-AYUD/2021/51323). C. Toyos-Rodríguez agradece al MICINN por la concesión de la Ayuda para contratos predoctorales para la formación de doctores "FPI" (PRE2018-084953). A. de la Escosura-Muñiz agradece al MICINN por la concesión de la Ayuda para Contratos "Ramón y Cajal". Los autores también agradecen a la Unidad de heridas crónicas del Hospital Universitario Central de Asturias, en especial al Prof. Víctor Asensi y Susana Valerdez por proporcionar las muestras reales empleadas en este trabajo.

[1] Eming S.A. et al., Sci. Transl. Med. 2014. 6. 265sr6, [2] Dowset C. et al., J. Wound Care 2014. 23. 552-562, [3] Iglesias-Mayor A. et al., Biosens. Bioelectron. 2022. 209. 114243.



A MULTI-OMICS APPROACH TO DECIPHER THE POTENTIAL OF RHODIUM NANOPARTICLES AS PHOTOSENSITIZING AGENT IN PHOTODYNAMIC CANCER THERAPY

Andrés Machuca Marcos, Estefanía García Calvo, Daniela Santos Anunciação, Jose Luis Luque García.

Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Av. Complutense s/n, 28040, Madrid, amachu01@ucm.es

Nowadays, metallic nanostructures have become widely exploited in almost all scientific areas due to their exceptional properties conferred mostly by their nanosized nature. Such is the case of photodynamic therapy, which combines two non-harmful components, light and a photosensitizer (PS), and takes advantage of their interaction to induce a cytotoxic damage and kill malignant cells in a highly selective way. Even though organic compounds such as porphyrins or dyes have been considered as the conventional photosensitizers, it has been proved that some types of nanomaterials can act as direct photosensitizers generating reactive oxygen species after light irradiation, thus overcoming some problems associated with organic PS such as its poor solubility [1].

Mainly investigated with catalytic purposes over the years, rhodium nanomaterials have been gone largely unnoticed in biomedical research. Such is the case of rhodium nanoparticles (RhNPs), which have only recently been described as potential photosensitizer agents in photodynamic therapy against cancer [2]. Interestingly, we have previously demonstrated the negligible toxicity of small sized RhNPs in HeLa cells on a wide range of concentrations, and a drastic decrease in cellular viability accompanied with apoptosis induction when a 800 nm near infrared (NIR) laser is applied after the nanoparticles are internalized [2].

Based on previous results, we designed a multi-omics approach to unravel the biomolecular mechanisms underlying the role of the RhNPs in the photodynamic effect. A mRNA array-based transcriptomic and SILAC-based proteomic analyses were accomplished, showing 24 genes and 108 proteins significantly altered in cancer cells subjected to RhNPs-mediated photodynamic therapy, respectively.

By integrating the proteomic and transcriptomic profiles of treated cells, we established a consistent mechanism of action of the photo induced toxicity of RhNPs, through alterations of the redox state of the cells and energy acquiring pathways such as β -oxidation of fatty acids and ATP homeostasis. This mechanism was also supported by the targeted analysis of the four principal energy-related metabolites (ATP, ADP, NAD⁺ and NADH) through LC-QqQ-MS based targeted metabolomics, showing decreased levels of each metabolite except for NADH [3]. Additionally, oxidative damage was confirmed by relative quantification of intracellular ROS at both cytosolic and mitochondrial levels using electron paramagnetic resonance (EPR).

In conclusion, the results derived from this research have shown not only the potential of RhNPs in photodynamic therapy against cancer, but also the molecular mechanisms by which these nanoparticles exert their action.

1. J. Chen, T. Fan, Z. Xie, Q Zeng, P. Xue, T. Zheng, Y. Chen, X. Luo, H. Zhang, *Biomaterials* 237 (2020)., 2. A. Machuca, E. García-Calvo, D. S. Anunciação, J.L. Luque-García, *Chemistry - A European Journal* 26 (2020) 34., 3. A. Machuca, E. García-Calvo, D. S Anunciação, J.L. Luque-García, *Pharmaceutics* 13 (2021) 10.



Determinación de PSA mediante aptasensores electroquímicos para el diagnóstico de cáncer de próstata

Paula Gómez Mejjide, Rebeca Miranda Castro, Jose Ignacio García Alonso, María Jesús Lobo Castañón, Pablo Rodríguez González, Noemí de los Santos Álvarez

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica, Av. Julián Clavería 8, 33006, Oviedo, paulagomezmejjide@hotmail.com.

El cáncer de próstata es el tipo más común de cáncer en hombres y presenta una de las tasas de mortalidad más altas. El diagnóstico precoz de esta enfermedad se realiza mediante la determinación de la concentración del antígeno prostático específico (PSA) en suero. A día de hoy se desconoce el valor de PSA de referencia que permita distinguir pacientes sanos de enfermos o estimar la agresividad del cáncer(1). Como consecuencia, los pacientes con valores sospechosos de PSA situados en la zona gris (4-10 ng/mL) tienen que ser sometidos a una biopsia del tejido prostático para confirmar un diagnóstico que frecuentemente resulta negativo(2), ya que se han descritos hasta un 20% de falsos negativos.

La glicosilación es un mecanismo de modificación post-transduccional que se altera en pacientes con cáncer. Existen estudios que relacionan cambios en la composición de los glicanos de la PSA con transformaciones malignas de la próstata y con la progresión del tumor. Recientemente nuestro grupo de investigación ha obtenido mediante método SELEX (evolución sistemática de ligandos mediante enriquecimiento exponencial) un aptámero con reconocimiento binario, es decir, capaz de reconocer específicamente los glicanos de la PSA puesto que interacciona no sólo con la estructura del azúcar sino también con los aminoácidos cercanos al sitio de glicosilación, lo que permite discriminar la PSA de otras glicoproteínas con una estructura de glicanos similar(3). Además, la fracción de PSA reconocida por este aptámero permite una mejor discriminación entre pacientes con cáncer de próstata y con enfermedades benignas de la próstata.

En este trabajo se ha integrado dicho aptámero en un aptasensor electroquímico autoindicador. Se han explorado diferentes estrategias que se basan en la formación de una monocapa autoensamblada mixta sobre electrodos de oro compuesta por el aptámero solo o hibridado con su cadena complementaria. La señal analítica proviene de la molécula electroactiva azul de metileno con la que se ha marcado una de las cadenas de ADN inmovilizadas. Se han optimizado los parámetros instrumentales para realizar la detección por voltamperometría de onda cuadrada y se han evaluado las características de cada uno de los diseños estudiados, teniendo como objetivo final la obtención de un aptasensor robusto que pueda ser implementado en laboratorios clínicos para el cribado masivo de cáncer de próstata.

(1) K. Izumi, H. Ikeda, A. Maolake, K. Machioka, T. Nohara, K. Narimoto, S. Ueno, Y. Kadono, Y. Kitagawa, H. Konaka, A. Mizokami, M. Namiki, *Prostate*, 75 (2015) 1034, (2) J. Herson, *Int. J. Clin. Oncol*, 21 (2016) 22, (3) A. Díaz-Fernández, R. Miranda-Castro, N. Díaz, D. Suárez., N. de-los-Santos-Álvarez, M. J. Lobo-Castañón, *Chem. Sci.*, 11 (2020) 9402.



DETERMINATION OF ZINC OXIDE AND TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES IN MOSTURISING CREAMS BY spICP-MS

Iria Rujido-Santos, Paloma Herbello-Hermelo, Pilar Bermejo-Barrera, María Carmen Barciela-Alonso, Antonio Moreda-Piñeiro

Universidad de Santiago de Compostela, Facultad de Química, Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Avenida das Ciencias, s/n, 15782 Santiago de Compostela, iria.rujido@usc.es.

Zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) and titanium dioxide nanoparticles (TiO₂NPs) are widely used in the cosmetic industry as ultraviolet filters because of inorganic filters do not generate allergic skin reactions and they are photostable unlike several organic filters. In Europe, the addition of nanoparticles (NPs) to cosmetic products shall be notified to the European Commission six months prior to their commercialisation (Regulation 1223/2009) [1]. According to this regulation, compounds which are in form of nanomaterials must be clearly indicated in the list of the ingredients of cosmetics by the word “nano” in parenthesis.

TiO₂NPs and ZnONPs has been determined by single particle inductively coupled plasma mass spectrometry (spICP-MS) after an ultrasound-assisted extraction using acetone as an extractant [40 mL of acetone, 40% amplitude, and 5 min using a discontinuous mode (59 s of relax afterwards 59 s tip sonication)].

Titanium and TiO₂NPs have been successfully quantified by monitoring the 48Ti¹⁴NH₃⁺ adduct (mass/charge ratio of 131) using an ammonia flow rate of 1.0 mL min⁻¹ (RPq=0.2). A study of interferences demonstrated that zinc and ZnONPs quantification (monitoring of m/z ratio of 66) by ICP-MS or spICP-MS can be performed in a standard mode in samples containing up to 500 µg L⁻¹ of titanium.

The precision of the whole developed procedure has been evaluated preparing eleven extracts using the optimal extraction conditions. Relative standard deviation (RSD) values below 10% were obtained for both TiO₂NPs and ZnONPs number concentration and sizes, proving that the proposed methodology was repeatable. Furthermore, analytical recovery percentages of 119±3% and 102±12% were achieved for TiO₂NPs (50 nm) and ZnONPs (50–80 nm) suspensions, respectively, which proved that the spICP-MS measurements were accurate. The validated methodology was applied to several commercial moisturising creams with solar sun protection. Particle number concentrations were found to be in the range of 2.37×10¹¹–5.34×10¹² ZnONPs g⁻¹ and 3.32×10¹¹–1.50×10¹³ TiO₂NPs g⁻¹, whereas mean sizes varied within the 86–175 nm (ZnONPs) and 84–145 nm (TiO₂NPs) ranges.

The total metal content in the studied moisturisers (microwave-assisted acid digestion prior to ICP-MS analysis) has been compared with the total metal content in extracts. It was found that an important influence of sample’s matrix on extraction efficiencies.

Acknowledgements

The authors wish to acknowledge the financial support of Ministerio de Economía y Competitividad (project INNOVANANO, reference RT2018-099222-B-100), and Xunta de Galicia (Grupo de Referencia Competitiva, grant number ED431C2018/19). I. Rujido-Santos thanks the Xunta de Galicia and the European Social Fund (FSE) for a pre-doctoral grant (ref. ED481A-2018/127).

[1] Regulation (EC) N° 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products, Official Journal of the European Union, L342, 2009, March 1, 1–392



Optimization of a fluorescent lateral flow immunoassay (F-LFIA) for detection of plasma-derived extracellular vesicles

Baihui Wang, José María Duque, Guillermo García-Santos, María Fernández-Hevia, Luis Sánchez, Luis García-Flórez, Esther Serrano-Pertierra, María Carmen Blanco-López

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica, Julián Clavería 8, 33006 Oviedo, WRainta@gmail.com.

In the biomedical field, extracellular vesicles (EVs) have gained attention as mediators of intercellular communication. Combined with their relative abundance and ubiquitous presence in bodily fluids, EVs can offer unique advantages as non-invasive biomarkers [1]. Thus, efficient, accurate detection of EVs is in significant demand. In this sense, the use of lateral flow immunoassays (LFIA) could provide rapid and efficient detection of EVs present in a variety of body fluids. Employing fluorescent labels as reporters in these assays offers unique advantages, such as high sensitivity.

In this work, we have evaluated three different sizes of EuNPs (100, 200, and 300 nm) as reporter labels for LFIA aimed to detect EVs from real samples (plasma). Their performance was compared with that of gold nanoparticles, the most used labels in LFIA. These studies were carried out using the immunoaffinity system biotin-neutravidin since the vitamin biotin and the protein neutravidin bind together irreversibly [2]. Basically, neutravidin coupled EuNPs and AuNPs were utilized in LFIA to bind with biotin, which was immobilized on the membrane in advance as test line. The signal intensities were quantified with the lateral flow reader, Calibration curves were obtained to compare their abilities as LFIA reporters. Then, functionalized EuNPs 200nm with an antibody against tetraspanin CD63 (detection antibody) were used as labels to detect a range of concentrations of EVs isolated from plasma by size exclusion chromatography (SEC). Antibodies anti-CD9 and anti-IgG were dispensed on a nitrocellulose membrane as test line and control line, respectively.

The assay showed that EuNPs with diameter of 200nm performed the best as labels in LFIA and EV could be sensitively detected with them, even in high diluted SEC fractions by employing a minimum volume of the sample and reaching a limit of detection of 5.27×10^4 EVs / μ l. The fluorescent LFIA may be used for rapid, on-site detection of plasma derived EVs isolated by SEC. This system achieved low LOD. In addition, our system may be adapted to other surface markers to characterize further freshly isolated EV fractions according to the field of interest.

Acknowledgements: This work was funded by the Ministerio de Ciencia y Tecnología, grant number MCI-21-PID2020-119087RB-I00, and FUNDACION PARA LA INVESTIGACION CIENTIFICA Y TECNICA FICYT SV-PA-21-AYUD/2021/52132. Support from the European Regional Development Fund (ERDF) is gratefully acknowledged.

[1] S. Risticivic, H. Lord, T. Górecki, C.L. Arthur, J. Pawliszyn, Nat. Protoc. 5 (2010) 122-139.

[2] D. Mathieu, J. Nony, R. Phan-Tan-Luu, NEMRODW (Version 2015).



Desarrollo de metodologías para análisis isotópico de micromuestras mediante ICP-MS de tipo multi-colector: investigación de fluidos oculares para el estudio de patologías neurodegenerativas

Lara Lobo Revilla, Eva Valencia-Agudo, Marta Aranz, Héctor González-Iglesias, Rosario Pereiro.

Oviedo, Química, Química Física y Analítica, Julián Clavería 8, 33006, Oviedo, lobolara@uniovi.es

Si bien durante la última década ha quedado patente que la medida de relaciones isotópicas proporciona información muy valiosa para entender procesos bioquímicos del organismo y como herramienta complementaria en el diagnóstico/pronóstico de enfermedades, la mayoría de los estudios realizados hasta la fecha, no obstante, se limitan al análisis de sangre/suero como muestra de estudio. Dada la localización sistémica de este fluido, parece más conveniente emplear fluidos o tejidos compartimentados en el organismo para poder hacer una interpretación más directa y sencilla del análisis de la composición isotópica. Por esta razón, nos hemos planteado investigar el potencial del análisis de la composición isotópica en fluidos oculares para estudiar trastornos oftalmológicos, en particular, enfermedades neurodegenerativas asociadas a la edad.

En concreto, nos hemos centrado en el análisis de humor acuoso, un fluido intraocular vital en la fisiología del ojo. En este caso, la disponibilidad de muestra es muy limitada (100-250 μ L) en comparación con la sangre/suero por lo que ha sido necesario desarrollar estrategias de purificación y medida de la composición isotópica adaptadas a la cantidad de analito disponible. Así, por un lado, se ha desarrollado una metodología para la purificación de Ca y posterior análisis isotópico y por otro se ha llevado a cabo el análisis de la composición isotópica de Cu y Zn. En ambos casos, las metodologías utilizadas se han aplicado para estudiar alteraciones derivadas del glaucoma, analizando para ello individuos sanos y pacientes con dicha patología. Adicionalmente, estos estudios de la composición isotópica, llevados a cabo mediante ICP-MS de tipo multi-colector, se han complementado con el análisis de la composición elemental medida mediante ICP-MS.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido posible gracias a la financiación recibida por el proyecto PID2019-107838RB-I00 de la Agencia Estatal de Investigación (AEI)/10.13039/501100011033). Así mismo, M.A. agradece a la Universidad de Oviedo la beca predoctoral PAPI-21-PF-05. E. V-A. agradece la financiación recibida a través de la beca pre-doctoral FPI (Ref. BES-2017-080518) del Ministerio de Economía y Competitividad.

..



Electroanalytical biosensors as powerful tools to face the unprecedented COVID-19 pandemic: Serological quantification of SARS-CoV-2 immunoglobulins and immunity monitoring against emerging variants of concern.

Rebeca M. Torrente-Rodríguez, Ana Montero-Calle, Clara San Bartolomé, Olga Cano, Monica Vazquez, María Iglesias-Caballero, Andrés Corral-Lugo, Michael J. McConnell, Mariona Pascal, Vicente Mas, José M. Pingarrón, Rodrigo Barderas, Susana Campuzano.

Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Avda. Complutense s/n, 28040, Madrid, rebecamt@ucm.es

Despite the advances that the scientific community has been offering for more than two years now to address the concerns associated with the COVID-19 pandemic worldwide, available tests for reliable quantitative analysis of serological biomarkers related to SARS-CoV-2 remains too scarce. Quantitative interrogation of biological entities that appear consequently after wild-type or mutant COVID-19 infection and/or vaccination is essential to the insightful comprehension of the changing-nature of SARS-CoV-2 virus [1].

With all these concerns in mind and inspired by the satisfying idea of contributing as much as possible to the proposal of affordable solutions for the management of COVID-19, we have designed and implemented simple yet practical analytical biotools that boast astonishing versatility and multifunctional power to deal with and solve a wide spectrum of clinical demands related to COVID-19.

By exploiting the remarkable advantages offered by electrochemical-based transduction modality merged with protein engineering, we have expanded the applicability field of these sensing devices through the development of a flexible and multiplexed SPCE-based amperometric platform consisting of Spike (S) and Nucleocapsid (N)-functionalized magnetic micro-sized beads for the capture of serological SARS-CoV-2 immunoglobulin (Ig) isotypes. Employment of the corresponding specific and enzyme-labeled anti-Ig probes provides the required selectivity for the sensitive determination of S and N-specific IgG, -M, -A, and total Igs in serum samples from PCR-confirmed COVID-19 infected and in subjects that received different types of vaccine dosage, as well as to detect the immune response against the wild-type and the most recent SARS-CoV-2 mutants, including the home-made, expressed recombinant wild-type (wt), alpha (α), kappa (κ), delta (δ), and omicron (\omicron) variants of concern, that greatly correlated with results reported by other authors [2], [3]. The outstanding performance of our platform has made it possible to provide, in a pioneer manner with these metering devices, reliable cut-off values for S- and N-Ig isotypes to differentiate between infected and non-infected individuals as well as to quantify the protective immunoglobulins induced by vaccination.

The impressive performance capabilities displayed by our user-friendly platform, as well as the overwhelming applications it can cope with, make us dare to convincingly claim that we are facing one of the most promising electroanalytical devices to confront the unprecedented crisis produced by COVID-19.

[1] K. Noda, et al. *Sci Rep.* 2021, 11: 5198., [2] W. Zeng, et al. *Transduct. Target Ther.* 2021, 6, 35., [3] J. Hu, et al. *Cellular & Molecular Immunology* 2022, 19, 293-295.



A fit-for-purpose copper speciation method for the determination of exchangeable copper relevant to Wilson's disease

María Estela del Castillo Busto(1,2), Christian Ward-Deitrich(2); Heidi Goenaga-Infante(2).

(1) University of A Coruña, Grupo de Química Analítica Aplicada (QANAP), University Institute of Research in Environmental Studies (IUMA), Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Campus de A Coruña, s/n, 15071, A Coruña, Spain. (2) LGC Limited, National Measurement Laboratory (NML), Queens Road, Teddington, Middlesex TW11 0LY, UK. estela.delcastillo@udc.es

Wilson's disease (WD) is a genetic disorder of copper (Cu) metabolism characterised by the accumulation of this metal in various body tissues, mostly liver, brain and the cornea of the eye. This overload is caused by mutations in the Cu-transporter gene (ATP7B gene) that participates in Cu metabolism and its removal from the body. An early diagnosis of WD is crucial to prevent the progression of the disease that could lead to irreversible hepatic, neurological and psychiatric damages. Exchangeable Copper (CuEXC), mainly comprised of Copper (Cu) bound to Albumin, has been proposed as a specific marker of Cu overload in WD. To the author's knowledge, there are no methods capable to determine reliably CuEXC to meet the requirements and challenges faced by a clinical trial.

The present work describes a novel speciation strategy for the determination of the main Cu-species in human serum by anion-exchange HPLC-ICP-MS. A label-free protein quantification approach was conducted where the concentration of Cu associated to the protein fraction is based on its relative peak area distribution and the total Cu concentration in the sample. Such methodology was characterised in terms of selectivity, sensitivity, precision and robustness. Due to the lack of speciated Cu-reference materials, protein recovery was assessed by comparison with that of species-specific (SS) isotope dilution (ID). For this, a double SS HPLC-ICP-IDMS method for Cu-Albumin was developed and presented here for the first time. Three human sera (two frozen LGC8211 and ERM®-DA250a, and the lyophilised Seronorm™ Human) were analysed using both the relative and ID quantification methods. The validated relative approach, with relative expanded uncertainties ($k=2$) between 5.7 and 10.1% for Cu-Albumin concentrations ranging from 112 to 455 $\mu\text{g kg}^{-1}$ Cu, was found able to discriminate between healthy and WD populations in terms of Cu-Albumin content. Also, using such methodology, underestimation of CuEXC by the classical EDTA/ultrafiltration method was demonstrated.

The methodology developed in this work will be invaluable to provide CuEXC reference values and Cu speciation data to support clinical measurements. It will also help monitoring efficiency of Cu chelating drugs, aiming at finding more effective therapies.

Acknowledgements

The work presented here was funded by the EMRP Joint Research Project "Metrology for metalloproteins" (HLT-05 2012) and the UK government Department for Business, Energy & Industrial Strategy (BEIS). M.E. del Castillo Busto also thanks the Next Generation EU and the Spanish Government for her María Zambrano Grant (RSU.UDC.MZ08).



MASS-PRODUCED MATERIALS AS BASIS FOR LOW-COST (BIO)ELECTROANALYSIS: PINS, TIPS AND TUBES

Estefanía Costa-Rama, Olaya Amor-Gutiérrez, Andrea González-López, Ilaria Stanzione, Paula I. Nanni, Alejandro García-Miranda Ferrari, Estefanía Nuñez-Bajo, Anna Pennacchio, Alessandra Piscitelli, Paola Giardina, Rossana E. Madrid, M. Teresa. Fernández-Abedul

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica, Av. Julián Clavería 8, 33006, Oviedo, mtfernandeza@uniovi.es.

Nowadays, there is a widespread interest in developing simple and cheap analytical methodologies that produce fast, on-site and reliable responses. Electrochemical techniques are ideal as detection approaches for the construction of analytical devices which fit perfectly with these purposes, especially in combination with low-cost materials. Thus, in this work, we present innovative electrochemical devices based on the use of mass-produced cheap materials of common use such as pins, staples, and thumbtacks.

The use of commercial stainless-steel pins (commonly used for sewing) for electroanalytical purposes makes possible to obtain low-cost analytical devices with versatile designs and disposition of the electrodes. We have used them to develop different electroanalytical systems in which a carbon-coated surface acts as working electrode (WE) and two bare pins (or staples, or wires) act as reference (RE) and counter (CE) electrodes. Using these pins as basis, we have designed electroanalytical devices for the determination of analytes in very different samples: i) an enzymatic biosensor that uses a transparency sheet as support, and ii) a flow injection analysis (FIA) system, both for glucose determination in drinks; and iii) a batch injection (BIA) electroanalytical system for epinephrine determination in pharmaceuticals [1]. On the other hand, we have used small common lab materials, which are normally used as liquid containers, such as micropipette tips or microcentrifuge tubes, as basis for developing electroanalytical devices combining them with pins as electrodes. With the designed devices, determination of surfactants in water and biomarkers for differential diagnosis of stroke, were performed respectively [2]. We have also used micropipette tips as substrate for the immobilization of a chimeric protein containing the enzyme laccase. With this tip the determination of caffeic acid in drinks were carried out by its enzymatic oxidation and further electrochemical detection of the generated product.

On another note, chromatographic filter paper was combined with stainless-steel staples, used as electrodes, for the immunoelectrochemical detection of human tissue transglutaminase (related to celiac disease). We have also combined this substrate also with electronic wires for glucose detection in drinks [3]. Finally, an electrochemical cell, which includes carbon-coated thumbtacks (WE) and stainless-steel wires (RE and CE) is being also evaluated as a proof-of-concept for the design of novel low-cost electroanalytical platforms.

This work has been supported by the grant PID2020-118376RA-I00 (funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033) and project AYUD/2021/51289 (Government of the Principality of Asturias, Ficyt and FEDER Program of the European Union).

[1] A. García-Miranda Ferrari, *Sens. Actuator. B-Chem.* 253 (2017) 1207-1213, [2] A. González-López, *Talanta* 224 (2021) 121732, [3] O. Amor-Gutiérrez, *Biosens. Bioelectron.* 135 (2019) 64-70.



Análisis espacial múltiple de (metal-)proteínas en la matriz extracelular de tejido mamario por LA-MS: influencia en el desarrollo de metástasis del cáncer de mama

María Luisa Fernández Sánchez, Raquel Gonzalez de Vega, Dylan Johnson, Noemi Eiro, Luis O. Gonzalez, Francisco J. Vizoso, Philip Doble, David Clases

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica, Julián Clavería, 33012, Oviedo, marisafs@uniovi.es.

El cáncer de mama es considerado un problema de salud a nivel mundial, la enorme tasa de mortalidad debido a la alta capacidad de invasión y metástasis genera una mayor necesidad de detección temprana y caracterización de los tumores de mama. Los procesos biológicos de las células cancerosas (tumorigénesis, proliferación, angiogénesis, apoptosis e invasión) están muy influenciados por el microambiente tumoral. La investigación en las últimas décadas está remarcando cada vez más la importancia de la interacción del tumor con la matriz extracelular (MEC), compuesta por una compleja mezcla de proteínas, proteoglicanos y glicoproteínas y metaloproteasas que confieren las propiedades estructurales de células y tejidos. Dichas proteínas ejercen a su vez un papel regulador de una extensa variedad de procesos celulares (1).

Las metaloproteasas de matriz (MMPs) son una familia de proteasas dependientes de zinc con la capacidad para degradar las proteínas que forman la MEC y llevar a cabo diferentes funciones biológicas. El particular, a MMP-11 (estromelisin-3) se ha detectado en células cancerosas, células del estroma y microambiente adyacente (2).

La fosfatasa CD45 es una glicoproteína transmembrana de alto peso molecular que posee actividad tirosina fosfatasa jugando un rol importante en los procesos de activación celular. Estudios recientes sugieren que la densidad de expresión de CD45 sobre las células pudiera ser considerada como un factor pronóstico adicional a malignidad en el cáncer de mama conjuntamente, con el resto de los factores pronósticos biológicos, clínicos y moleculares.

Este estudio muestra nuevas estrategias basadas en LA-MS para investigar la distribución/cuantificación de Zn, MMP-11 y CD45 en tejidos mamarios normales y cancerosos y su posible potencial como biomarcadores de pronóstico del cáncer de mama. Las imágenes cuantitativas por LA-ICP-MS y MALDI-MS muestran niveles de Zn y MMP-11 en los tejidos de mama cancerosos significativamente más altos que los encontrados en tejido no tumoral y/o sano. Las distribuciones espaciales elementales y moleculares se correlacionaron con aspectos histológicos en tejidos mamarios.

Asimismo, la metodología desarrollada, para el análisis cuantitativo multiplexado de MMP-11 y CD45 en tejidos de cáncer de mama metastásico, no metastásico y sano mediante LA-ICP-MS asistido por inmunohistoquímica, permite la obtención de imágenes cuantitativas de dichas proteínas y su distribución espacial en la MEC. La alta sensibilidad y resolución de LA-ICP-MS fueron específicamente útiles para sondear el microambiente tumoral y proporcionar datos los niveles de proteínas en las MECs que con ayuda de modelos estadísticos señalen objetivamente las diferencias entre varias cohortes.

(1) J Insua-Rodríguez, T Oskarsson, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 97 (2016) 41, (2) M. Fraile, A. Cernea, R. Sánchez, A. Andicoechea, E.J.D. Galiana, L.O. González, Z. Fernández-Muñiz, J.L. Fernández-Martínez, F.J. Vizoso, *Histopathology* 75 (2019) 916



ELECTROCHEMICAL SENSOR FOR THE ASSESSMENT OF GLYCOSYLATION LEVEL OF TRANSFERRIN: APPLICATION TO DISEASE DIAGNOSIS

Agustin Gonzalez Crevillen, Tania Sierra, Gema Rodríguez-Hidalgo, Silvia Dorte, Alberto Escarpa.

Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED), Facultad de Ciencias, Ciencias Analíticas, Urbanización Monte Rozas, Avda. Esparta s/n, Crta. de Las Rozas-Madrid Km 5, 28232, Las Rozas (Madrid), Despacho 2.10, 28232, Las Rozas (Madrid), agustingcrevillen@ccia.uned.es

The alterations of glycosylation profile in glycoproteins are often associated with diverse diseases, including cancer and other kinds of inflammation stages. In this sense, there is an important glycoprotein, transferrin (Tf), which is used as biomarker for the diagnosis and the follow-up of two diseases: congenital disorders of glycosylation (CDG, a kind of rare disease) and chronic alcohol abuse [1].

We propose a new parameter to measure the glycosylation level of Tf, called “electrochemical index of glycosylation (EIG)” [2]. It can be easily measured by a simple screen-printed carbon electrode (SPCE). The methodology is based on the use of an electrochemical tag (Os(VI) complex), which selectively reacts with the glycans present in Tf. The Tf-Os(VI) adduct generates two voltammetric signals: one from carbohydrates (electrochemical signal of Os(VI) complex at -0.9 V/Ag) and one from the amino acids present in glycoprotein (intrinsic electrochemical signal of glycoprotein at +0.8 V/Ag). The ratio between both signals (carbohydrate signal/amino acids signal) is an indicator of the glycosylation level of Tf (EIG). This parameter showed an excellent correlation with the official parameter % carbohydrate deficient transferrin (%CDT).

Combining anti-Tf immunomagnetic beads and SPCE, we developed an electrochemical sensor for the assessment of EIG for Tf in biological samples. The suitability of this approach for disease diagnosis was evaluated in two different scenarios: (i) analyzing serum samples of patients with CDG [2]; and (ii) alcohol abuse in an animal model, analyzing plasma from Wistar rats [3]. In both cases, the results were satisfactory, because the sensor was able to discriminate between healthy and sick individuals.

Acknowledgements

This work has been financially supported by the TRANSNANOAVANSENS program from the Community of Madrid (P2018/NMT-4349), Spanish Ministry of Economy, Industry and Competitiveness (CTQ2017-86441-C2-1-R), Grant PID2020-118154GB-I00 funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033, Spanish Ministry of Health (Plan Nacional de Drogas 2021, 2021I043) and the Universidad de Alcalá (FPI fellowship (T.S), Spain).

[1] F. Bortolotti, D. Sorio, A. Bertaso, F. Tagliaro, Analytical and diagnostic aspects of carbohydrate deficient transferrin (CDT): A critical review over years 2007-2017, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 147 (2018) 2-12., [2] T. Sierra, A. G. Crevillen, A. Escarpa, Electrochemical sensor for the assessment of carbohydrate deficient transferrin: Application to diagnosis of congenital disorders of glycosylation, *Biosens. Bioelectron.* 179 (2021) 113098., [3] G. Rodríguez-Hidalgo, T. Sierra, S. Dorte, A. Marcos, E. Ambrosio, A.G. Crevillen, Alberto Escarpa, Screen-printed-based electrochemical sensor for the screening of alcohol abuse: Validation in an animal model, *Microchem. J.*, sent (2022)



Selective and Sensitive Electrochemical Assay of Regorafenib Using a Molecularly Imprinted Polymer Based Sensor

S. Irem KAYA(1), Nurgul K. BAKIRHAN(1), Mehmet Emin CORMAN(2), Lokman UZUN(3), Sibel A. OZKAN(4)

University of Health Sciences, Gulhane Faculty of Pharmacy, Department of Analytical Chemistry, Tandogan, 06100 Ankara, Turkey, ikaya19.07@hotmail.com.

- (1) University of Health Sciences, Gulhane Faculty of Pharmacy, Department of Analytical Chemistry, 06018 Ankara, Turkey
 (2) University of Health Sciences, Gulhane Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, 06018 Ankara, Turkey
 (3) Hacettepe University, Faculty of Science, Department of Chemistry, Ankara, Turkey
 (4) Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Analytical Chemistry, 06100 Ankara, Turkey

In this study, a novel molecularly imprinted polymer (MIP)-based electrochemical sensor was developed for the selective and sensitive analysis of and anticancer drug, regorafenib (REG). REG, a dual-targeted tyrosine kinase inhibitor, is used in metastatic colorectal cancer, gastrointestinal stromal tumor and hepatocellular carcinoma [1]. Therefore, it is important to develop a faster, easier, more sensitive and less expensive method for the routine analysis of REG. Electrochemical sensors offer high sensitivity, affordability, easy application, environmentally-friendliness, and low limit of detection (LOD) values for drug analysis. Nevertheless, the most important issue is lack of selectivity. MIPs provide a selectivity advantage thanks to the specific cavities for the target analyte [2,3]. poly(glycidyl methacrylate-N-metachryloyl-(L)-tryptophan) [poly(GMA-MATrp)] particles were prepared and then these particles were embedded into a poly(HEMA) sensor surface to obtain a poly(GMA-MATrp)/poly(HEMA) composite materials on sensor surface. Thus, selective electrochemical sensor systems were developed by combining molecular imprinting technology with biosensor technology.

The sensor was prepared via photopolymerization in the presence of poly(glycidyl methacrylate-N-metachryloyl-(L)-tryptophan), REG as the template, and ethylene glycol dimethacrylate (EGDMA) as the cross-linker. The significant experimental conditions related to a stable MIP formation (dropping volume, polymer ratio, removal solution and time, and rebinding time) were optimized. After that the electrochemical characterization of the sensor was performed with cyclic voltammetry (CV) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS) methods. 5 mM ferri/ferro cyanide solution was used as the redox probe in all electrochemical measurements. Under the optimized experimental conditions, REG was determined in the linear concentration range between 1×10^{-10} M and 2.5×10^{-9} M. The LOD and limit of quantification (LOQ) values were calculated as 1.9×10^{-11} M and 6.3×10^{-11} M, respectively. The sensor was applied to spiked human serum and pharmaceutical tablet samples with good recovery and repeatability results. Interference study and imprinting factor analysis were performed to demonstrate the selectivity of the sensor. Lastly, the non-imprinted polymer (NIP)-based sensor was prepared to control and confirm the MIP-based sensor performance.

[1] D. Strumberg, M.E. Scheulen, B. Schultheis, H. Richly, A. Frost, M. Büchert, O. Christensen, M. Jeffers, R. Heinig, O. Boix, K. Mross, Br. J. Cancer. 106 (2012) 1722–1727

[2] R.D. Crapnell, N.C. Dempsey-Hibbert, M. Peeters, A. Tridente, C.E. Banks, Talanta Open. 2 (2020) 100018

[3] M. Noszczyńska, Z. Piotrowska-Seget, Chemosphere. 201 (2018) 214–223



Identificación de firmas lipoproteicas específicas en el plasma a través RMN para diferenciar etapas de la enfermedad de Parkinson: enfoque lipidómico no dirigido

Kateryna Tkachenko, Consuelo Pizarro, Isabel Esteban-Díez, María Espinosa, Fernando Rodríguez-Royo, José-María González-Sáiz.

Universidad de La Rioja, Química Analítica, Química, C/ Madre de Dios, 53, 26006, Logroño, La Rioja, kateryna.tkachenko@unirioja.es

La enfermedad de Parkinson (EP) sigue siendo uno de los trastornos neurodegenerativos del movimiento más comunes, caracterizado por una patogénesis complicada, un diagnóstico difícil e, igualmente, difícil seguimiento de la progresión de la enfermedad 1. Por lo tanto, EP en actualidad falta una herramienta de diagnóstico objetiva caracterizada por una alta sensibilidad, precisión y objetividad. Considerando que el inicio o la progresión de la enfermedad abarca un conjunto de cambios metabólicos y desarreglos, sería posible abordar el diagnóstico de la EP desde una perspectiva holística y funcional.

Aquí, se presenta un enfoque lipidómico no dirigido: la aplicación del lipoperfil de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) junto con el análisis de datos multivariados para extraer espectros RMN que definen subgrupos de pacientes para el diagnóstico diferencial clínico y la estratificación de la EP. La RMN se ha convertido en un enfoque metodológico prometedor, gracias a los avances en la instrumentación y la quimiometría para el análisis de metabolitos y flujos metabólicos en tiempo real.²

Una fortaleza primaria de la investigación desarrollada reside en la aplicación de un eficiente método de selección de variables a dos pasos basado en LDA para extraer un número mínimo (máxima parsimonia) de desplazamientos químicos significativos (firmas de muestras de RMN reducidas) de los espectros de 94 muestras de plasma que sirvieron como base para desarrollar clasificaciones mejoradas. El preprocesamiento cuidadoso de las señales de RMN fue crucial para garantizar la calidad del conjunto de datos. Un total de 30 desplazamientos químicos seleccionados permitieron diferenciar entre pacientes con EP (independientemente de la etapa de la enfermedad), personas con demencia de Alzheimer y sujetos sanos, proporcionando tasas de clasificación, validación cruzada y predicción externa del 100% en todos los casos. Sólo se requirieron 15 variables para discriminar aún más entre la etapa temprana de la EP y la demencia relacionada con la EP, de nuevo con clasificaciones correctas y predicciones internas/externas del 100%.

Esta clasificación altamente fiable demostró que el perfil lipídico alterado en la enfermedad de Parkinson podría ser muy aprovechable para el diagnóstico. Por lo tanto, el lipoperfil reducido de RMN de los nuevos pacientes podría ser utilizado como variables de entrada facilitando el diagnóstico temprano, el tratamiento y el seguimiento de la enfermedad.

Alves, G.; Pedersen, K. F.; Pedersen, K. F. Epidemiology of Parkinson ' s Disease Epidemiology of Parkinson ' s Disease. J. Neurol. 2008, 5 (August 2015), 525-535. (2) Silva, R. A.; Pereira, T. C. S.; Souza, A. R.; Ribeiro, P. R. 1H NMR-Based Metabolite Profiling for Biomarker Identification. Clinica Chimica Acta. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.11.015>. Silva, R. A.; Pereira, T. C. S.; Souza, A. R.; Ribeiro, P. R. 1H NMR-Based Metabolite Profiling for Biomarker Identification. Clinica Chimica Acta. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.11.015>,



High-throughput magnetic-based pipette tip microextraction: determination of testosterone in human saliva as a proof-of-concept

Alberto Chisvert Sanía, José Grau, Juan L. Benedé, Amparo Salvador.

Universidad de Valencia, Facultad de Química, Departamento de Química Analítica, Edificio F - 4a planta, Avda. Doctor Moliner, 50, 46100, Burjassot, alberto.chisvert@uv.es

In order to contribute with new developments in the microextraction field, a lab-made and affordable pipette tip-based high-throughput microextraction approach is presented. This approach consists on quickly disperse a magnetic sorbent in the sample by means of a disperser solvent and the resulting dispersion is immediately aspirated into a pipette tip containing a small neodymium magnet inside, which entraps the magnetic sorbent containing the analytes. The sample is then discarded, and the subsequent cleaning and desorption steps are conducted by aspirating/dispensing the suitable solvents.

This new approach has been tested by measuring testosterone levels in saliva of volunteers as a proof-of-concept employing liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). In this regard, a magnetic composite made of CoFe₂O₄ magnetic nanoparticles embedded in octadecyl bonded silica microparticles was employed as sorbent material. Under the optimized conditions, good analytical features were obtained with just one adsorption and two desorption aspirating/dispensing cycles, which requires few seconds per sample.

Finally, this approach was compared with well-established pipette tip extraction strategies (i.e., pipette-tip solid-phase extraction (PT-SPE) and dispersive pipette extraction (DPX)) obtaining satisfactory results. Furthermore, it requires a minimum number of aspirating/dispensing cycles compared with PT-SPE and DPX, thus benefiting the ergonomics for the operator, and it is not commercially dependent.

Acknowledgments

Grant PID2020-118924RB-I00 funded by Spanish Ministry of Science and Innovation (MCIN/AEI/10.13039/501100011033) is greatly appreciated.

''



BIOSENSOR ELECTROQUÍMICO MULTIPLEXADO DE EVENTOS DE METILACIÓN GLOBAL EN ÁCIDOS NUCLEICOS APLICADO A LA DETECCIÓN DE CÁNCER Y EVALUACIÓN DE SU AGRESIVIDAD

María Pedrero, Eloy Povedano, María Gamella, Rebeca M. Torrente-Rodríguez, Víctor Ruiz-Valdepeñas Montiel, Ana Montero-Calle, Guillermo Solís-Fernández, Fernando Navarro-Villoslada, Alberto Peláez-García, Marta Mendiola, David Hardisson, Jaime Feliú, Rodrigo Barderas, José M. Pingarrón, Susana Campuzano

Universidad de Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Pza. de las Ciencias, 2, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, mpedrero@quim.ucm.es.

Según estudios recientes, las alteraciones epigenéticas, y en concreto la metilación de DNA/RNA, pueden ser eventos iniciadores clave en algunas formas de cáncer. Las alteraciones a nivel global de 5-metilcitosina (5-mC), 5-hidroximetilcitosina (5-hmC) y N6-metiladenina (6mA) en el DNA y N6-metiladenosina en el RNA (m6A) crecen constantemente tanto en importancia como en aceptación como biomarcadores para diagnóstico precoz, tratamiento y pronóstico del cáncer. Sin embargo, la mayoría de las metodologías disponibles para mapear metilaciones de oligonucleótidos no diferencian entre epimarcas, lo que, junto con las propiedades similares de emparejamiento de bases metiladas a las bases no modificadas y su baja abundancia, hacen de su determinación un reto particularmente difícil.

La indudable relevancia de la detección de estas epimarcas, junto con las principales limitaciones de las metodologías disponibles para su determinación fiable y multiplexada, nos llevó a desarrollar la única plataforma descrita hasta la fecha a nivel mundial para la determinación simultánea de 5-mC, 5-hmC, 6mA en DNA y m6A en RNA. En primer lugar, se construyeron plataformas para la determinación individual de cada epimarca seleccionada implementando inmunoensayos competitivos directos en la superficie de microesferas magnéticas que se captaron sobre electrodos serigrafados desechables para realizar la transducción amperométrica en presencia del sistema peroxidasa de rábano picante/H₂O₂/hidroquinona [1]. A continuación, las bioplataformas individuales se integraron en una matriz serigrafada con cuatro electrodos de carbono, lo que permitió llevar a cabo, por primera vez, la determinación sensible, selectiva y rápida de las cuatro epimarcas seleccionadas simultáneamente en un solo dispositivo. La plataforma multiplexada resultante se aplicó con éxito y de forma pionera a la determinación global de m6A en el RNA total extraído de células de cáncer colorrectal con diferente potencial metastásico, y en la determinación de metilaciones globales de 5-mC, 5-hmC y 6mA en DNA genómico extraído de tejidos tumorales y sanos de pacientes con cáncer colorrectal. Los resultados obtenidos en tejidos se utilizaron para clasificarlos como muestras tumorales o no tumorales empleando el método de agrupamiento de Ward, que proporcionó valores de precisión, sensibilidad y especificidad del 87,5, 100 y 75 %, respectivamente. Además, la bioplataforma multiplexada desarrollada muestra potencial clínicamente relevante para evaluar la agresividad de las células tumorales y discriminar tejidos tumorales frente a tejidos sanos en solo 45 minutos a partir de pequeñas cantidades (no superiores a 100 ng) de DNA genómico desnaturalizado y RNA total sin procesar..

E. Povedano, M. Gamella, R. M. Torrente-Rodríguez, V. Ruiz-Valdepeñas Montiel, A. Montero-Calle, G. Solís-Fernández, F. Navarro-Villoslada, A. Peláez-García, M. Mendiola, D. Hardisson, J. Feliú, R. Barderas, J. M. Pingarrón, S. Campuzano, *Anal. Chim. Acta* 1182 (2021) 338946.



Use of Carbon Dots functionalized with modified Cyclodextrins as carriers of Doxorubicin

María Cruz-Alonso, Tania Fontanil López, Alfonso Fernández González, Rosana Badía.

University of Oviedo, Faculty of Chemistry, Department of Physical and Analytical Chemistry, C/ Julián Clavería, 8, 33006, Oviedo, cruzalonso.maria@gmail.com

Anthracyclines represent an important class of anticancer drugs, being one of the most potent ones ever developed. One of these drugs is Doxorubicin (DOXO), being continuously employed in the treatment of leukaemia and various tumors, in particular breast cancer, due to its great efficacy. However, because of its cytostatic effect, stopping cell growth, it causes a series of extremely adverse effects on the human body. Looking for a better compromise between the activity and toxicity of DOXO, studies have focused on the development of improved delivery techniques based on the employment of biocompatible and biodegradable carriers [1].

One type of nanoparticles are Carbon Dots (CDs), a type of nanomaterial that presents unique properties, such as good water-solubility, high photostability, excitation-dependent multicolor emission, flexible surface modification, non-toxicity, and good biocompatibility. Particularly, the latter two properties make it an awesome potential nanomaterial for biosensing, drug delivery and bioimaging, much better than most of the inorganic nanoparticles [2]. In this work, we propose the use of Carbon Dots as carriers and drug deliverers of DOXO, to improve the cancer treatment efficiency and reduce side effects.

To achieve this goal, CDs need the conjugation with molecules able to 'carry' DOXO. Cyclodextrins (CyDs) are water soluble biocompatible cyclic polysaccharides with hydrophobic cavities that can form inclusion complexes with a wide variety of organic and inorganic compounds. For this reason, they have received a lot of attention as pharmaceutical excipients for solubilization, enhancement of stability and bioavailability of drugs. In fact, cyclodextrins have been described to incorporate DOXO within its apolar cavity [3].

Briefly, different concentrations of carboxy-methyl modified CyDs and DOXO were tested and measured by Fluorescence and Circular Dichroism (CD), to obtain the optimal interaction ratio. After that, modified CyDs were conjugated with our home-synthesized CDs by EDC chemistry. The stoichiometry of the resulting conjugated was obtained in order to carry out the interaction studies between CyD-CDs and DOXO, in terms of Fluorescence and DC. The cytotoxicity of new nanomaterials was evaluated through an MMT assay. Finally, DOXO load and release studies were performed to test the adequate use of CDs as carriers, in order to improve the efficacy and safety that presents the current FDA-approved doxorubicin formulations.

[1] N. Zhao, M. Woodle, A. Mixson, *Journal of nanomedicine & nanotechnology* 9 (2018) 1000519, [2] V. Mishra, A. Patil, S. Thakur, P. Kesharwani, *Drug discovery today* 23 (2018) 1219, [3] S. Jacob, A. Nair, *Drug development research*, 79 (2018) 201



Estudio del Perfil Metalómico Plasmático y Eritrocitario en Obesidad Infantil y su Asociación con Alteraciones del Metabolismo Glucídico, Inflamación y Estrés Oxidativo

Raúl González-Domínguez, Álvaro González-Domínguez, María Millán-Martínez, Daniel Sánchez-Rodas, Alfonso María Lechuga-Sancho, Raúl González-Domínguez

Universidad de Cádiz, Hospital Universitario Puerta del Mar, Instituto de Investigación en Innovación Biomédica de Cádiz (INIBICA), Av. Ana de Viya, 21, 11009, Cádiz, raul.gonzalez@inibica.es.

Los elementos metálicos y metaloides regulan numerosos procesos celulares, por lo que la aplicación de técnicas analíticas para la caracterización integral de las metalobiomoléculas presentes en los sistemas biológicos (i.e., metalómica) es de gran interés en investigación biomédica. En este sentido, diversos estudios epidemiológicos sugieren que el metabolismo de diversos metales puede estar directamente implicado en el desarrollo de la obesidad infantil y trastornos metabólicos asociados, como la resistencia a la insulina (RI). Sin embargo, estos estudios se basan en la determinación del contenido total de metales en distintas muestras biológicas, a pesar de que los elementos metálicos pueden encontrarse en múltiples formas químicas, lo cual repercute en su actividad biológica, propiedades toxicológicas, y movilidad entre compartimentos biológicos.

En el presente estudio se describe la aplicación de una metodología de análisis multi-elemental basada en el fraccionamiento de las metalobiomoléculas presentes en el torrente sanguíneo según su tamaño molecular, lo cual permite cuantificar el contenido total de metales, de metaloproteínas, y de metalometabolitos (incluyendo metales libres) [1]. Esta metodología fue aplicada a muestras de plasma y eritrocitos de una cohorte de casos-contrroles consistente en niño/as con obesidad y RI (N=31), niños/as con obesidad sin RI (N=15), y niños/as normopeso (N=26). Asimismo, también se estudiaron diversos marcadores relacionados con el metabolismo glucídico (niveles de glucosa e insulina, hemoglobina glicosilada), la inflamación (proteína C reactiva, interleucina 6, leptina), y el estrés oxidativo (malondialdehído, proteínas carboniladas, actividad catalasa).

Al analizar el contenido de metales totales, únicamente se observaron diferencias significativas en los niveles de cobre, con un mayor contenido en niños obesos independientemente del estado de RI. Por el contrario, el análisis del metaloproteoma plasmático corroboró el aumento de los niveles de cobre en niños con obesidad, pero también una disminución sustancial del contenido en cromo, cobalto, hierro, manganeso, molibdeno, selenio y zinc en niños obesos con RI y, en menor medida, en niños con obesidad metabólicamente sana. Por otra parte, se observó una acumulación de cobre, hierro y selenio en la fracción de alto peso molecular en los eritrocitos de niños obesos, especialmente en aquellos que presentaban RI. Asimismo, análisis de correlación entre las distintas variables estudiadas demostraron una estrecha relación entre estas alteraciones metalómicas y otros eventos patogénicos relacionados con la obesidad infantil y sus comorbilidades, incluyendo fallos en el metabolismo glucídico, procesos inflamatorios y estrés oxidativo exacerbado.

[1] R. González-Domínguez, T. García-Barrera, J.L. Gómez-Ariza. *Metallomics* 6 (2014) 292-300.



Estudio metabólico en suero de pacientes con cáncer de pulmón tras intervención quirúrgica mediante cromatografía líquida de ultra alta eficacia acoplada a cuadrupolo tiempo de vuelo (UHPLC-ESI-QTOF-MS)

Belén Callejón-Leblic, Saida Sánchez Espirilla, Isabel Díaz-Muñoz, Carolina María Gotera Rivera, José Luis Gómez-Ariza, Antonio Pereira-Vega, Germán Peces-Barba y Tamara García Barrera.

Huelva, Facultad de Ciencias Experimentales, Química, Campus El Carmen, Avda. Fuerzas Armadas S/N, 21007, Huelva, belen.callejon@dqcm.uhu.es

El cáncer de pulmón (CP) es una de las causas de muerte más comunes por neoplasia en el mundo dando lugar a más de 1.3 millones de muertes al año [1,2]. Entre los tratamientos más habituales del CP, la cirugía con intención curativa suele tener resultados positivos en pacientes con estadios I y II, siendo también muy importante en pacientes con estadios más avanzados (III y IV) [3]. Es por ello, que tanto la búsqueda de biomarcadores precoces de esta enfermedad, como la evaluación metabólica de la misma tras la cirugía con intención curativa podría proporcionar nuevas aportaciones al diagnóstico y seguimiento del CP. En este trabajo se han analizado un total de 110 muestras de suero de pacientes con CP pre (PRE) y post cirugía (POST), al mes (POSTA) y a los 3-6 meses de la intervención (POSTB), y se han comparado con muestras de sujetos sanos (C) con el fin de estudiar las posibles variaciones en el perfil de metabolitos, así como evaluar la posible recuperación del metabolismo tras la intervención. Para ello, se ha optimizado una metodología metabólica basada en la cromatografía líquida de ultra-alta eficacia (UHPLC) acoplada a un espectrómetro de masas híbrido cuadrupolo-tiempo de vuelo (QTOF) con fuente de ionización de electrospray. El tratamiento de muestra consistió en una extracción secuencial de los metabolitos mediante disolventes orgánicos polares y apolares y análisis combinando dos modos de ionización de análisis positivo y negativo. Tras el análisis, se realizó un análisis estadístico multivariante: análisis de componentes principales (PCA) y análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) para buscar los metabolitos significativos en cada grupo de análisis. Se realizaron además los correspondientes análisis ANOVA y de curvas ROC, para evaluar la especificidad y sensibilidad de los metabolitos alterados. Para la identificación se empleó la base de datos METLIN junto con experimentos MS/MS. El PLS-DA mostró una clara clasificación entre los grupos C, PRE y POSTA, sin embargo se observó un acercamiento del grupo POSTB al C, indicando que algunos metabolitos se recuperan tras la cirugía con intención curativa a los 3-6 meses de la misma. Entre los metabolitos alterados en cáncer de pulmón se encontraron principalmente carbohidratos, flavonoides, ácidos grasos y lípidos prenoles, siendo el metabolismo de estos últimos los menos afectados tras la intervención quirúrgica curativa.

[1] R. Lozano, Lancet. 380 (2012) 2095., [2] A. Jemal, C.A. Cancer J. Clin. 61 (2011) 69., [3] D. Yang, X. Yang, Y. Li, P. Zhao, R. Fu, T. Ren, P. Hu, Y. Wu, H. Yang, N. Guo. J. Transl Med 18 (2020) 243.



A novel methodology for the identification of co-formulants in plant protection products based on chromatographic techniques coupled to high resolution mass spectrometry

Antonio Jesús Maldonado Reina, Rosalía López Ruiz, Roberto Romero González, José Luis Martínez Vidal, Antonia Garrido Frenich

Universidad de Almería, Facultad de Ciencias Experimentales, Departamento de Química y Física, Ctra. Sacramento s/n, CITE I, Laboratorio 1.15, 04120 La Cañada de San Urbano, Almería, amr238@ual.es.

Plant protection products (PPPs) are essential agricultural tools used for pest control. They are composed of at least an active substance (pesticide) and several other components (co-formulants), which comprise a great part of their composition, and include solvents, preservatives, surfactants, emulsifiers, etc. Whereas active substances are completely characterised, information regarding co-formulants is still notably insufficient, since manufacturers are not enforced to disclose them, even though some of them have been proved to trigger negative effects on health.¹ Thus, there is a need of analytical methodologies capable of dealing with the identification of these compounds.

The proposed analytical methodology involves a workflow featuring sample treatment, sample analysis, method validation, and quantification. Cutting-edge techniques covering a wide range of polarity and volatility are proposed; liquid chromatography (LC) and gas chromatography (GC), coupled to Q-Orbitrap high resolution mass accuracy spectrometry (Q-Orbitrap-HRMS). This methodology also addresses different acquisition methods, such as full scan MS or data independent acquisition (DIA).

Regarding data treatment, a combination of suspect screening, based on previous literature research, and most importantly, unknown analysis, is discussed, which can make a huge difference in the results, as opposed to other traditional methodologies relying just on suspect screening. Additionally, different, but complementary, strategies and software for unknown analysis are presented to ensure a reliable tentative identification of co-formulants.

This communication aims at proposing a novel methodology for the elucidation of co-formulants present in PPPs. The methodology is supported by a real case of study based on our findings and experience in the study of co-formulants PPPs, in which 15 PPPs were studied and 120 co-formulants were tentatively identified and 21 were confirmed with analytical standards, including for example, benzene and naphthalene derivatives, alkyl ethoxylates and sodium alkyl benzene sulfonates. The proposed methodology is also highly applicable to other analytical problems focused on the characterisation of samples.

In all, this methodology intends to contribute to the state of the art of the analysis PPPs, as well as to be a resource for further studies concerning PPPs.

Authors gratefully acknowledge the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness and FEDER-EU (project ref. PID2019-106201RB-I00) for financial support. RLR acknowledges to the Andalusian Ministry of Economic Transformation, Industry, Knowledge and Universities for financial support (Ayudas para Captación, Incorporación y Movilidad de Capital Humano de I+D+I, PAIDI 2020). AJMR acknowledges the Ministry of Universities for financial support (FPU, ref. FPU19/04260).

Gatidou, G., Thomaidis, N., Stasinakis, A., & Lekkas, T. (2007). Simultaneous determination of the endocrine disrupting compounds nonylphenol, nonylphenol ethoxylates, triclosan and bisphenol A in wastewater and sewage sludge by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal Of Chromatography A*, 1138(1-2), 32-41.



Estrategias de cuantificación basadas en la combinación de cromatografía líquida bidimensional, dilución isotópica y espectrometría de masas para la cuantificación de biomarcadores clínicos.

Pablo Rodríguez González, Adela Cortés Giménez-Coral, Daniela Pineda Cevallos, Amanda Suarez Fernández, Adriana González Gago, Belén Prieto García, J. Ignacio García Alonso

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica, Julian Clavería 8, 33006 Oviedo, rodriguezpablo@uniovi.es.

La cuantificación de biomoléculas a niveles de trazas en muestras complejas mediante HPLC-ESI-MS/MS presenta grandes dificultades derivadas de la variabilidad de la ionización de la fuente electrospray (ESI). Una de las estrategias más efectivas para corregir los efectos de matriz en la fuente ESI es la estandarización interna utilizando preferiblemente análogos marcados isotópicamente. La corrección de los efectos de matriz requiere una coelución entre el analito y su patrón interno tras la separación cromatográfica. Sin embargo, incluso cuando la estandarización interna es adecuada los componentes de la matriz pueden producir supresión de la ionización o interferencias espectrales repercutiendo negativamente en la precisión y exactitud de las cuantificaciones. Por estas razones, se hace necesaria la aplicación de estrategias de purificación de la muestra específicas de cada analito para obtener resultados fiables. La cromatografía bidimensional en el modo "Multiple heart cutting" permite la aplicación de dos mecanismos de separación diferentes proporcionando no solo una purificación de la muestra sino también un aumento de la resolución cromatográfica entre los analitos y los compuestos interferentes. Además, esta estrategia permite el uso de fases móviles en la primera dimensión que contienen sales o modificadores orgánicos que mejoran la cromatografía, pero no son compatibles con la fuente ESI [1,2]. En este trabajo se presentarán diversas aplicaciones para ilustrar las ventajas y desventajas de la combinación de la cromatografía líquida bidimensional el análisis por dilución isotópica y la espectrometría de masas para cuantificar diversos biomarcadores de enfermedades como por ejemplo péptidos, melatonina, argininas metiladas, creatinina o los metabolitos de la vía de la colina en muestras biológicas.

[1] A. Suarez Fernández, Anal. Chim. Acta (2021) doi: 10.1016/j.aca.2021.339022

[2] A. Suarez Fernández, Journal of Chromatography A (2021) DOI: 10.1016/j.chroma.2021.462752



APPLICATION OF HILIC-MS TO ASSESS POLAR COMPOUNDS DISTRIBUTION IN AVOCADO PEEL, SEED AND PULP DURING FRUIT RIPENING

**Irene Serrano-García, María Gema Beiro-Valenzuela, María Virginia Moreno-Tovar,
Elena Hurtado-Fernandez, Lucía Olmo-García, Alegría Carrasco-Pancorbo.**

Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Química Analítica, Ave. Fuentenueva s/n, 18071, Granada, iserrano@ugr.es

Avocado (*Persea americana* Mill.) is a fruit rich in a wide variety of essential nutrients and phytochemicals. Unlike other fruits, it is characterized by the accumulation of oil and C7 sugars during its growth and development. The C7 carbohydrates, which are rare in nature, with C6 sugars prevailing in other fruits, act as transportable and storage sugars, and also as potential regulators of fruit ripening. There are five essential carbohydrates which constitute 98% of the total soluble sugar content of this fruit; these are fructose, glucose and sucrose (C6 sugars), and D-mannoheptulose and perseitol (C7 sugars). These substances together with quinic and chlorogenic acids were the analytes under study in this work.

In this contribution, the determination of the aforementioned analytes was carried out in three tissues -seed, peel and flesh (stone, exocarp, and mesocarp)- of Bacon and Fuerte avocados. For both varieties, fruits at three different ripening stages were considered: freshly picked fruits, fruits in an intermediate stage of ripening, and ready-to-eat fruits (ripening for consumption).

After applying a solid-liquid extraction procedure (0.2 g of tissue + 2 cycles of 6 ml of EtOH:H₂O, 60:40 (v/v)), samples were analysed by hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) coupled to mass spectrometry (ESI-IT MS). A Fortis HILIC Diol column (2.1 x 150 mm, 1.7 µm particle size) and a gradient with Phase A (H₂O:ACN, 95:5) and B (H₂O:ACN, 95:5), both with ammonium acetate buffer at a concentration of 10 mM, were used. The method showed satisfactory analytical performance and allowed the determination of 7 analytes of interest in all the tested matrices.

In a first stage, the characterization of the three avocado matrices was carried out, determining the quantitative levels of all the selected substances; then, their distribution among the different fruit tissues was established; and finally, their evolution during the softening of the fruit was studied. To sum up, our results show that the most abundant carbohydrate in avocado peel and pulp is D-mannoheptulose, while the most prevalent one in the seed is perseitol. Chlorogenic acid is an organic compound found exclusively in the exocarp and its concentration increases slightly during ripening. Perseitol is a carbohydrate whose overall concentration in the seed decreases as the fruit ripens, which supports the hypothesis that it acts as a storage sugar. Up to now, no study with a structure similar to the one presented here had been previously carried out.



Biomarcadores fecales, hormonas y sus metabolitos como narradores de la historia de la domesticación. El caso del Abrigo de Vallone Inferno, Sicilia, Italia.

Asier Vallejo Ruiz, Asier Vallejo, Vincenza Forgia, Josep Maria Vergès, Ane Gorostizu-Orkaiztegi, Amaia Alday-Izaguirre, Ainhoa Elejaga-Jimeno, M. Carmen Sampedro, Alicia Sánchez-Ortega, Ramón J. Barrio

Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Facultad de Farmacia, Departamento de Química Analítica, Paseo de la Universidad, 701006 Vitoria-Gasteiz, asier.vallejo@ehu.eus.

El interés en el análisis de biomarcadores en muestras arqueológicas ha aumentado considerablemente durante los últimos años ya que otorgan información adicional o corroboran información obtenida mediante otros estudios arqueológicos como los micromorfológicos y zooarqueológicos.

Uno de los depósitos más interesantes a la hora de estudiar la evolución de la domesticación, desde el Neolítico hasta nuestros días, son los formados por sedimentos orgánicos derivados de restos de heces o estiércol animal. En estos sedimentos se acumulan biomarcadores fecales persistentes, que son utilizados para determinar la especie animal estabulada e identificar distintas actividades ganaderas como la separación de hembras embarazadas y crías del resto del ganado. Relaciones entre esteroides, fitoesteroides y ácidos biliares son capaces de determinar la especie animal estabulada mientras que relaciones entre hormonas y ácidos biliares identifican actividades ganaderas como las descritas anteriormente (Prost et al., 2017; Harrault et al., 2019; Vallejo et al., 2022).

En este estudio se ha utilizado un método analítico basado en la extracción en microondas y el análisis por medio de cromatografía de líquidos acoplado a un espectrómetro de masas (LC-MS) para analizar esteroides, fitoesteroides, ácidos biliares, hormonas y sus metabolitos en restos de sedimentos orgánicos procedentes del yacimiento de Vallone Inferno, situado en un abrigo rocoso del parque natural de la Madonie (Scillato, Sicilia, Italia), a 770 m snm. Por otro lado, se han analizado restos de heces contemporáneas de distintas especies animales y razas para diseñar un método de clasificación más exacto de los ya existentes.

En el caso de diseño de clasificación se utilizaron diferentes relaciones entre las concentraciones de esteroides, fitoesteroides y ácidos biliares obteniendo siempre la diferenciación entre animales de gran tamaño (vacas, caballos, ciervos, bisontes) de los más pequeños (cabras y ovejas), nunca más precisa, lo que conlleva a poder clasificar las heces solamente en dos grupos. El caso del cerdo/jabalí la clasificación es sencilla ya que posee un biomarcador específico. Este diseño se utilizó para clasificar los sedimentos arqueológicos.

En el análisis de las muestras arqueológicas, se ha observado como la actividad de las especies animales estabuladas en el abrigo varía a lo largo de los siglos. Las muestras más antiguas analizadas corresponden a la edad del Cobre donde la cabaña ganadera estaría compuesta principalmente por ovicaprinos, mientras que en la Alta Edad Media la mayor actividad estaba relacionada con la explotación porcina. Además, estas últimas muestras muestran la mayor actividad hormonal lo que podía estar relacionado con la cría de cerdos en el abrigo.

Harrault, L., Milek, K., Jardé, E., Jeanneau, L., Derrien, M., Anderson, D.G., 2019. Faecal biomarkers can distinguish specific mammalian species in modern and past environments. *PLoS ONE* 14, 1–26. doi:10.1371/journal.pone.0211119

Prost, K., Birk, J.J., Lehdorff, E., Gerlach, R., Amelung, W., 2017. Steroid Biomarkers Revisited – Improved Source Identification of Faecal Remains in Archaeological Soil Material. *PLOS ONE* 12, e0164882. doi:10.1371/journal.pone.0164882

Vallejo, A., Gea, J., Gorostizu-Orkaiztegi, A., Vergès, J.M., Martín, P., Sampedro, M.C., Sánchez-Ortega, A., Goicolea, M.A., Barrio, R.J., 2022. Hormones and bile acids as biomarkers for the characterization of animal management in prehistoric sheepfold caves: El Mirador case (Sierra de Atapuerca, Burgos, Spain). *Journal of Archaeological Science* 138. doi:10.1016/j.jas.2022.105547



Targeted bottom-up analysis of protein biomarkers by on-line coupling of aptamer affinity solid-phase extraction and immobilized enzyme microreactor capillary electrophoresis-mass spectrometry

Hiba Salim, Roger Pero-Gascon, Estela Giménez, Fernando Benavente.

University of Barcelona, Faculty of Chemistry, Department of Chemical Engineering and Analytical Chemistry, C/Martí I Franquès 1-11, 08028, BARCELONA, hibasalim1992@ub.edu

Targeted bottom-up analysis of protein biomarkers may provide a straightforward, accurate and sensitive measurement of the protein of interest using characteristic signatures of peptide fragments [1]. However, this approach usually requires extensive off-line sample handling for sample purification, protein enrichment and enzymatic digestion before the analysis by high performance separation techniques coupled to mass spectrometry (i.e. LC-MS or CE-MS and -MS/MS). Alternatively, we present a fully integrated valve-free method for the sensitive targeted bottom-up analysis of proteins by on-line aptamer affinity solid-phase extraction and immobilized enzyme microreactor capillary electrophoresis-mass spectrometry (AA-SPE-IMER-CE-MS) [2-3]. The method was developed analyzing α -synuclein (α -syn), a protein biomarker associated with several neurodegenerative disorders, including Parkinson's disease. Under optimized conditions, on-line clean-up and preconcentration of α -syn, enzymatic digestion, electrophoretic separation and identification of the tryptic peptides by mass spectrometry were achieved in less than 35 min. The limit of detection was 0.02 $\mu\text{g/mL}$ of digested protein (66.7% of coverage, i.e. 8 out of 12 expected tryptic peptides were detected). This value was 125 and 10 times lower than for independent on-line digestion by IMER-CE-MS (2.5 $\mu\text{g/mL}$) and on-line preconcentration by AA-SPE-CE-MS (0.2 $\mu\text{g/mL}$). The repeatability of AA-SPE-IMER-CE-MS was adequate (at 0.5 $\mu\text{g/mL}$, %RSD ranged from 3.7 to 16.9% for peak areas and 3.5 to 7.7% for migration times of the tryptic peptides) and the modified capillary could be reused up to 10 analyses with optimum performance, similarly to IMER-CE-MS. The method was subsequently applied to the analysis of endogenous α -syn from red blood cell lysates. Ten α -syn tryptic peptides were detected (83.3% of coverage), enabling the characterization and localization of post-translational modifications of blood α -syn (i.e. N-terminal acetylation).

[1] Manes NP, Nita-Lazar A, J. Proteomics 2018, 189, 75-90., [2] Pero-Gascon R, Benavente F., Minic Z, Berezovski MV, Sanz-Nebot S, Anal. Chem. 2020, 92, 1525-1533., [3] Villegas L, Pero-Gascon R, Benavente F, Barbosa J, Sanz-Nebot V, Talanta 2019, 199, 116-123.



A Natural Deep Eutectic Solvent for Mercury Speciation in Water Samples

Antonio Canals, Laura Ripoll, Javier Rayos, Lorena Vidal, Miguel Ángel Aguirre.

Alicante, Ciencias, Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Ctra. San Vicente del Raspeig s/n, 03690, San Vicente del Raspeig, a.canals@ua.es

New demands for analytical chemistry are emerging today to address increasing issues such as global environmental concerns. To meet these problems, new, environmentally friendly, and sensitive methodologies for monitoring pollutants are needed. Mercury is considered by WHO (World Health Organization) as one of the ten chemicals or groups of chemicals of major public health concern. Exposure to mercury (even in small amounts) can cause severe health consequences [1]. The presence of mercury and its organic species in water is an emerging problem that requires sensitive and rapid methodologies for adequate monitoring.

In this work, a new analytical method using vortex-assisted dispersive liquid-liquid microextraction with an environmentally friendly extractant has been developed for speciation of mercury in water samples. The extractant is a safe, cheap, biodegradable and natural deep eutectic solvent (NADES) prepared by simple mixing DL-menthol and decanoic acid (molar ratio 2:1). The main experimental factors affecting the extraction of mercury species were optimized using a multivariate analysis consisting in two steps: a Plackett-Burman design followed by a Circumscribed Central Composite Design (CCCD).

Under optimized conditions, the limits of detection (LOD) obtained with the proposed method were $0.9 \mu\text{g L}^{-1}$ for all analytes except for Hg^{2+} which had a higher LOD value (i.e., $3 \mu\text{g L}^{-1}$). The RSD ($n=6$) was evaluated at 25 and $50 \mu\text{g L}^{-1}$ spiking levels, obtaining RSD values for all the analytes between 6% and 12%. The method has been successfully applied to real water samples. The recovery values ($n=3$) were within the range of 82% and 111% and RSD values ($n=3$) between 1% and 13% for all the analytes.

Acknowledgements

The authors are grateful to the Regional Government of Valencia (Spain) (PROMETEO/2018/087) for the financial support. The authors extend their appreciation to Ministry of Science, Innovation and Universities for granting the Spanish Network of Excellence in Sample Preparation (RED2018-102522-T). This article is based upon work from the Sample Preparation Study Group and Network, supported by the Division of Analytical Chemistry of the European Chemical Society.

[1] Mercury and health, <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/mercury-and-health>, last access in 5/04/2022, ,



Evaluation of supercritical fluid chromatography time-of-flight mass spectrometry for the determination of chiral drugs in sewage samples

Miguel Cobo Golpe, María Ramil Criado, Rafael Cela Torrijos, Isaac Rodríguez Pereiro.

Universidade de Santiago de Compostela, Facultad de Química, Departamento de química analítica, General Pardiñas nº6 4D, 15701, Santiago de Compostela, miguel.cobo.golpe@usc.es

Many pharmacologically active compounds, used for health care and prescribed for the treatment of pain or illnesses, are chiral species. This fact can pose some risks to both public health and the environment because their therapeutic, or toxicological effect on both target and non-target organisms can vary significantly between enantiomers. In the case of pharmaceuticals marketed as racemates, the metabolization rates of both enantiomers and their biodegradability might be enantioselective processes, which can lead to a potential change in their enantiomeric fraction in sewage samples when compared to their commercial formulation.

In this presentation, we show the results of the separation obtained for eight chiral drugs, considered as emerging pollutants and belonging to two different chemical classes (three amine-type drugs and five azolic compounds), using supercritical fluid chromatography coupled to a quadrupole-time-of-flight mass spectrometer (SFC-QTOF-MS). Parameters affecting the separation (type of stationary phase and mobile phase composition) and the detectability of the compounds (mobile phase additives) are discussed. Under final conditions, a relatively fast separation of target compounds was achieved with a lower consumption of organic solvents than that employed in LC chiral methodologies.

The SFC-QTOF-MS method was combined with selective extraction protocols, based on solid-phase extraction and matrix solid-phase dispersion, to investigate the occurrence and the enantiomeric fractions of selected compounds in wastewater and sludge samples obtained from municipal sewage treatment plants. Out of the eight studied compounds, those showing higher log D values were mostly, associated to sludge samples, whilst the amine-type pharmaceuticals were mainly found in water samples. The latter group of compounds presented a non-racemic distribution in the investigated samples, while the enantiomeric fraction of azolic drugs remained around 0.5.

Acknowledgments

This study was supported through grants PGC2018-094613-B-I00 and ED431C 2021/06, funded by Spanish Government and Xunta de Galicia, respectively. Both projects are co-funded by the EU FEDER program. M.C.G. thanks a FPI fellowship to the Ministry of Science and Education (Spain).

M. Cobo-Golpe, M. Ramil, R. Cela, I. Rodríguez, JCA (journal pre-proof) DOI: 10.1016/j.chroma.2022.463088, ,



Polyphenol recovery from agri-food waste using deep eutectic solvents

Javier Saurina, Aina Mir-Cerdà, Lenka Kubinyiová, Jennifer Dolghii, Alena Dolezalová, Eleonora Oliva, Óscar Nuñez, Mercè Granados, Sonia Sentellas.

Universidad de Barcelona, Facultad de Química, Ingeniería Química y Química Analítica, Calle Martí i Franquès, 1-11, 08028, Barcelona, xavi.saurina@ub.edu

The food industry generates a considerable amount of solid and liquid waste during food production processes. In the specific case of fruit and vegetables, the resulting wastes are mainly composed of skins, seeds, and stems where most of the bioactive compounds, such as polyphenols, are concentrated. For this reason, a special interest in reusing these wastes arises within the framework of the circular economy.

Polyphenols are plant metabolites with more than one phenol group in their structure. They are beneficial for human health due to their high antioxidant character, neutralizing the formation of free radicals involved in oxidation processes. Several studies have correlated the intake of these compounds to positive effects on diseases such as cancer, diabetes, and hypertension, among others.

This research aims at assessing eco-friendly solid-liquid extraction methods such as those based on the so-called Deep Eutectic Solvents (DES). A preliminary study has been conducted by preparing these solvents to study their behavior by changing different parameters: different combinations of compounds, the molar relationship between them, the percentage of the weight of water needed, temperature, agitation velocity, etc. Once the best solvent for each type of agri-food residue studied has been established, an experimental design has been carried out to optimize the extraction of these polyphenol compounds. As representative examples of agri-food matrices, residues from olive oil production and olive tree leaves have been selected. At this point, different solvent compositions, temperatures, and extraction times have been used. To evaluate the performance of the extraction process, the antioxidant capacity has been determined for the different extracts using the ferric reducing antioxidant power (FRAP) method. Additionally, the resulting extracts have also been analyzed by liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS) to identify and quantify the main polyphenols of the studied matrices. Compounds have been separated by reversed-phase mode using a C18 column, under an elution gradient program generated from 0.1% (v:v) formic acid aqueous solution and acetonitrile as the components of the mobile phase. In general, 2- to 10-fold higher recovery yields have been obtained with DES compared to conventional hydro-organic solvents.

, P. Tapia-Quiros, M.F. Montenegro-Landivar, M. Reig, X. Vecino, J.L. Cortina, J. Saurina, M. Granados, Recovery of Polyphenols from Agri-Food By-Products: The Olive Oil and Winery Industries Cases, *Foods*, 11 (2022) 362.,



A multi-factor multi-objective optimization strategy in the determination of polymer additive residues by HS-SPME-GC-MS

Lucía Valverde-Som, Ana Herrero, Celia Reguera, Luis Antonio Sarabia, María Cruz Ortiz

Universidad de Burgos, Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Área de Química Analítica, Plaza Misael Bañuelos s/n, 09001Burgos, lvalverde@ubu.es.

Extraction techniques typically used involve long extraction times and large amounts of solvents, but solid phase microextraction (SPME) is a sample preparation technique which does not. However, each application of SPME requires the development of a specific procedure for the target analytes in a certain sample matrix. Several factors, such as the fiber coating, sorption/desorption conditions, sample modifications (salting, pH adjustment, etc.), have to be set [1].

In this work, a strategy to address the determination by HS-SPME-GC-MS of eight additives commonly used in the manufacture of plastic packaging is developed. Thus, five HS-SPME factors, both qualitative and quantitative, are considered: the type of fiber, add salt, desorption time, extraction temperature and extraction time. In addition, to consider a possible day-to-day variability, a block factor is also included in an experimental design. Five of these factors are at two levels, but extraction time is fixed at four levels.

A D-optimal design allows reducing the number of experiments from 128 of the full factorial design to 14 [2]. Non-linear effects and interactions between factors are studied through the appropriate regression model. Box-Cox transformations of the sample mode loadings from a PARAFAC2 decomposition are taken as responses in the models fitted for the experimental design.

Unequivocal identification of target analytes is needed to meet regulatory requirements, for this reason PARAFAC2 decomposition is used since it makes to determine the target analytes even in the presence of uncalibrated compounds. The response for each analyte is estimated in the experimental domain and studied. To address the multi-objective optimization, Pareto front and parallel coordinates are used.

The proposed method is applied to determine an antioxidant (2,6-di-tert-butyl-4-methyl-phenol, BHT), a UV stabilizer (benzophenone, BP), and five phthalates used as plasticizers (diethyl phthalate, DEP; diisobutyl phthalate, DiBP; dibutyl phthalate, DBP; benzyl butyl phthalate, BBP; and bis(2-ethylhexyl) phthalate, DEHP) in bottled natural still and sparkling mineral waters. The concentration of the analytes found are statistically equal to zero or below the minimum detectable net concentration, except for BHT in three samples, but in this case, the levels found are so low that those waters are safe for human health.

Acknowledgments. The authors thank the Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León for financial support through project BU052P20, co-financed with FEDER funds. L.Valverde-Som wish to thank JCYL for her postdoctoral contract (BU052P20).

[1] S. Risticvic, H. Lord, T. Górecki, C.L. Arthur, J. Pawliszyn, *Nat. Protoc.* 5 (2010) 122-139.

[2] D. Mathieu, J. Nony, R. Phan-Tan-Luu, *NEMRODW* (Version 2015).



DISOLVENTES SUPRAMOLECULARES PARA UNA EVALUACIÓN HOLÍSTICA DEL RIESGO QUÍMICO EN EPIDEMIOLOGÍA AMBIENTAL

Noelia Caballero Casero, Soledad Rubio Bravo.

Universidad de Córdoba, Instituto de Química Fina y Nanoquímica, Departamento de Química Analítica, Edificio anexo Marie Curie. Campus de Rabanales, 14071, Córdoba, a42caasn@uco.es

El enfoque para el estudio del riesgo de la exposición química al que se encuentra sometida la población ha evolucionado. En la actualidad, la tendencia es centrarse en la evaluación de los efectos que ejercen las mezclas químicas sobre la salud, independientemente de que la concentración de componentes específicos en las mismas sea inferior a los límites permitidos. Esta visión holística de la exposición humana requiere la determinación de múltiples compuestos en diferentes fluidos corporales y/o en todas las fuentes de exposición. Como consecuencia, los estudios en epidemiología ambiental requieren de métodos analíticos que puedan aplicarse a la detección/cuantificación simultánea de un elevado número de compuestos estructuralmente diferentes en una amplia variedad de matrices. En este contexto, el tratamiento de muestra se convierte en un elemento clave del proceso analítico ya que debe asegurar la extracción eficiente de compuestos en un amplio intervalo de polaridad y la eliminación de interferencias, a la vez que debe ser sostenible, simple, rápido y económico ya se requiere el análisis de un elevado número de muestras.

En esta comunicación se presentarán los avances producidos en la aplicación de los disolventes supramoleculares (SUPRAS) al desarrollo de plataformas analíticas de interés en epidemiología ambiental para la determinación de multi-analitos en multi-matrices mediante LC-MS/MS. Se discutirán las propiedades intrínsecas de los SUPRAS que permiten la extracción eficiente de multi-analitos y se presentarán los progresos realizados en el diseño de SUPRAS con propiedades de acceso restringido, que permiten la eliminación de los principales macrocomponentes de las muestras. Finalmente se discutirán las aplicaciones desarrolladas en nuestro grupo de investigación en el área de epidemiología ambiental. Éstas incluyen la determinación de bisfenoles y derivados en muestras biológicas (ej. orina, saliva, pelo) y en diferentes fuentes de exposición (ej. alimentos, bebidas, polvo doméstico) utilizando una única plataforma analítica, así como la determinación de drogas de abuso en siete diferentes matrices biológicas. Por otro lado, estas plataformas analíticas han permitido la identificación y evaluación de nuevas fuentes de exposición humana a contaminantes, tales como la exposición a drogas de abuso a través de la ingestión de agua de grifo, mediante el análisis de 119 muestras en ocho países europeos, o la exposición humana a bisfenoles a través de la ingesta de polvo en invernaderos. Así, las plataformas analíticas SUPRAS-LC-MS/MS han permitido el desarrollo de estrategias innovadoras que simplifican la evaluación del potencial riesgo químico al que está expuesta la población.



Laser analytical spectrometry for planetary research under mimicked martian conditions at the UMA LASERLAB Thermal Vacuum Chamber

José Miguel VAdillo Pérez, C. Álvarez-Llamas, P. Purohit, J. Moros, P. Lucena, J. Laserna.

Málaga, Ciencias, UMALASERLAB, Jimenez Fraud 4, 29010, Málaga, jmvadillo@uma.es

The presentation will describe the Thermal Vacuum Chamber (TVC) designed and installed at UMALASERLAB to become a powerful and versatile tool for space-science related studies. Full capabilities of the UMALASERLAB TVC will be demonstrated through a set of experiments involving laser-based analytical spectroscopy measurements (LIBS, Raman, LIF and laser-induced acoustics) performed under identical conditions as those carried out by the Curiosity and Perseverance rovers at the surface of Mars.

The dimensions of the UMALASERLAB TVC (12 meters long and a useful internal diameter of 1,6 meters) and its characteristics (minimum pressure: 10⁻⁶ mbar; temperature range: 200 K-400 K; automatic control of gas loads) allow the performing of stand-off laser spectroscopies assuring that the excitation and collection path of the measurements are identical as those performed on-site. A solar simulator matching the irradiance on the Mars surface at UV-A, UV-B and UV-C allows the local irradiation of samples loaded in the chamber. The big internal volume and the existence of oversized hinged doors allow and easy loading of samples and equipment of big dimensions. With such characteristics, the UMALASERLAB TVC mimics the conditions in the Mars surface during the Curiosity or Perseverance science operations, allowing a) to perform stand-off spectroscopies at very similar conditions; b) to gain insights about data treatment and data modelling and, c) to anticipating experiments at lab-scale on Earth before being commanded to the instrument.

Experiments performed at the UMALASERLAB TVC are focused on the geochemical characterization of rocks, soils and regolith from the Mars surface, the seeking of biosignatures, and the setting of protocols and working strategies leading to the extraction of relevant information from the combination of the different mid-level fusion approaches to enhance the discriminant power of the measurements.

, Alvarez-Llamas, C., 52nd Lunar and Planetary Science Conference (2021), LPI 2548, Alvarez-Llamas, C., Anal. Chem. 94 (2022), 1840



3D printing for designing novel sample preparation devices in Analytical Chemistry

Enrique Javier Carrasco-Correa, Ernesto Francisco Simó-Alfonso, José Manuel Herrero-Martínez, Manuel Miró.

Universitat de València, Facultat de Química, Departamento de Química Analítica, C/ Doctor Moliner, 50, 46100, Burjassot, Valencia, enrique.carrasco@uv.es

3D-printing is an incipient technology in analytical chemistry for the fabrication of novel 3D printed structures, which cannot be easily created by other technologies or can be fabricated at low-cost. There are different 3D printing technologies available such as fused deposition modelling, vat polymerization, photopolymer inkjet printing and selective laser sintering, all with their own merits and drawbacks. Nevertheless, the impact of 3D printing in Analytical Chemistry, concretely in sample preparation field, is still in its infancy. In this communication, the current trends of raw 3D printing materials in the development of novel devices for sample preparation (covering different techniques such as solid-phase extraction, membrane-based separation, and liquid-liquid extraction) will be discussed. For this purpose, the most relevant examples will be selected to provide a wide variety of possibilities. Also, novel approaches to solve the current challenges of 3D-printed fluidic platforms (e.g. limited adsorption capacity) at milli/micro-dimensional scale will be considered. Within these approaches, a promising alternative to tackle these drawbacks is the chemical modification of the 3D printed templates surfaces with other extracting phases, such as porous monoliths, nanomaterials, metal-organic frameworks or even selective materials such as molecular imprinting polymers and antibodies. These studies will be also illustrated in this communication and properly discussed.

Acknowledgement. Enrique Javier Carrasco-Correa, Ernesto Francisco-Simó and José Manuel Herrero acknowledges financial support from the Spanish State Research Agency (AEI) and the Spanish Ministry of Science and Innovation (MICINN) through project RTI2018-095536-B-I00. Enrique Javier Carrasco-Correa and Manuel Miró also acknowledge AEI and MICINN through project PID2020-117686RB-C33/ 10.13039/501100011033. The authors extend their appreciation to MICINN for granting the Spanish Network of Excellence in Sample preparation (RED2018-102522-T). This communication is based upon work from the Sample Preparation Study Group and Network, supported by the Division of Analytical Chemistry of the European Chemical Society.



Rapid and sensitive detection of a peptidic biomarker of *Staphylococcus aureus* in sputum by a displacement ELISA method with a Smartphone-based reading system

Arántzazu Narváez García, Ana del Amo de Palacios, Criptana Cabello, Olga Jiménez, F. Javier Acevedo, Mercedes Torre.

Universidad de Alcalá, Farmacia, Química Analítica, Química Física e Ingeniería Química (Área: Química Analítica)., Ctra. Madrid-Barcelona Km. 33,600., 28805, Alcalá de Henares, arantzazu.narvaez@uah.es

Staphylococcus aureus is a Gram-positive pathogen responsible of numerous human infections, both nosocomial and community acquired. The main autoinductors of Quorum Sensing of this microorganism are four peptides called AIPs.

In this work, a displacement ELISA method has been developed to have a simple, fast, reliable and reproducible detection of AIP3 (Ile-Asn-Cys-Asp-Phe-Leu-Leu), considered a biomarker of the pathogen, in sputum samples. The selection of this peptide is based on this short chemical chain, its high chemical resistance and their relationship to apolipoprotein B (apoB), because apoB capture AIP3 in the form of oxidized LDL by Nox2, and not in the form of an ordinary LDL.

The lineal interval (IL) of the optimized method ranged from 1,6 to 88 nM; the value of EC50 was 11 nM; the limit of detection's (LOD) value was 0.55 nM and a recovery (R) close to 110 % were achieved in sputum diluted 1/10 v/v in a PBST buffer. When using a Smartphone as a signal reading system, the IL ranged from 1,6 to 140 nM; the value of EC50 was 14 nM; LOD value was 0.45 nM and a R close to 105 % was achieved in the same experimental conditions.

Chan W.C., Coyle B.J. & Williams P. (2004) Virulence Regulation and Quorum Sensing in Staphylococcal Infections: Competitive AgrC Antagonists as Quorum Sensing Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47 (19), 4633-4641., Park, J., Jagasia, R., Kaufmann, G. F., Mathison, J. C., Ruiz, D. I., Moss, J. A., Meijler, M. M., Ulevitch, R. J., & Janda, K. D. (2007). Infection Control by Antibody Disruption of Bacterial Quorum Sensing Signaling. *Chemistry & Biology*, 14(10), 1119-1127., Peterson M.M., Mack J.L., Hall P.R., Alsup A.A., Alexander S.M., Sully E.K., Sawires Y.S., Cheung A.L., Otto M. & Gresham H.D. (2008). Apolipoprotein B Is an Innate Barrier against Invasive *Staphylococcus aureus* Infection. *Cell Host & Microbe*, 4(6), 555-566.



DISPOSITIVOS DE EXTRACCIÓN IN-SITU PARA EL ANÁLISIS DE AGUAS

Soledad Cárdenas Aranzana, Francisco A. Casado Carmona, Rafael Lucena Rodríguez.

Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, Edificio Marie Curie (anexo). Campus de Rabanales, 14071, Córdoba, scardenas@uco.es

La monitorización de la presencia de contaminantes en distintos compartimentos ambientales es fundamental para evaluar su calidad. Específicamente, las aguas naturales están consideradas por la Unión Europea como un patrimonio a proteger [1]. El tamaño de los compartimentos ambientales acuáticos es un reto a la hora de asegurar la representatividad de la toma de muestras, por lo que se requiere el diseño de planes de muestreo que contemplen la toma de varias muestras (distintos lugares, distinto tiempo) para asegurar que se alcanza esta propiedad analítica tan importante para garantizar la validez de los resultados del análisis.

Las técnicas de extracción in situ permiten aislar los analitos diana en el punto de muestreo, simplificando la logística (se transporta el medio de extracción y no la muestra al laboratorio para el análisis final) y asegurando la integridad química de la muestra (evitando pérdidas de los analitos por adsorción o evaporación). En los últimos años, nuestro grupo de investigación ha desarrollado diferentes alternativas en este contexto basadas en el uso de trampas sólidas (nano, micropartículas y membranas) para el aislamiento y concentración eficiente de compuestos diana.

En esta comunicación se presentará una descripción general de estos enfoques haciendo énfasis en los últimos desarrollos donde se utilizan nuevos materiales como medios de sorción. Se discutirá y comparará la aplicación de membranas comerciales, fases absorbentes basadas en papel magnético y películas soportadas por micropartículas.

, European Community, Off. J. Eur. Parliam. L327, 1-82 (2000),.



FTIR-ATR Analysis of Reactants and Products of Novel Lipophenols Synthesis

Ángel Sánchez-Illana, Jordan Lehoux, David Pérez-Guaita, Salvador Garrigues, Miguel de la Guardia, Thierry Durand, Jean-Marie Galano, Céline Crauste

Universitat de València, Facultat de Química, Dep. de Química Analítica, Dr. Moliner 50, Burjassot (Espanya), angel.illana@uv.es.

Université Montpellier-CNRS, Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM), Département Lipides, 1919 Route de Mende, Montpellier (France), angel.illana@uv.es.

During the last years, rationally designed lipophenols have been proposed, synthesized, and analyzed elsewhere showing promising bioactive roles in cells and vegetal samples [1,2].

Lipophenols are synthesized chemically, enzymatically or chemo enzymatically from (poly)phenols and fatty acids by esterification or acylation reactions [3]. The monitoring and quality control of the synthesis are done mainly by thin-layer chromatography (TLC), $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ nuclear magnetic resonance (^1H NMR and ^{13}C NMR), and liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS). These well-established techniques have some limitations such as selectivity in the case of TLC and the need to have access to specialized laboratory and personnel in the case of NMR and LC-MS analysis. In this work, we propose a direct and straightforward analysis approach based on Fourier transform infrared spectroscopy – attenuated total reflectance (ATR-FTIR) for resolving mixtures of reactants and products of resveratrol lipophenol synthesis.

Four resveratrol lipophenols bearing a different number of unsaturations from 0 to 3 were analyzed (resveratrol-4'-stearate, resveratrol-4'-oleate, resveratrol-4'-linoleate, and resveratrol-4'-alpha-linolenate). ATR-FTIR spectra from factorial designed mixtures of reactants (i.e. fatty acids and phenols) and products (i.e. lipophenols) were acquired for calibration by dry-film method. Furthermore, ten different mixtures with intermediate concentrations of reactants and products were also measured as a validation set. The obtained spectra were analyzed by classical least squares (CLS), partial least squares (PLS), and multivariate curve resolution (MCR). Prediction models were built with the designed mixture dataset and validated with the external intermediate mixture dataset. This proof-of-concept ATR-FTIR method could offer a fast and reproducible quantification of lipophenol reactants and products in mixtures. However, future models including all reagents employed during the different synthetic strategies and different lipophenol mixtures need to be considered to fully validate our method. Moreover, this method also shown a potential applicability to perform minimally invasive analysis in real biological samples.

[1] E. Moine, *Free Rad. Biol. Chem.* 162 (2021) 367-382.

[2] C. Alemán-Jiménez, *J. Agric. Food Chem.* 69 (2021) 14165-14175.

[3] C. Crauste. *Biochimie.* 120 (2016) 62-74.



Diferenciación entre aceites de oliva virgen sometidos a distintos criterios agronómicos empleando fluorescencia no destructiva

Elísabet Martín Tornero, Antonio Fernández, Daniel Martín-Vertedor, Isabel Durán-Merás.

Universidad de Extremadura, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, Avenida de Elvas, 06006, Badajoz, emartintornero@gmail.com

El aceite de oliva virgen es conocido por tener importantes beneficios para la salud debido a su particular composición en polifenoles, vitamina E, esteroides, ácidos grasos insaturados, etc. Estos compuestos están fuertemente influenciados por diversos factores agronómicos como el tipo de cultivo, el estado de maduración, las condiciones agroclimáticas o el tipo de riego [1], lo que puede dar lugar a aceites de diferentes características.

Aprovechando la fluorescencia nativa del aceite de oliva virgen, en este estudio se ha explorado la posibilidad de emplear la espectroscopía de fluorescencia, en combinación con algoritmos quimiométricos, como técnica rápida y no destructiva para diferenciar entre aceites de oliva virgen extra (AOVE) obtenidos a partir de cultivos sometidos a diferentes tratamientos de irrigación en distintas campañas oleícolas.

Se seleccionaron muestras de AOVE monovarietales, de dos años de recolección, de dos variedades diferentes (Arbosana y Oliana) y empleando dos tratamientos de riego (condiciones óptimas y riego deficitario controlado). Se registraron las matrices de excitación/emisión (EEMs) de todas las muestras en todo el rango de longitudes de onda. Sin embargo, para simplificar, para posteriores estudios solo se utilizó la primera región fluorescente relacionada con productos de oxidación y vitaminas. En primer lugar, se realizó un análisis exploratorio de las matrices obtenidas mediante PARAFAC. Posteriormente, los scores de los tres primeros componentes se usaron para realizar los modelos de clasificación mediante análisis lineal discriminante (LDA).

Estos modelos permitieron la discriminación de las muestras de AOVE de acuerdo a su campaña de recolección y en función de la variedad empleada con el 100% de las predicciones correctas en el set de validación en ambos casos.

Además, se obtuvieron buenos resultados (80% de las predicciones correctas) en la discriminación de AOVE pertenecientes a la misma variedad pero sujetas a diferentes tratamientos de riego.

Por lo tanto, la espectroscopía de fluorescencia es una herramienta que se podría utilizar en el sector oleícola para discriminar AOVE procedentes de distintas variedades, años de cultivo y sometidos a distintas técnicas de riego.

Agradecimientos: los autores agradecen la financiación al proyecto PID2020-112996GB-I00 (agencia estatal de investigación) y al proyecto IB20016 (consejería de economía, ciencia y agenda digital, Junta de Extremadura) ambos cofinanciados por los fondos FEDER. También agradecen a la ayuda al grupo de investigación ANAYCO GR21048.

[1] A. Dagdelen, G. Tumen, M. M. Ozcan, E. Dundar, Food Chem 136 (2013) 41., ,



Cribado no selectivo de contaminantes orgánicos traza en aguas superficiales mediante bibliotecas empíricas y combinatorias de espectrometría de masas en tándem, redes y grupos moleculares

Pedro A. Segura, Emmanuel Eysseric, Christian Gagnon

Université de Sherbrooke, Facultad de Ciencias, Departamento de Química 2500, boul. de l'Université Sherbrooke, QC, Canada, pa.segura@usherbrooke.ca.

El cribado no selectivo de contaminantes orgánicos traza (TrOCs) en aguas superficiales es de interés para identificar compuestos potencialmente tóxicos y monitorizar la calidad del agua. Sin embargo, la identificación de TrOCs aún no reportados es una tarea compleja dada la presencia de interferencias naturales a menudo desconocidas y múltiples en las aguas superficiales y las grandes cantidades de datos que deben ser procesados para encontrar posibles correspondencias.

Los métodos utilizados se basan en múltiples flujos de trabajo de software para extraer información de archivos de datos obtenidos de muestras de agua extraídas por extracción en fase sólida y analizadas por cromatografía líquida-espectrometría de masas de alta resolución (LC-HRMS). Estas herramientas pueden clasificarse en dos categorías: bibliotecas de espectrometría de masas en tándem y mapas de similitud molecular. Se probaron para detectar la presencia de TrOCs y sus productos de transformación en un río local de Québec, Canadá.

Los resultados mostraron que se detectaron cientos de compuestos probables o tentativos utilizando bibliotecas de espectrometría de masas en tándem empíricas y combinatorias. En total, se confirmaron 74 TrOCs utilizando estándares de referencia y algunos de ellos se detectaron por primera vez en aguas superficiales canadienses, por ejemplo, el denatonio (agente amargante), el irbesartán y el telmisartán (fármacos), así como la lauramidopropil betaína y los etoxilatos de octilfenol (tensioactivos). Los mapas de similitud molecular (redes y grupos moleculares) sirvieron para identificar como estructuras probables o tentativas cientos de congéneres y productos de transformación de los TrOC, algunos de los cuales están ausentes de las grandes bases de datos, por ejemplo, PubChem, que cuenta con más de 110 millones de compuestos. Los productos de transformación de los fármacos diltiazem, gliclazida e irbesartán y el pesticida metolacloro se observaron en las muestras utilizando redes y grupos moleculares. Asimismo, estas herramientas de mapas moleculares sirvieron para detectar múltiples congéneres de éteres y ésteres de polioxietileno, etoxilatos de octilfenol, ácidos de etoxilatos de octilfenol y ácidos de etoxilatos de nonilfenol.

Estos métodos demostraron que es posible procesar de forma eficiente y rápida (en pocos días) grandes cantidades de datos obtenidos por LC-HRMS para descubrir TrOCs aún no reportados en aguas superficiales. Aunque estos métodos todavía requieren una experiencia avanzada y múltiples aplicaciones informáticas y no son adecuados para los análisis de rutina, los autores esperan que se integren en los programas de control de la calidad del agua en los próximos años en Canadá.



A novel approach for protein profiling and classification of food products based on MALDI-TOF-MS and chemometrics. Application to quinoa grains.

Laura Pont Villanueva, Rocío Galindo-Luján, Victoria Sanz-Nebot, Fernando Benavente.

Universidad de Barcelona, Facultad de Química, Ingeniería Química y Química Analítica, Martí i Franquès 1-11, 08028, Barcelona, laura.pont@ub.edu

Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) is a plant species of the Chenopodiaceae family, which originated in the Andean region and can adapt to very different agroecological conditions. It is considered a superfood with a high content of lipids, vitamins, minerals and, especially, proteins, hence its consumption is rapidly increasing [1,2]. This raising interest in quinoa has propelled the demand and cost, being quinoa foodstuff highly susceptible to adulteration with cheaper cereals [3]. In this study, we describe for the first time a novel approach for protein profiling, peak detection and classification of quinoa grain varieties based on the combination of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS) and chemometrics. First, we developed a MALDI-TOF-MS method to obtain characteristic mass spectra profiles of soluble protein extracts from different quinoa varieties from Peru and Bolivia. Then, MALDIquant was used to accurately detect the peaks, with characteristic m/z and intensity values, which constitute the MALDI-TOF-MS protein fingerprints. Finally, unsupervised and supervised multivariate data analysis methods (i.e. principal component analysis (PCA) and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA), respectively) were applied to efficiently classify and differentiate the quinoa varieties, while tentatively identifying the most important proteins for the discrimination. The proposed methodology could find application in quality control and food fraud prevention programs. Furthermore, it could be also applied to protein profiling of other food products, presenting complex mass spectra profiles with highly overlapped peaks.

[1] R. Galindo-Luján, L. Pont, V. Sanz-Nebot, F. Benavente, *Food Chem.* 341 (2021) 128207., [2] S. Dakhili, L. Abdolalizadeh, S.M. Hosseini, S. Shojaee-Aliabadi, L. Mirmoghtadaie, *Food Chem.* 299 (2019) 125161., [3] S.D. Rodríguez, G. Rolandelli, M.P. Buera, *Food Chem.* 274 (2019) 392.



Analytical method based on UAE-in situ-clean-up-LC-MS/MS for the determination of 60 PPCPs in sewage sludge samples

Nereida Pérez Lemus, Rebeca López Serna, Sara Isabel Pérez Elvira, Enrique Barrado Esteban.

Valladolid, Facultad de Ciencias, Química Analítica, C/ Paseo de Belén 7, 47011, Valladolid, nereida.perez@uva.es

Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) are used to treat human and animal diseases and for a better quality of daily life, respectively. PPCPs are known as emerging contaminants due to ability to induce physiological effects in all living beings at low doses. Wastewater treatment plants (WWTPs) are not designed to removal of these pollutants, consequently effluents discharged directly into aquatic systems may include important amounts of these substances. This study presents an analytical method for the determination of 60 PPCPs of several classes (analgesics/ anti-inflammatories, psychiatric and cardiovascular drugs, antibiotics, lipid regulators, surfactants, preservatives, hormones, anti-parasites, plasticisers, triazine herbicides and antimicrobials) in sewage sludge samples. They were collected randomly and combined to provide a final sample from the WWTP of Valladolid (Spain). Sludge samples were frozen and freeze-dried to remove the water content of the environmental samples and then stored at -20°C until analysis. Sample preparation habitually includes an extraction process followed by a clean-up step (Pérez-Lemus et al., 2019). The analytical methodology used for sludge analysis is described in detail in a study (Pérez-Lemus et al., 2021). The sample pre-treatment included a ultrasound-assisted extraction (UAE) and an in-situ clean-up stage with a cleaning agent such as active alumina (100°C). A filtration step was carried out prior to sample analysis based on liquid chromatography-tandem-mass-spectrometry (LC-MS/MS). Different injection volumes were tested and 100 µL was selected as the best performing volume. The proposed working method was validated and applied to the analysis of PPCPs in different dewatered digested sludge samples. Matrix-matched quantification was combined with internal standard, providing high reliability to analytical method. General relative recoveries between 80 and 110%, repeatability expressed as % RSD below 18%, MLDs under 30 ng g⁻¹ and a linearity range of up to 5 orders of magnitude for almost all the target compounds (Pérez-Lemus et al., 2021). This environmentally friendly analytical method decreased the use of fungible material (i.e., small solvent volume and small amounts of reagents) and it was satisfactorily validated for 44 PPCPs, with MLQs below 70 ng g⁻¹ for many compounds of interest. In addition, this methodology applied was fast and analyst appropriate for the analysis of PPCPs in dewatered digested sludge samples. These pollutants were observed in the range < MLQ to 2,163 ng g⁻¹ for sludge samples.

N. Pérez-Lemus, R. López-Serna, S.I. Pérez-Elvira, E. Barrado, *Anal. Chim. Acta.* 1083 (2019) 19–40., N. Pérez-Lemus, R. López-Serna, S.I. Pérez-Elvira, E. Barrado, *Microchem. J.* 175 (2021) 107148.,



Desarrollo de un modelo multivariable para la determinación del tiempo de vida útil de aceites vegetales refinados en condiciones forzadas

Sandra Martín Torres, Antonio González Casado, Luis Cuadros Rodríguez.

Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, Fuentenueva s.n., 18071, Granada, sanmartor@ugr.es

La fritura es uno de los métodos de manipulación y elaboración de alimentos más populares para producir alimentos sabrosos y deseables con características únicas de sabor, olor y color. En el proceso, el aceite de fritura actúa como un medio líquido de transferencia de calor homogéneo y contribuye al desarrollo de la textura y el sabor de los alimentos fritos.

Debido a factores como la presencia de oxígeno, el contenido de humedad de los alimentos, la elevada temperatura del aceite y la lixiviación de los componentes de los alimentos, durante la fritura se producen diversas reacciones químicas de degradación, entre las que se destacan: hidrólisis, oxidación y polimerización.

Es ampliamente conocido que la calidad de los alimentos fritos se ve afectada por la del aceite de fritura. Por ello, en muchos países se han establecido normas o directrices para garantizar la alta calidad de los alimentos fritos. La limitación más extendida establece que el aceite de fritura usado se sustituya cuando el contenido total de compuestos polares, representativos de los nuevos compuestos formados durante la fritura, sea de alrededor del 25% expresado en peso de aceite [1].

Actualmente el análisis de los aceites y grasas de fritura se realiza aplicando dos metodologías: (i) mediante un complejo método cromatográfico que permiten la determinación cuantitativa de los principales grupos de compuestos polares; y (ii) mediante sondas electroquímicas, cuyos resultados están correlacionadas con el método estándar.

En este estudio, se ha aplicado la metodología de 'huella dactilar' cromatográfica para evaluar el perfil de compuestos polares y no polares de los aceites vegetales más comúnmente empleados, simulando el proceso de fritura de patatas con los correspondientes ciclos de calentamiento y enfriamiento en freidora. Con la combinación de estos perfiles cromatográficos y una evaluación del comportamiento fisicoquímico de estos aceites obtenido mediante determinaciones clásicas como el índice de peróxidos y el índice de anisidina, entre otras, junto con el empleo de herramientas quimiométricas de minería de datos se ha llevado a cabo un estudio multivariable de estabilidad y vida útil de estos aceites. Como resultado de este estudio se obtendrán conclusiones acerca de la idoneidad de utilizar un determinado tipo de aceite u otro para el proceso habitual de frituras.

El estudio es parte del proyecto de I+D+i RTC-2017-6170-2', financiado por MCIN/ AEI/ 10.13039/501100011033/ FEDER "Una manera de hacer Europa".

[1]Orden de 26 de enero de 1989. Norma de calidad para los aceites y grasas calentados. BOE-A-1989-2265, 1-6. TEXTO CONSOLIDADO: 29 de marzo de 2013, ,



DETERMINACIÓN ON-SITE DE NO₂ EN EL AIRE AMBIENTE MEDIANTE SMARTPHONE+APP PARA CAPTURA Y ANÁLISIS DIGITAL DE IMÁGENES

Maria Cerrato-Alvarez, Samuel Frutos-Puerto, Conrado Miró-Rodríguez, Eduardo Pinilla-Gil.

Universidad de Extremadura, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, Av. de Elvas, s/n, 06006, Badajoz, macerratoa@unex.es

El dióxido de nitrógeno (NO₂) es uno de los principales contaminantes atmosféricos cuyos niveles se vigilan en el aire urbano. Los niveles excesivos de este contaminante se han asociado a efectos negativos inmediatos y a largo plazo sobre la salud humana [1]. La vigilancia de la contaminación atmosférica requiere de métodos analíticos fiables con capacidad para ofrecer datos con alta resolución espacial y temporal. En el caso del NO₂, la técnica de referencia utilizada en las redes de vigilancia de la calidad del aire es la quimioluminiscencia [2], que, aunque proporciona datos fiables con alta resolución temporal, emplea instrumentación cara y no portátil, lo que limita la resolución espacial de los resultados. En este sentido, una línea de investigación relevante se orienta al desarrollo y validación de metodologías analíticas portátiles y miniaturizadas capaces de ofrecer una mayor resolución espacial, manteniendo en lo posible la resolución temporal necesaria para verificar el cumplimiento de la normativa de calidad del aire.

Por todo ello, en este trabajo se ha desarrollado un método colorimétrico portátil, sencillo, sensible y selectivo para la monitorización de los niveles de NO₂ en el aire ambiente. La concentración de NO₂ se determinó mediante la monitorización de la reacción de Griess-Saltzman en filtros expuestos al aire ambiente, donde el NO₂ se recogió mediante muestreo activo en filtros impregnados con trietanolamina. Las imágenes digitales tomadas con la cámara de un smartphone fueron analizadas utilizando una aplicación Android desarrollada por nuestro grupo de investigación. En primer lugar, se optimizaron el tiempo y el caudal de muestreo, cuyos valores óptimos fueron 60 min y 400 mL min⁻¹, respectivamente. Seguidamente, se obtuvo la curva de calibración con un buen coeficiente de determinación y un bajo LOD de 4,8 µg m⁻³. Finalmente, la metodología propuesta se probó durante varios días en condiciones de campo en una zona de tráfico de la ciudad de Badajoz. Las mediciones de campo se validaron mediante análisis de regresión ortogonal frente al método de referencia, obteniéndose una correlación significativa (95 %) y un valor de incertidumbre expandida del 15 %, dentro del rango permitido por la Directiva 2008/50/CE.

Agradecimientos: Junta de Extremadura (proyectos GR21076 e IB20081), y Red de Vigilancia de la Calidad del Aire de Extremadura (REPICA) (proyecto 1855999FD022), todos ellos parcialmente financiados por los Fondos de la Unión Europea para el Desarrollo Regional (FEDER).

[1] M. Cerrato, Sensors Actuators, B Chem. 338 (2021) 129867., [2]]. Passaretti, Talanta 140 (2015) 73-80.,

XXIII Reunión de la SEQA

Posters





Análisis de Se y Hg en fracciones proteicas extraídas del músculo de pescados de consumo habitual. Evaluación de su unión a biomoléculas e interacción.

Tamara Fernández Bautista, Beatriz Gómez Gómez, Roberto Palacín García, Emma Gracia Lor, Teresa Pérez Corona, Yolanda Madrid Albarrán.

Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Avenida Complutense s/n, 28040, Madrid, tamarf02@ucm.es

En los últimos años se ha visto incrementado el interés por conocer los procesos de acumulación, distribución e interacción del selenio y mercurio presentes en pescados de consumo habitual. El selenio (Se) tiene un comportamiento dual, por una parte puede ser considerado como un contaminante acuático, especialmente si se encuentra en forma de selenito o seleniato. Sin embargo, cuando se incorpora a la biota puede transformarse en selenoaminoácidos y dar lugar a selenoproteínas, jugando un papel esencial en numerosos procesos metabólicos de nuestro organismo [1]. Por tanto, dependiendo de su concentración y de la forma química en la que se encuentre, el selenio puede ser considerado tóxico o esencial. Además de sus propiedades antioxidantes, puede tener una acción protectora frente a la toxicidad del mercurio [2]. El mercurio (Hg) es un elemento tóxico con presencia medioambiental fácilmente bioacumulable por los peces, pudiendo estar presente en cantidades no deseadas en ciertos pescados, especialmente en los que se encuentran en el nivel superior de la cadena trófica.

En este trabajo se ha investigado, por primera vez, la distribución de Se y Hg en las distintas fracciones proteicas definidas como sarcoplasmáticas, miofibrilares y álcali-solubles, que han sido extraídas del músculo (parte comestible) del atún, pez espada y salmón (piscifactoría vs. salvaje). La determinación de Se mediante espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS) y de Hg mediante el Analizador Directo de Mercurio (DMA) constataron que el atún y el pez espada son los pescados que presentan mayores concentraciones de ambos analitos, debido a procesos de bioacumulación. Los perfiles de distribución de Se y Hg unido a biomoléculas llevados a cabo mediante SEC-UV-ICP-MS en los distintos tipos de proteínas evidenciaron que el Hg se encuentra mayoritariamente unido a proteínas de mayor peso molecular (de hasta unos 574 kDa) que el Se (2-12 kDa). Sin embargo, ambos analitos se encontraron también asociados a proteínas del mismo peso molecular, lo que podría considerarse como una evidencia de la interacción Se-Hg. Por otra parte, se encontraron importantes diferencias en la distribución de ambos elementos en las fracciones proteicas del salmón de piscifactoría y del salmón salvaje, que podrían deberse fundamentalmente a las diferencias en su alimentación y sus condiciones de crecimiento.

Agradecimientos:

Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2020-114714RB-100), Comunidad de Madrid y fondos europeos FSE y FEDER (S2018/BAA-4393, AVANSECAL-II CM).

[1] Y. Mehdi et al., *Molecules* 18 (2013) 3292-3311, [2] M. A. Khan & F. Wang, *Environ. Toxicol. Chem.* 28 (2009) 1567-1577,



Identificación y caracterización de partículas de SiO₂ y TiO₂ en cacao en polvo y productos de confitería mediante TEM y spICP-MS. Evaluación de distintos tratamientos de muestra.

Beatriz Gómez Gómez, Gustavo Moreno-Martín, Elena Espada-Bernabé, Yolanda Madrid.

Universidad Complutense de Madrid, Ciencias Químicas, Química Analítica, Av. Complutense s/n, 28040, Madrid, beatrgom@ucm.es

Los aditivos alimentarios TiO₂ (E171) y SiO₂ (E551) han sido objeto de distintas reevaluaciones por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), donde se ha considerado, entre otros aspectos, la posibilidad de que ambos pudieran considerarse como aditivos nanoparticulados y, por tanto, no permitidos por la Unión Europea (EFSA, 2018 y 2019). En los últimos años, se han publicado numerosos estudios que demuestran la aplicabilidad de la técnica de espectrometría de masas por plasma de acoplamiento inductivo en modo de detección de partículas individuales (spICP-MS) junto con la microscopía electrónica de transmisión (TEM) para el estudio de la presencia de nanopartículas en alimentos que contienen los aditivos E171 y E551. Sin embargo, pocos son los trabajos que se centran en los procesos de tratamiento de muestra previo al análisis, siendo claves para obtener resultados precisos y fiables.

Por tanto, este trabajo tiene como objetivo, por un lado, estudiar el efecto de distintos procesos de tratamiento de muestra en la integridad de nanopartículas de TiO₂ y SiO₂, y por otro, la identificación y caracterización de nano/micro partículas de SiO₂ y TiO₂ en alimentos como cacao en polvo, preparado en polvo para natillas, azúcar glas, fondant y caramelos de chocolate. Una vez determinado el contenido total de silicio y titanio en los diferentes alimentos mediante ICP-MS, se optimizó el proceso de extracción de ambas nanopartículas. Para ello, se han probado distintos extractantes (Agua, Tris-HCl y mezclas de enzimas) y se ha estudiado la aplicación de sonicación mediante baño o sonda de ultrasonidos, primero en patrones de partículas de SiO₂ y TiO₂ para estudiar su efecto en la integridad de estas y, después, su efectividad en los alimentos seleccionados.

Por último, los extractos se han caracterizado mediante TEM y se han llevado a cabo análisis de screening mediante spICP-MS. En los alimentos con un número estadísticamente significativo de partículas de SiO₂ y TiO₂ se realizaron análisis cuantitativos para determinar el tamaño medio, la distribución de tamaños, la fracción disuelta y el porcentaje de partículas menor de 100 nm. Este fue el caso del TiO₂ en los caramelos de chocolate donde la aplicación de un análisis ANOVA multifactorial mostró diferencias significativas entre dichos parámetros cuantitativos en función del color del caramelo.

Agradecimientos:

Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2020-114714RB-I00); Comunidad de Madrid y fondos europeos FSE y FEDER (S2018/BAA-4393); Universidad Complutense de Madrid (beca predoctoral CTQ/18-CT43/18); Comunidad de Madrid (contrato CT4/21-CT5/21).

, EFSA J. 2018, 14(1), 4364, EFSA J. 2019, 17(7), 5760.



Characterization musts, wines and sparkling wines based on their elemental composition determined by ICP-OES and ICP-MS

José Fermín López Sánchez, Biel Granell, Anaïs Izquierdo-Llopart, Àngels Sahuquillo, Javier Saurina.

Universidad de Barcelona, Facultad de Química, Departamento de Ingeniería Química y Química Analítica, Martí i Franquès 1-11, 08028, Barcelona, fermin.lopez@ub.edu

The control of the composition of food products with Protected Designation of Origin, such as wines and sparkling wines, is essential to prevent fraudulent practices and adulterations. A wide range of compounds can be used as tentative biomarkers for characterization and authentication purposes, being elemental composition one of the most successful sources of information, especially for dealing with geographical origin and varietal issues. Currently, Inductively Coupled Plasma with Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) are the techniques of choice to carry out multi-elemental analysis of this kind of beverages in a rapid and simple way.

In our study, samples from the different processing stages in the elaboration of sparkling wine (cava) —including must, base wine, and sparkling wine— of Pinot Noir and Xarel-lo grape varieties have been analysed by ICP techniques to determine the elemental composition. The resulting data has been used to classify these products according to oenological practices and product qualities. For this purpose, Principal Components Analysis, box plot diagrams and bar charts have been used. Different markers and sample patterns have been found dealing with changes resulting from the different steps of the production process cava wines.

Results have revealed the relevance of some elements as descriptors of winemaking processes. For instance, Cu and K are abundant in musts and their concentrations progressively decreases through the cava production process. S levels suddenly increase at the base wine step (and further decay) of the addition of sulphites as preserving species. Finally, concentrations of Na, Ca, Fe and Mg increase from the first fermentation due to the addition of clarifying agents such as bentonite.

..



Development of nanosensors for tyramine detection in food packages

Mario Domínguez García, Javier Galbán Bernal, Susana de Marcos Ruiz.

Universidad de Zaragoza, Facultad de Ciencias, Química Analítica, Calle Pedro Cerbuna 12, 50009, Zaragoza, m.dominguez@unizar.es

This project aims to develop an Au(III)-based nanosensor to be implemented in food packaging that allows tyramine determination. This determination will be made by the formation of gold nanoparticles with a strong purple coloration as a result of a reaction between Au(III) and tyramine. The system to be developed is based on the immobilization of Au(III) in plastics with tectomers. Tectomers are oligoglycines capable of adhering molecules with which they have previously interacted on surfaces of different materials. Throughout the work, tests are carried out with different concentrations of gold and different tectomers to evaluate the immobilization of Au(III) in PLA sheets and it is obtained that the adherence of gold is greater the longer it takes since the preparation of the sheet. In addition, the construction of these sheets will be optimized taking care of pH at which they are formed, the molar ratio between gold and tectomer and pH at which the reaction with tyramine takes place.

On the other hand, the study and optimization of a method to quantify Au(III) at different pH values is performed. This method is based on the formation of the AuBr₄⁻ complex and its next determination by molecular absorption. Calibration lines are constructed at various pH values and statistically compared using significance tests. These calibration lines serve to quantify the gold that comes from the sheets after being washed in water. In that way, the adhesion of gold to the surface of the sheet is evaluated.

Once the sheets are optimized, calibration curves will be constructed by two different methods (using RGB coordinates and molecular absorption), which will be used to quantify tyramine.

Finally, an interference study by testing other biogenic amines and an application study to real cheese samples will be carried out.



Evaluación de antioxidantes en pasta de tomate mediante voltamperometría

Agustina Guiberteau Cabanillas, Cristina Molina Jiménez, Teresa Galeano Díaz.

Universidad de Extremadura, Facultad de Ciencias, Química Analítica, Edificio Viguera, Campus Universitario, Avd. Elvas, 6006, Badajoz, tgaleano@unex.es

En el análisis de alimentos, respondiendo a la tendencia de utilizar procedimientos cada vez más simples, que ahorren etapas previas de preparación de muestras, así como consumo de reactivos y disolventes, la utilización de técnicas electroquímicas, en concreto de sondas que puedan utilizarse directamente en el alimento sin manipular, es una interesante alternativa para determinar compuestos electroactivos, como son los fenoles. En este sentido, Domenech-Carbó et al. [1-2] proponen el uso de sondas electroquímicas in situ para caracterizar muestras de tomate, a través de la respuesta de compuestos antioxidantes al insertar electrodos de carbono vitrificado en el pericarpio de especímenes de tomate fresco cortados por la mitad, o bien mediante la generación electroquímica de especies reactivas de oxígeno (ROS) y registro de las respuestas características de compuestos resultantes de la reacción de tales especies con compuestos de tomate. También [3], se ha utilizado el contenido de licopeno del tomate, obtenido mediante voltamperometría cíclica, como huella digital para discriminar diferentes variedades de tomate. En esta comunicación se presentan los resultados obtenidos en el análisis de compuestos fenólicos en muestras de pasta de tomate, haciendo uso de electrodos impresos y voltamperometría de barrido lineal. Tras seleccionar las condiciones químicas e instrumentales que proporcionan la mejor señal en un extracto de la pasta de tomate en medio etanol-agua, se comprueba la influencia de la fracción lipídica en la determinación de los antioxidantes, extrayendo la fracción liposoluble previamente con isohexano y pasando posteriormente una corriente de nitrógeno para secar el residuo, concluyendo que los compuestos liposolubles no afectan de forma importante a dicha señal. Por último, se lleva a cabo la determinación, mediante adición patrón, de fenoles de bajo potencial de oxidación, realizando adiciones de rutina como patrón, y de ácido o-cumárico en el caso de aquellos que presentan alto potencial de oxidación. Finalmente, se comparan los resultados obtenidos utilizando un extracto de la muestra de pasta de tomate, en etanol-agua a pH 4 con los obtenidos utilizando simplemente una suspensión de muestra en un pequeño volumen de agua, ajustando el medio al mismo pH.

Agradecimientos. Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (Proyecto PID2020-112996GB-I00) y por la Consejería de Economía e Infraestructuras de la Junta de Extremadura (PRI IB20016y GR21048), ambas ayudas confinanciadas por fondos FEDER

[1] A. Doménech-Carbó, I. Domínguez, P. Hernández-Muñoz, R. Gavara, Food Chemistry 172 (2015) 318., [2] A. Doménech-Carbó, R. Gavara, P. Hernández-Muñoz, I. Domínguez, Talanta 144 (2015) 1207., [3] B. Ghatak, Sk B. Ali, N. Debabhuti, A. Ghosh, P. Sharma, B. Tudur, R. Bandyopadhyay, Sensor Letters 15 (2017) 1.



ANÁLISIS VOLTAMPEROMETRICO DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN LAS DIFERENTES ETAPAS DE OBTENCIÓN DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN EXTRA.

AGUSTINA GUIBERTEAU CABANILLAS, María Josefa Bernalte García, Elena García Nevado, Jacinto Jesús, Sánchez Casas, Manuel Alejandro Martínez Cañas.

Extremadura, Ciencias, Química Analítica, Campus Universitario, Badajoz, 06006, BADAJOZ, aguibert@unex.es

Se desarrolla un método voltamperométrico (DPV), utilizando electrodos impresos, para la determinación del contenido fenólico en extractos metanólicos de muestras procedentes de la elaboración del aceite de oliva virgen extra (AOVE): pasta de aceituna (antes y después del batido), AOVE y alperujo. El proceso de elaboración del AOVE consta de las etapas: Molienda de aceituna, batido, separación sólido-líquido y separación líquido-líquido.

Existen antecedente acerca del consumo de AOVE para prevenir enfermedades: cardiovasculares, cáncer, trastornos inflamatorios, diabetes, párkinson, alzhéimer y enfermedades hepáticas [1]. El efecto beneficioso para la salud es debido al perfil de ácidos grasos y a la presencia de antioxidantes que contiene, compuestos fenólicos, y que son responsables del aroma, sabor y protección frente a la autooxidación. Los principales compuestos fenólicos presentes en aceituna o AOVE son los alcoholes fenólicos (hidroxitirosol (HYT) y tirosol) generados por hidrólisis de oleuropeína y ligstrósido. La concentración de compuestos fenólicos depende de: variedad de aceituna, maduración, clima y del proceso de extracción del AOVE.

Hay antecedentes acerca de la determinación de fenoles en AOVE mediante técnicas electroanalíticas, generalmente con electrodos de carbono vitrificado [2]; utilizando electrodos impresos [3] se propone un método para determinar el contenido fenólico en aceites en función del tiempo transcurrido desde su elaboración. En este trabajo, el AOVE procede de aceituna variedad arbequina; tras la molienda, seguida del batido (30 min) y por último la centrifugación para la separación sólido-líquido, las muestras se analizan en cada uno de estos pasos. Se realiza una extracción previa de los fenoles utilizando metanol:agua (80:20 v/v) . La cuantificación de fenoles en los extractos se expresa como mg equivalente de HYT/g de muestra. El mayor contenido de fenoles se encuentran en la pasta antes y después del batido y en alperujo debido a ser más polar el medio. Se comparan los resultados o con el fotométrico con buena concordancia.

Agradecimientos. Trabajo financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (Proyecto PID2020-112996GB-I00) y por la Consejería de Economía e Infraestructuras de la Junta de Extremadura (PRI IB20016, GR21048 y GR21193) cofinanciadas por fondos FEDER.

[1] M. Barbalace, L. Zallocco, D. Beghelli, M. Ronci, S. Scortichini, M. Digiacomio, M. Macchia, M. R. Mazzoni, D. Fiorini, A. Lucacchini, S. Hrelia, L. Giusti, C. Angeloni, *Antioxidants*, 10(3), (2021) 421., [2] K. Morozova, E. Aprea, C. Cantini, M. Migliorini, F.S. Gasperi, S. Scampicchio, *Electroanalysis*, 28(9) (2016) 2196, [3] T. A. Enache, A. Amine, C.M.A. Brett, A. M. Oliveira-Brett, *Talanta* 105(15) (2016)179



BIOPLATAFORMAS ELECTROANALÍTICAS CON SENSIBILIDAD MODULABLE Y SIN AMPLIFICACIÓN DE LA DIANA PARA LA DETECCIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS DE RELEVANCIA EN SEGURIDAD ALIMENTARIA

Víctor Ruiz-Valdepeñas Montiel, María Gamella, Jorge Parrón, María Isabel Ballesteros, Mayte Villalba, Carmen Cuadrado, Rosario Linacero, María Pedrero, Jose Manuel Pingarrón, Susana Campuzano.

Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Av. Complutense, s/n, 28040, Madrid, vrvmontiel@ucm.es

La seguridad alimentaria es una de las inquietudes emergentes que tiene como objetivo garantizar el acceso físico y económico a alimentos seguros y nutritivos. Dentro de este marco, aunque se han implementado metodologías para la detección de dianas funcionales, la detección de secuencias específicas de ADN de origen animal o vegetal se considera una alternativa específica y fiable, debido a la mayor estabilidad de las moléculas de ADN a procesados alimentarios.

Las estrategias de biosensado de ADN basadas en ensayos de hibridación ADN/ARN, asistidos por μ -partículas magnéticas (MBs), anticuerpos y/o bioconjugados específicos, capaces de modular a medida la sensibilidad del bioensayo, se presentan como herramientas muy prometedoras para la detección sencilla y selectiva de ácidos nucleicos. Por ello, se han desarrollado biosensores basados en la captura de heterohíbridos de ADN/ARN sobre MBs y posterior reconocimiento y marcaje con anticuerpos y/o bioconjugados específicos, realizando detección amperométrica empleando el sistema H₂O₂/hidroquinona (HQ) y electrodos serigrafiados de carbono (SPCEs). Estos biosensores han permitido determinar a nivel pM secuencias diana sintéticas (fragmentos característicos de secuencias codificantes de proteínas alergénicas en vegetales o del ADN D-loop mitocondrial de carne animal), y su detección directamente en 50 ng de ADN genómico o mitocondrial desnaturalizado no fragmentado. Además, se ha evaluado la posibilidad de simplificar las estrategias y mejorar el rendimiento de los procesos de extracción genética mediante el aislamiento selectivo de contenedores de información genética, como mitocondrias y cloroplastos, constituidos por un menor número de genes, pero con un mayor número de copias por gen. Para ello, se han seleccionado fragmentos característicos del ADN mitocondrial de una especie animal y de cloroplasto de una especie vegetal. Dichas estrategias han demostrado la detección de procesos de adulteración en carne al nivel exigido por la legislación (0.5 %) directamente en lisados mitocondriales crudos, libres de extracción o amplificación. Actualmente, se está evaluando el potencial de los cloroplastos para la extracción y detección sencilla de secuencias de ácidos nucleicos de frutos secos específicos. La simplicidad y el reducido tiempo de análisis de las estrategias desarrolladas, compatibilidad con determinaciones multiplexadas en el punto de atención y versatilidad para la detección de otros ácidos nucleicos hace de estas bioplataformas ofertas muy prometedoras para garantizar el cumplimiento de la normativa de etiquetado y seguridad alimentaria.



Espectroscopia Raman con compensación espacial para el control no invasivo de productos alimenticios

Alejandra Arroyo Cerezo, Ana M. Jiménez Carvelo, Antonio González Casado, Luis Cuadros Rodríguez.

Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, Avda Fuentenueva, s.n., 18071, Granada, arroyoc@ugr.es

Los métodos analíticos convencionales y reconocidos para su rutinario uso e implementación en el campo del control analítico de alimentos presentan hoy día una serie de desventajas, y es cada vez más notable el desfase en este ámbito con respecto a las nuevas tecnologías emergentes. Los largos periodos de tiempo requeridos para el análisis y las operaciones previas de tratamiento de muestra, así como el uso de sustancias químicas potencialmente peligrosas, tanto para el analista como para el medio ambiente, o la fuente de errores que suponen dichas etapas dentro del proceso analítico, son algunos de los inconvenientes que presentan las técnicas convencionales empleadas para el control de la calidad y autenticidad de alimentos, como son las técnicas cromatográficas acopladas a distintos sistemas de detección o de medida.

De ahí surge la necesidad actual del desarrollo de nuevos métodos analíticos basados en técnicas analíticas que ofrezcan la posibilidad de llevar a cabo análisis rápidos, poco invasivos, de fácil implementación y transferencia, y que eviten o minimicen el uso de reactivos. En esta línea, cabe destacar el potencial de una variante de espectroscopia Raman, conocida como espectroscopia Raman con compensación espacial (SORS, spatially offset Raman spectroscopy), con aplicaciones ya implementadas en la industria farmacéutica pero no en la alimentaria.

SORS ofrece la ventaja de realizar medidas a través de los envases originales de los productos, gracias a que recoge la radiación emitida en un punto longitudinalmente desplazado respecto al punto de incidencia del láser. Esto permite extraer una mayor contribución de las capas interiores y poder obtener el espectro Raman del material o producto del interior. Además, ofrece la ventaja de suprimir la influencia de la fluorescencia, uno de los inconvenientes habituales en el uso de la espectrometría Raman convencional.

Los datos espectrales obtenidos contienen la información química que caracteriza el material medido como una "huella instrumental", lo cual requiere el empleo de herramientas quimiométricas y de minería de datos.

En esta comunicación se presenta un equipo portátil que realiza medidas basadas en la técnica SORS de una forma rápida y no invasiva, y algunas aplicaciones realizadas enfocadas al análisis cualitativo y/o cuantitativo de alimentos con el objetivo de ofrecer una nueva herramienta que asegure un adecuado control de la calidad y autenticidad alimentaria.

E. Hong, S.Y. Lee, J.Y. Jeong, J.M. Park, B.H. Kim, K. Kwon, H.S. Chun. *J. Sci. Food Agric.* 97 (2017) 3877-3896., A. Arroyo-Cerezo, A.M. Jiménez-Carvelo, A. González-Casado, A. Koidis, L. Cuadros-Rodríguez. *LWT - Food Sci. Technol.* 20 (2021) 2476-2507., Y. Xu, P. Zhong, A. Jiang, X. Shen, X. Li, Z. Xu, Y. Shen, Y. Sun, H. Lei, H. Trends Anal. Chem. 131 (2020) 116017.



Trace-level determination of 14 phthalates in bottled water by solid-phase microextraction and high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

Evaristo Ballesteros, Andrés J. Rascón, Priscilla Rocío-Bautista, Laura Palacios Colón, Juan Francisco García-Reyes, Antonio Molina-Díaz

University of Jaén, E.P.S of Linares, Department of Physical and analytical Chemistry, Avda. de la Universidad s/n, 23700 Linares (Jaén), eballes@ujaen.es.

Phthalates are a family of compounds derived from 1,2-benzenedicarboxylic acid, they are widely used as plasticizers for polyvinyl chloride materials, adhesives, and film coatings [1]. The use of phthalates is essential in the food packaging industry to produce poly vinyl chloride (PVC), cosmetics, food packaging products, etc. For bottled water, phthalates are used in the manufacture of polyethylene terephthalate (PET) to improve its mechanical properties. Phthalates have been proved to be endocrine disruptors, cause bad neurological development in pregnancy, reproductive and cardiovascular alterations. Migration from packaging to water can come from different processes: contaminated water by environmental deposition, bad packaging handling and raw materials. The biggest source in bottled water is by bad manipulation of bottles, being exposed to direct light and heat leading to a degradation of the polymer and releasing contaminants [2]. From 2011, the European Commission released the Regulation (UE) 10/2011 which limits the specific migration of 6 phthalates from packaging to food: benzyl butyl phthalate (≤ 30 mg/kg), dibutyl phthalate (≤ 0.3 mg/kg), di(2-ethylhexyl) phthalate (≤ 1.5 mg/kg), diisodecyl phthalate and diisononyl phthalate (≤ 9 mg/kg combined), and diallyl phthalate (not detected, ≤ 0.1 mg/kg) [3].

In literature, several methodologies applied different extraction and isolation techniques for phthalates in water like dispersive liquid-liquid microextraction, ultrasonic assisted extraction, solid-phase extraction and solid-phase microextraction (SPME). SPME is being more used nowadays, thanks to its polyvalence to multi-residue analysis of compounds, spanning a wide range of polarity or possessing diverse physic-chemical properties with different sorbent fibers. For its chromatographic determination is used high-performance liquid chromatography-mass spectrometry, high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS), high-performance liquid chromatography-diode array detection, gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-tandem mass spectrometry.

An analytical methodology based on the use of different SPME fibers in combination with HPLC-MS/MS has been developed for the simultaneous isolation and determination of phthalates in bottled water. The advantages of this methodology is the low amount of organic solvents needed in comparison with other extraction techniques. The proposed method was validated with good analytical properties, acceptable recovery values, good linearity throughout the studied concentration ranges and good precision (relative standard deviations less than 7%) for the determination of phthalates in bottled water at ng/kg level. The methodology was successfully apply over 30 different bottled water samples (mineral and sparkling water) with different packaging materials (PET, recycled PET and glass), none of the samples shown phthalates levels above the legal limits.

[1] S. Huang, b, Z. Qi, S. Ma, G. Li, C. Long, Y. Yu. *Environ. Pollution* 279 (2021) 116941.

[2] Q. Luo, Z. Liu, H. Yin, Z. Dang, P. Wu, N. Zhu, Z. Lin, Y. Liu. *Water Research* 147 (2018) 362-372

[3] European Commission. Commission Regulation (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food. *OJ. L.* 012 15.1.2011, p. 1.



Simultaneous detection of phenolic compounds in dairy products by gas chromatography-mass spectrometry

Evaristo Ballesteros, Laura Palacios Colón, Andrés J. Rascón.

University of Jaén, E.P.S of Linares, Department of Physical and analytical Chemistry, Avda. de la Universidad s/n, 23700, Linares (Jaén), eballes@ujaen.es

Phenolic compounds (including phenol, alkylphenols, chlorophenols, and bisphenols) are highly toxic compounds with great environmental concern for their persistence in environmental matrices [1]. Phenolic compounds are classified as priority organic pollutants in wastewater. The environmental accumulation by different industrial sources increase the risks to living organisms. Alkylphenols and chlorophenols are widely used as substrates in pesticides production processes for agriculture and as preservative agents in other many industries. Bisphenols are mainly used as a monomer in the production of polycarbonate plastics (~80%) and epoxy resins (~18%).

The U.S. Environmental Protection Agency classifies the phenolic compounds priority organic pollutants. In a Scientific Opinion published by the European Food Safety Authority they reassessed the safety of bisphenol A in food and proposed to lower considerably the tolerable daily intake of 4 µg/kg [2]. Phenolic compounds can cause different illnesses as cancer, liver damage, and disorders associated to the endocrine system. According to a report published by the Spanish Ministry of Agriculture Food, and Environment, milk is an essential food in the shopping basket with high consumption among Spanish (73.33 kg/person/year). Milk can be contaminated in different production processes from its origin in farms to consumers [3].

Although there are previous studies for the presence of phenols in milk and dairy products, some of them are more than 10 years old and they have a reduced number of samples. Most recent studies are focused on the determination of bisphenol A and its analogues. This work aimed to optimize the variables influencing the determination of phenols by gas chromatography-mass spectrometry in electron impact mode. The proposed method was successfully used to quantify twenty one phenolic compounds [phenol, chlorophenols (4-chlorophenol, 4-chloro-3-methylphenol, pentachlorophenol and triclosan); alkylphenols (2,5-dimethylphenol, 3,4-dimethylphenol, 4-tert-butylphenol, 2-tert-butyl-4-methylphenol, 4-pentylphenol, 4-hexylphenol, 2-phenylphenol, 4-phenylphenol, 4-heptylphenol, 4-tert-octylphenol and nonylphenol) and bisphenols (bisphenol F, bisphenol A, bisphenol B, bisphenol Z and bisphenol S)] in dairy products. The performance of the method was evaluated in terms of recovery (~ 100%), precision (relative standard deviation < 7.5%), linearity and detection limits (at ng/kg levels). The methodology was used to test 20 samples of milk (cow, sheep, and goat milk) and 18 samples of dairy products (yogurts, custards, milkshakes, cheese, butter, and margarine). Samples were found to contain some of the analytes, although at concentrations below the current maximum residue levels set by the European Commission.

1. F. Ghaemi, A. Amiri, A. J. Chromatogr. A 1626 (2020) 461386., 2. European Food Safety Authority (EFSA). <https://www.efsa.europa.eu/en/news/bisphenol-efsa-draft-opinion-proposes-lowering-tolerable-daily-intake> (accessed on 15 April 2022)., 3. L. Herrero, J.E. Quintanilla-López, M.A. Fernández, B. Gómara, Food Chem. 338 (2021) 128031.



CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA BIDIMENSIONAL PARA LA DETERMINACIÓN SIMULTÁNEA DE NUCLEÓTIDOS MONOFOSFATO Y RESIDUOS DE FÁRMACOS VETERINARIOS EN LECHE DE OVEJA

Noelia Caballero Casero, Diego García Gómez, Encarnación Rodríguez Gonzalo.

Universidad de Salamanca, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Plaza de los Caídos, s/n, 37008, Salamanca, a42caasn@uco.es

En la actualidad existe un creciente interés por llevar una vida sana basada en una alimentación saludable. La concienciación de los consumidores por la calidad e inocuidad de los alimentos hace necesario el desarrollo de metodologías analíticas que permitan la determinación simultánea de un amplio margen de compuestos de interés sanitario y nutricional en matrices agroalimentarias. La leche y sus derivados son alimentos de amplio consumo por su importancia nutricional. En concreto, la leche de oveja presenta un extraordinario valor nutritivo, destacando su alto contenido proteico y de nutrientes esenciales como los nucleótidos, compuestos esenciales en procesos vitales. Sin embargo, también puede contener residuos relacionados con el uso de fármacos veterinarios, cuyo nivel máximo está regulado por la Unión Europea.

Este estudio tiene como objetivo dar respuesta a esa necesidad mediante el desarrollo de un método analítico basado en el uso de cromatografía bidimensional (2DLC) para la cuantificación simultánea de micronutrientes y residuos veterinarios en alimentos. Concretamente, se han determinado residuos de fármacos de uso veterinario (media y baja polaridad) y nucleótidos monofosfato (alta polaridad). Tradicionalmente, ambos grupos de compuestos han requerido distintas condiciones cromatográficas para su separación, dadas las diferencias en las propiedades fisicoquímicas entre ambos. Así, la separación de los antibióticos se ha basado en interacciones hidrófobas en fase inversa, mientras que la separación de los nucleótidos monofosfato se ha basado en interacciones de par-iónico.

En este estudio se propone por primera vez el uso de la cromatografía líquida bidimensional (2DLC) en modo heart-cutting para la separación simultánea de residuos veterinarios y nucleótidos monofosfato. En la primera dimensión cromatográfica (1D) se llevó a cabo la separación de trimetoprima, sulfóxido de albendazol, sulfona de albendazol, sulfona-2-amino de albendazol, enrofloxacin y ciprofloxacino en una fase estacionaria de fase inversa (C18). La fracción no retenida de 1D, donde eluyen los nucleótidos monofosfato, se transfirió a la segunda columna cromatográfica (2D) donde la separación de citidina monofosfato, uridina monofosfato, inosina monofosfato, guanosina monofosfato y adenina monofosfato se llevó a cabo con una fase estacionaria modificada con grupos de par-iónico básicos. La combinación de ambas modalidades cromatográficas permitió la separación simultánea y eficaz de los 11 analitos. El método analítico ha sido validado conforme a la Directiva Europea (2002-657-CE) y aplicado exitosamente a la cuantificación de los analitos en tres muestras de leche de oveja de distinta procedencia, con recuperaciones en el intervalo 80-108% y RSDs inferiores al 13% a concentraciones de 0,5xMRL.

..



SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN POLÍMERO DE IMPRONTA MOLECULAR PARA LA EXTRACCIÓN SELECTIVA DE ÁCIDO p-CUMÁRICO DE FRUTOS DE AGUACATE

Alegría Carrasco Pancorbo, Carmen Fernández Fernández, Carmen Martínez González, Lucía Olmo García, Alegría Carrasco Pancorbo, Jorge F. Fernández Sánchez.

Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Química Analítica, C/ Severo Ochoa s/n, 18071, Granada, alegriac@ugr.es

Los ácidos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas con demostrada capacidad antioxidante, que juegan un papel muy relevante en las propiedades organolépticas y en la calidad global de los alimentos. Debido a su acumulación preferente en ciertos tejidos de las frutas durante la maduración, se han llegado a proponer como potenciales biomarcadores del estado de madurez de frutas climatéricas como el aguacate. Este hecho ha propiciado que se intenten desarrollar metodologías para determinar el punto óptimo de recolección de estas frutas, basadas en la evaluación del contenido de ciertos ácidos fenólicos (como por ejemplo, el ácido p-cumárico).

El momento preciso para recoger los frutos de aguacate es un parámetro difícil de establecer de forma objetiva, en el que agricultores y productores a gran escala están tremendamente interesados. Los resultados alcanzados por nuestro grupo de investigación sugieren que el ácido p-cumárico podría ser un buen indicador de cómo se está desarrollando el proceso de maduración [1]. Por tanto, su determinación selectiva podría representar una medida relativa del índice de madurez del aguacate.

Para ello, en este trabajo se ha desarrollado un MIP (molecularly imprinted polymer, [2]) microparticulado mediante polimerización por precipitación para la extracción selectiva de este analito en muestras de aguacate. Para obtener unas características químicas y morfológicas adecuadas al problema abordado, se han optimizado: (i) tipo y concentración de molécula molde, monómero y entrecruzador (ácido p-cumárico, 4-vinilpiridina y PETA, respectivamente, en una proporción molar 1:6:10); y (ii) sistema disolvente/porógeno (acetronitrilo/tolueno en una proporción 3:1 en volumen). Los análisis de las isoterma de extracción y de los parámetros de impronta determinan que el material desarrollado presenta una relación MIP:NIP próxima a 2, con una constante de unión de 1.5, lo que va a permitir la extracción selectiva de ácido p-cumárico en muestras acuosas, y por tanto, el diseño de sistemas de extracción en fase sólida o extracción dispersiva que simplifiquen su determinación posterior.

[1] E. Hurtado-Fernández et al., Food Research International 62 (2014) 801-811., [2] B. Sellergren (2001) Molecularly imprinted Polymers, Elsevier, Amsterdam.,



Hass avocado samples from different production countries: How different are their LC-MS metabolic profiles?

Alegría Carrasco Pancorbo, Irene Serrano-García, Joel Domínguez-García, Elena Hurtado-Fernandez, Lucía Olmo-García, José Jorge Gonzalez-Fernandez, J. Iñaki Hormaza, Alegría Carrasco-Pancorbo.

Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Química Analítica, Ave. Fuentenueva s/n, 18071, Granada, alegriac@ugr.es

The relevance of avocado in international markets has increased exponentially in recent years. South America stands out in the global market with 23% of the total world production in 2020 with Hass variety as the main crop. European avocados represent only 1.5% of the world market share, with Spain accounting for 90% of the continental production. However, Spanish production represents less than 10% of total avocado consumption in Europe, and fruit imports from other countries (mainly Chile and Peru) are needed to meet the European demand.

This work has aimed at two main goals: a) to characterize and quantitatively compare the metabolic profiles of Hass avocados coming from different production countries, and b) to find potential markers that specifically could discriminate fruits from each geographical area. To this end, 145 avocado samples from Spain (50), Chile (35) and Peru (60) were analysed by a validated LC-ESI-MS method using both, LR and HR mass analysers. Methanolic extracts were separated in a Zorbax C18 column (4.6 x 150 mm, 1.8 µm particle size) using a gradient of about 20 min with acidic water and ACN.

First, the qualitative study of the profiles was carried out and HR-MS data, spectral information and relative retention time of commercial pure standards, and available literature were used for compounds identity assignment. In a subsequent step, more than 30 substances, including amino acids, phenolic acids, flavonoids, vitamins, phytohormones, etc. were quantified using 11 available standards belonging to different chemical families. In a final stage of the study, supervised statistical tools were applied trying to identify potential markers for each geographical origin.

In general terms, avocados from Chile and Spain were richer in phenolic acids than those from Peru. p-Coumaric acid and its glycosylated derivatives were more abundant in all samples than ferulic acid and related analytes. Chile stood out in terms of uridine, tyrosine and abscisic acid; Peru exhibited higher concentrations of pantothenic acid and phenylalanine than avocados from other origins; and the found levels of epicatechin and chlorogenic acid were remarkable in Spanish avocados. Chile was also the geographical origin whose avocados had the highest levels of succinic acid and several fatty acids. The following compounds were pointed out as potential markers of each production country: p-coumaric acid and coumaroyl-hexose I for Chile; coumaric acid malonyl hexose II, coumaroyl hexose II and epicatechin for Spain; and phenylalanine and pantothenic acid for Peru.

..



MICROEXTRACCIÓN POR DIFUSIÓN EN FASE GAS EN EL ANÁLISIS DE PRODUCTOS SECUNDARIOS DE OXIDACIÓN LIPÍDICA EN ALIMENTOS

Antonia María Carro Díaz, J.A. Custodio-Mendoza, J. Aja-Macaya, L. Muñoz, I.M. Valente, J.A. Rodrigues, P.J. Almeida, R.A. Lorenzo.

Santiago de Compostela, Química, Química Analítica, Nutrición y Bromatología, AVDA. DAS CIENCIAS, S/N, 15782, SANTIAGO COMPOSTELA (A CORUÑA), tuchi.carro@usc.es

La peroxidación lipídica es un proceso de degradación oxidativa que se produce en los alimentos con alto contenido lipídico y que afecta a sus propiedades organolépticas y a su calidad. Algunos de los productos secundarios de la peroxidación lipídica como el malondialdehído (MDA) pueden ser utilizados como biomarcadores y marcadores de calidad alimentaria). Paralelamente, la pérdida de valor nutricional de los alimentos ricos en azúcares y proteínas se debe a procesos como la reacción de Maillard. En ambos casos se forman compuestos volátiles muy reactivos ya que contienen grupos funcionales como carbonilos y dobles enlaces. Dan lugar a reacciones intracelulares que pueden causar estrés oxidativo en las células y son precursores directos para la formación de productos finales de glicación avanzada (AGEs).

Las técnicas de microextracción son estrategias analíticas integradoras (miniaturización de la preparación de muestra y derivatización de los analitos previa a su determinación cromatográfica). Son técnicas que siguen las premisas de la Química Analítica Verde y permiten obtener unos resultados satisfactorios, usando cantidades muy pequeñas de muestra y bajos volúmenes de disolventes. Se disminuye el coste y la duración del proceso, frente a las técnicas convencionales. Así mismo, son sencillas para su implementación en los laboratorios de control.

Se presentan tres procedimientos analíticos propuestos para la determinación de MDA y otros compuestos carbonílicos en alimentos: La microextracción por difusión en fase gas (GDME), incluyendo la reacción de derivatización simultánea con ácido tiobarbitúrico seguida del análisis mediante cromatografía líquida de alta resolución con detector ultravioleta y de fluorescencia (HPLC-UV-FLD); la combinación de GDME y microextracción líquido-líquido dispersiva (DLLME) para la extracción y derivatización con 2,4-dinitrofenilhidracina, previa al análisis de los compuestos de interés mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS); y finalmente la GDME por inmersión con derivatización mediante o-fenilenediamina seguida de la determinación usando cromatografía líquida de alta resolución con detector de diodos (HPLC-DAD).

N. Kishikawa, M.H. El-Maghrabey, N. Kuroda J. Pharm. Biomed. Anal. 175 (2019) 112782, J.A.Custodio-Mendoza, I.M.Valente, R.M.Ramos, R.A.Lorenzo, A.M.Carro, J.A.Rodrigues J. Food Compost. Anal. 82 (2019) 103254, J.A.Custodio-Mendoza, J.Aja-Macaya, I.M.Valente, J.A.Rodrigues, P.J.Almeida, R.A.Lorenzo, A.M.Carro J. Chromatogr. A 1627 (2020) 461397



DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A NEW METHOD FOR DETERMINING ACARICIDE RESIDUES IN HONEY SAMPLES FROM DIFFERENT BOTANICAL ORIGINS BY GC-MS

Adrián De La Fuente Ballesteros, Patricia Brugnerotto, Ana C.O. Costa, María Jesús del Nozal, Ana M^a Ares, José Bernal.

Valladolid, Facultad de Ciencias, Química Analítica, Grupo de Investigación TESEA, Paseo de Belén, 5, 47011, Valladolid, adriandelafuenteballesteros@gmail.com

Nowadays, there is great concern about the health status of hives, attributing bee losses to various factors, such as the presence of pesticides. There are studies in which it was documented that the main source of pesticide contamination in bees of the *Apis mellifera* species are the acaricides used to combat the parasite known as *Varroa destructor*, which is responsible for the death of thousands of individuals in the hive. The treatments employed to fight against this mite can be potentially harmful to bees and even to humans if they are used in amounts greater than those recommended. Indeed, the detection of contaminants, like acaricides, have recently affected the healthy image of bee products, especially honey, as it could represent a potential risk for consumers. Therefore, efficient, selective and sensitive methods are needed for determining pesticide residues, and more specifically acaricides, in honey.

In the present study, a new analytical method has been developed and validated to determine seven of the most commonly detected acaricides in Spain (atrazine, chlorpyrifos, chlorfenvinphos, α -endosulfan, bromopropylate, coumaphos and α -fluvalinate) in honey from different botanical origins (multifloral, rosemary and heather) using gas chromatography coupled to mass spectrometry. Different sample treatments (solid phase extraction, solvent extraction and QuEChERS) have been evaluated in order to obtain the best recovery efficiency while reducing as much as possible the potential matrix effect. The best performance was obtained when using solvent extraction with an ethyl acetate and cyclohexane mixture. Chromatographic analysis (< 25 min) was performed in an Agilent DB-5MS (30 m \times 0.25 mm \times 0.2 μ m) column, and it was operated under programmed temperature conditions. The method was fully validated in terms of selectivity, limits of detection and quantification, linearity, matrix effect, trueness and precision. Finally, the proposed method has been applied to analyze honey samples from the above-mentioned botanical origins, and α -fluvalinate residues were found in all samples.



Aplicación de Técnicas de Procesamiento de Imagen RGB en Combinación con Métodos Quimiométricos para la Caracterización del Estado de Maduración en Ciruelas de la Variedad Friar

Jaime Domínguez Manzano, Arsenio Muñoz de la Peña, Isabel Durán Merás, Olga Monago Maraña.

Extremadura, Química, Química Analítica, Avenida de Elvas s/n, 06006, Badajoz, jaidoman93@gmail.com

Las ciruelas, al igual que otras frutas de hueso, son climatéricas, por lo que el seguimiento, control y estudio de su estado de maduración, tanto en condiciones pre-cosecha como post-cosecha, resulta trascendental de cara a prolongar la vida útil del producto para su comercialización y consumo, ya que dicha maduración produce diversos cambios fisiológicos como pueden ser enrojecimiento de la parte interna del fruto, translucidez, reblandecimiento, etc [1].

En relación al estudio del estado de maduración existen un gran número de métodos analíticos para su caracterización, como pueden ser la medida de la firmeza de la ciruela, el contenido en sólidos solubles, el contenido total de antocianinas, el contenido de pectina soluble e insoluble o la medida de la producción de etileno, el contenido en compuestos fenólicos, carotenoides y clorofilas, pigmentos responsables del color amarillo y verde de las frutas respectivamente, y cuyos límites de concentraciones se relacionan estrechamente con los estados de maduración de cada fruta. Para ello, se han propuesto métodos analíticos que permiten correlacionar el contenido en estos componentes, como son las clorofilas o los carotenoides, con el estado de maduración en plátanos, tomates, uvas y, como es el caso, en ciruelas.

La estrecha relación existente entre el color verde de la clorofila en estados tempranos de la maduración la aparición de coloraciones rojas oscuras, atribuibles a la acumulación de antocianinas en la piel en etapas posteriores de la maduración de la fruta, permiten aplicar herramientas de procesamiento de imagen y segmentación del color en el espacio RGB, para el seguimiento y clasificación del estado de maduración, así como para la cuantificación de los pigmentos asociados a dicho estado de maduración [2].

De este modo, la investigación realizada ha consistido en la aplicación de herramientas de procesamiento de imagen RGB, en combinación con algoritmos quimiométricos de orden 0, 1 y 2, fundamentados en la relación del valor R, G y B, los histogramas y los valores propios de los 400x400 píxeles, respectivamente, de imágenes digitales de ciruelas de la variedad friar. Las imágenes tomadas con un teléfono móvil Xiaomi Redmi Note 4, para el seguimiento de la evolución de los colores en función del estado de maduración, se obtuvieron a lo largo de 8 semanas. Asimismo, se ha estudiado su correlación con las concentraciones de clorofilas asociadas a dichas tandas, a través de análisis de referencia realizados posteriormente a la toma de imágenes, mediante HPLC [3].

[1] J. Wang, H. Pan, R. Wang, K. Hong, and J. Cao. *Postharvest Biology and Technology* 121 (2016) 9-18, [2] M. M. Ali, A. Al-Ani, D. Eamus, and D. K. Y Tan. *International Conference on Sustainable Environment and Agriculture* 57.10, [3] D. J. Hart and K. J. Scott. *Food Chemistry*. 54 (1995) 101-111



Fluorescencia sensibilizada por lantánidos en combinación con herramientas quimiométricas para la determinación de oxitetraciclina en mieles

Isabel Durán Martín-Merás, Javier Porras Aretio, Olga Monago Maraña, Teresa Galeano Díaz.

Extremadura, Ciencias, Química Analítica, Avda de Elvas s/n, 06006, Badajoz, iduran@unex.es

Los problemas de residuos de medicamentos en mieles más frecuentes se deben al empleo de sustancias prohibidas, o a la utilización en dosis excesivas sin respetar los períodos de supresión recomendados para los productos permitidos. El uso de antibióticos para controlar plagas en las colmenas está prohibido en los países de la UE [1], pero en otros países se permite, por lo que es necesario controlar la presencia de antibióticos, preferentemente tetraciclinas, en mieles importadas.

En este estudio se aborda el uso de la fluorescencia sensibilizada por lantánidos, en concreto por europio, para la determinación de tetraciclinas en miel, seleccionando la oxitetraciclina como la molécula diana inicial. Se seleccionaron las variables, tanto instrumentales como químicas, utilizando diseño de experimentos y la metodología de la superficie de respuesta, para obtener la mejor señal de fluorescencia del complejo europio-oxitetraciclina, en presencia de miel.

Se han obtenido señales fluorescentes de primer orden, excitando a 396 nm del complejo Eu-OTC, en presencia de la matriz de miel y de segundo orden, matrices de excitación-emisión, EEMs, excitando entre 300-400 nm, y registrando los espectros de emisión entre 350-600 nm. Estas matrices se utilizaron para optimizar modelos de análisis multivariante, basados en el uso del algoritmo PARAFAC. Se ensayaron diferentes procedimientos de calibración multivariante que incluían las EEMs obtenidas de las muestras de miel en presencia de oxitetraciclina y las matrices obtenidas restándoles matrices de un blanco de miel en ausencia de tetraciclina. Haciendo uso de muestras obtenidas a partir un pool de diferentes mieles, y contaminadas con concentraciones conocidas de oxitetraciclina (OTC), se compararon las diferentes rectas de calibrado obtenidas a partir las señales fluorescentes obtenidas mediante la metodología convencional y la metodología front-face, obteniéndose mejores resultados mediante esta última modalidad. Se obtuvieron los parámetros de calidad correspondientes tanto a la regresión univariante como a la regresión multivariante, obteniéndose mejores resultados utilizando calibración multivariante.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (Proyecto PID2020-112996GB-I00) y por la Consejería de Economía e Infraestructuras de la Junta de Extremadura (PRI IB20016y GR21048) ambas confinanciadas por fondos FEDER

[1] Reglamento (UE) 470/2018 del Parlamento Europeo y del Consejo, 11 de diciembre de 2018,



Caracterización preliminar del microbioma de la leche de tanque en explotaciones lecheras expuestas a diferentes grados de contaminación ambiental

Sergio Forcada Mazo, Loubna Abou el qassim, Mario Menéndez, Ana del Cerro, Ana Soldado, Luis J Royo, José Manuel Costa-Fernández.

Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), Dpto. Nutrición, Pastos y Forrajes, Grupo de investigación NySA-SERIDA, Ctra. AS - 267, PK 19, 33300, Villaviciosa, sforcada@serida.org

Hace unos doscientos millones de años aparecieron en la tierra los mamíferos, animales que presentan dos características evolutivas nuevas: la presencia de pelo y de glándulas mamarias, cuya secreción (la leche) cumple el papel de alimentar a las crías. Desde la Antigüedad, el ser humano ha desviado la función de la lactancia de las hembras de algunos mamíferos para su propio beneficio, convirtiendo la leche en uno de los principales alimentos.

Varios estudios han revelado que el calostro y la leche materna son fuentes continuas de bacterias comensales, mutualistas y potencialmente probióticas para el lactante. Habitualmente la identificación de microorganismos se ha realizado mediante cultivo, sin embargo, el desarrollo de técnicas de secuenciación de ADN de alto rendimiento permite estudiar la comunidad de microorganismos de la leche, la llamada microbiota, y su impacto en la salud animal y humana.

La hipótesis del trabajo es que el microbioma de la leche de tanque se ve afectado por la presencia de contaminantes en el entorno donde se localizan las granjas lecheras. Para ello se muestreó leche del tanque de 28 granjas y el forraje del que se alimentaban las vacas en producción los días anteriores al muestreo. En los forrajes se han medido los contaminantes orgánicos (HAP) e inorgánicos (metales pesados). En la leche se extrajo el ADN bacteriano, y se identificó el metagenoma a partir de la amplificación y secuenciación de un fragmento de la región ribosómica 16S.

Las granjas se clasificaron en base a un análisis de componentes principales de estos forrajes, resultando ser los HAPs los compuestos más influyentes en la variabilidad total. 14 granjas fueron consideradas con carga contaminante elevada y otras 14 con menor concentración de HAPs. El microbioma de estas granjas fue comparado, seleccionando en cada grupo aquellos microorganismos presentes en más del 50 % de las muestras. Atendiendo a este criterio, 125 microorganismos estaban presentes en ambos grupos, 20 únicamente en leche de ganaderías con menor carga contaminante y 59 en leche con mayor contaminación ambiental. De estos últimos, 4 microorganismos (*Bosea sp.*, *Facklemia humanensis*, *Pseudomonas stutzeri*, *Trueperella pyogenes*) presentes en leche de explotaciones con mayor contaminación se encuentran en menos del 20 % de la leche en explotaciones menos contaminadas.

*Trabajo financiado por el PID2020- 117282RB-I00 y el Principado de Asturias IDI/2021/000102 y fondos FEDER. Sergio Forcada está financiado por una ayuda BES-2017-081314 y Loubna Abou el qassim por una ayuda Severo Ochoa (BP17-49).

..



Selección de normalizadores de la expresión diferencial de miARN en muestras de leche de tanque de ganaderías lecheras expuestas a diferentes grados de contaminación ambiental

Sergio Forcada Mazo, Loubna Abou el qassim, Mario Menéndez, Ana Soldado, Luis J Royo, José Manuel Costa-Fernández.

Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), Dpto. Nutrición, Pastos y Forrajes, Grupo de investigación NySA-SERIDA, Ctra. AS - 267, PK 19, 33300, Villaviciosa, sforcada@serida.org

Los microARN son moléculas de ARN de cadena sencilla, de tamaño pequeño (unos 25 nucleótidos), que regulan la expresión génica en eucariotas de manera post-transcripcional, y que están implicados en la mayoría de los procesos biológicos de las células y organismos. La expresión de estos biomarcadores en diferentes tejidos se puede ver alterada por la exposición del individuo a diferentes contaminantes ambientales.

Nuestro interés en el estudio de estos biomarcadores es poder utilizarlos como indicadores indirectos de la presencia de HAP (Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos) en el ambiente. La técnica de elección empleada para analizar la expresión diferencial de los miARN es la PCR a tiempo real. Esta técnica requiere de la normalización de los resultados, que se realizará con aquellos miARN en la leche cuya expresión puede considerarse constante en las condiciones del estudio.

Para seleccionarlos, se extrajo ARN total de la grasa de 27 muestras de leche de tanque de ganaderías recogidas en diferentes localizaciones y épocas del año y representativas de toda la variabilidad existente, desde libres de contaminación hasta ganaderías con ciertos niveles de contaminación ambiental. La clasificación de la contaminación de las ganaderías se realizó en base al contenido de HAP en el forraje del que se alimentaban las vacas en producción los días anteriores al muestreo de la leche. En estas muestras de ARN de leche de tanque se analizó la expresión de seis miARN de expresión estable en otros estudios de análisis de expresión de miARN en grasa de leche de vaca. El algoritmo GeNorm identifica el número ideal de marcadores estables para asegurar que la normalización sea correcta. En este caso, se identificó que la media aritmética de la expresión de los marcadores bta-mir27 y bta-mir99 asegura una correcta normalización de los resultados en las condiciones de nuestro trabajo.

*Trabajo financiado por el INIA-AEI RTA2015-00062 y el Principado de Asturias IDI/2021/000102 y fondos FEDER. Sergio Forcada está financiado por una ayuda BES-2017-081314. Loubna Abou el qassim está financiada por una ayuda Severo Ochoa (BP17-49).



Protein profiling of quinoa grains by liquid chromatography with ultraviolet absorption detection and chemometrics: a promising tool for food fraud prevention

Rocío Galindo-Luján, Laura Pont, Victoria Sanz-Nebot, Fernando Benavente.

Universidad de Barcelona, Química, Ingeniería Química y Química Analítica, Carrer de Martí i Franquès, 1-11, 08028, Barcelona, rgalindo@ub.edu

Over the last years, quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) has gain a great popularity worldwide because it is rich in nutrients, bioactive compounds, essential aminoacids and proteins [1]. Quinoa grains and other quinoa-containing products are generating a growing demand in society and, therefore, they are susceptible to adulteration with cheaper cereals [2,3]. In this study, we describe a rapid and simple procedure for protein fingerprinting of quinoa seeds based on the combination of liquid chromatography with ultraviolet absorption diode array detection (LC-UV-DAD) analysis of protein extracts and chemometrics. First, we developed a novel LC-UV-DAD method to obtain characteristic multiwavelength chromatographic profiles of soluble protein extracts from different quinoa varieties from Peru and Bolivia. Then, multivariate curve resolution alternating least squares (MCR-ALS) was used to deconvolute the components present in the LC-UV-DAD fingerprints, and principal component analysis (PCA) followed by partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) were finally applied to efficiently classify the quinoa varieties according to differences in their protein composition. The proposed LC-UV-DAD chemometrics-assisted methodology demonstrated its potential to rapidly obtain a reliable classification of quinoa varieties based on protein fingerprinting and could find application in quality control and food fraud prevention programs.

1. Galindo-Luján, R., Pont, L., Minic, Z., Berezovski, M. V., Sanz-Nebot, V., & Benavente, F. (2021). Characterization and differentiation of quinoa seed proteomes by label-free mass spectrometry-based shotgun proteomics. *Food Chemistry*, 363, 130250–130263. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130250>, 2. Rodríguez, S. D., Rolandelli, G., & Buera, M. P. (2019). Detection of quinoa flour adulteration by means of FT-MIR spectroscopy combined with chemometric methods. *Food Chemistry*, 274, 392–401. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.140>, 3. Galindo-Luján, R., Pont, L., Sanz-Nebot, V., & Benavente, F. (2021). Classification of quinoa varieties based on protein fingerprinting by capillary electrophoresis with ultraviolet absorption diode array detection and advanced chemometrics. *Food Chemistry*, 341, 128207. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128207>



DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO EN ZUMOS DE FRUTAS Y PRODUCTOS FARMACÉUTICOS MEDIANTE ANÁLISIS DE IMAGEN DIGITAL

ROSA GARCIA-ARRONA, ANE BORDAGARAY, MIREN OSTRA, ANDONI URANGA, MAIDER VIDAL.

UNIVERSIDAD DEL PAIS VASCO (EHU/UPV), FACULTAD DE QUIMICA, QUÍMICA APLICADA. Q. ANALÍTICA, MANUEL DE LARDIZABAL, 3, 20018, DONOSTIA-SAN SEBASTIAN, rosa.garcia@ehu.eus

El ácido ascórbico (AA) es una de las vitaminas hidrosolubles más importantes, presente de forma natural en frutas y verduras. Es un componente esencial de la dieta humana y presenta muchos beneficios en la salud como un potente efecto antioxidante (Santos et al., 2016). Además de los beneficios de la vitamina C en la salud, también está permitido su uso como aditivo en los alimentos, según el Reglamento (CE) nº 1925/2006 de la Comisión Europea, codificado como E300.

Se han descrito muchos métodos analíticos para la determinación de la vitamina C en alimentos. La cromatografía líquida es una de las técnicas más comunes para el análisis del ácido ascórbico, así como la electroforesis capilar, pero el principal inconveniente de estas técnicas es el coste del equipo. La espectrofotometría es probablemente el método más adecuado en cuanto a buenos resultados y coste de análisis.

Los métodos de análisis de imagen han surgido hace algunos años y el DIA se ha propuesto como una alternativa rápida, barata y ecológica a la espectrofotometría (Filgueiras et al., 2022; Vidal et al., 2018). El objetivo de este trabajo es determinar el ácido ascórbico en alimentos y productos farmacéuticos con el análisis de imágenes digitales (DIA) utilizando un smartphone. Este nuevo método ha demostrado su potencial para procesar varias muestras a la vez reduciendo considerablemente el tiempo de análisis. Además, la cantidad de muestras y reactivos utilizados puede ser de tan solo unos microlitros y, por tanto, también reduce la generación de residuos de productos químicos.

Este trabajo propone un método para la cuantificación del AA en productos farmacéuticos y zumos de frutas utilizando el análisis de imágenes digitales (DIA). EL método propuesto se ha desarrollado midiendo el color rojo anaranjado obtenido en la reacción entre el AA y el complejo de hierro (II)-1, 2 ortofenantrolina. Las imágenes digitales se descompusieron en canales de color RGB y se utilizó el log B0/B como señal relacionada con la concentración de ácido ascórbico. Se han obtenido coeficientes de correlación superiores a 0,99, valores de RSD inferiores al 10% así como se obtuvieron buenos valores de LOD y LOQ. El método se aplicó a diferentes muestras y los resultados se compararon con la espectrofotometría UV-Vis sin que se hayan encontrado diferencias significativas.

M F Filgueiras, B. de Oliveira Lima, E. M. Borges Talanta 241 (2022) 123229., D.A. Santos, K.P. Lima, PH.Março, P. Valderama, P. Journal of the Brazilian Chemical Society, 27(10) (2016) 1912., M. Vidal, R Garcia-Arrona, A. Bordagaray, M. Ostra, G Albizu Talanta, 184 (2018) 58.



Direct determination of γ -butyrolactone in beverages by infrared spectroscopy

Salvador Garrigues Mateo, Gracia Aitana Lloret, Daniel Gallart-Mateu, Miguel de la Guardia.

Universitat de València (EG), Facultad de Química, Departamento Química Analítica, Edificio Jeroni Muñoz. Calle Doctor Moliner 50, 46100, Burjassot (Valencia), salvador.garrigues@uv.es

γ -butyrolactone (GBL) is a colorless and easy miscible with water free available compound which offers an alternative to γ -hydroxybutyric acid (GHB) for sexual assaults. It is employed at the level of to be mixed with beverages. So, in this work we have developed a direct and fast method to determine GBL in common beverages by infrared attenuated total reflection (ATR-FTIR).

From ATR-FTIR spectra of a drop of untreated suspected beverage (is required less than 5 μ L), the content of GBL can be determined by using a partial least squared (PLS) calibration model. Effect of spectral interval, data pretreatment and calibration set design on the predictive capability of the method have been studied. Aqueous standards of GBL (between 500 and 15000 mg/kg), standards containing different levels of water, ethanol, and GBL, together with ATR-FTIR spectra of different alcoholic and non-alcoholic beverages were considered. For validation a set composed by cold drinks, alcoholic beverages or combined drinks, spiked with well know concentrations of GBL (550 to 13500 mg/Kg), were used.

A general model with a calibration set including 38 spectra (1 water blank, 14 GBL water-standards and 23 blanks of cold drinks and alcoholic beverages) and specific models for cold drinks, alcoholic beverages, or restringing GBL concentration up to 5000 mg/Kg, were evaluated from their root mean square error of calibration (RMSEC) and prediction (RMSEP), coefficients of determination (R^2), and residual predictive deviation (RPD) values.

A General Model, using second derivative spectral data pre-treatment between 1225 to 1171 and 999 to 972 cm^{-1} , provided RMSEC of 199 mg/Kg ($R^2_{\text{cal}} = 0.9978$), RMSEP of 287 mg/Kg ($R^2_{\text{val}} = 0.9941$) and RPD of 13.4, thus evidencing a good predictive capability. The accuracy of this model was evaluated for specific groups of samples, being the average relative error (%) between 2.6 % (pure alcoholic beverages) and 8.1 % (beverages with GBL below 4000 mg/Kg). A precision between 0.6 and 5.2% RSD, was found. Specific PLS models do not provided statistically significant improvement of the predictive capability.

The proposed method permits a fast and direct determination of GBL in all type of beverages, in less than 2 minutes and avoiding the use of reagents nor solvents, without any sample treatment required, being in agreement with the principles of Green Analytical Chemistry.

Acknowledgements: Authors gratefully acknowledge the financial support of the project (PID2019-110788GB-I00) funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033.



Convirtiendo las cáscaras de cítricos en productos de alto valor añadido: composición y estabilidad fenólica de extractos bioactivos frente a tratamientos de congelación y secado

Esther Gómez-Mejía, Iván Sacristán, Noelia Rosales-Conrado, María Eugenia León-González, Yolanda Madrid.

Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Químicas, Departamento de Química Analítica, Avenida Complutense s/n, Parque de Ciencias, 28040, Madrid, egomez03@ucm.es

Las cáscaras de cítricos son una fuente rica en compuestos bioactivos como los polifenoles, compuestos con una demostrada actividad antioxidante, antimicrobiana y anti-carcinogénica, que los convierte en ingredientes funcionales prometedores para numerosas industrias. En la actualidad, se están fomentando estrategias sostenibles basadas en la economía circular para recuperarlos a partir de estos biorresiduos. Sin embargo, para explotar su potencial bioactivo, es necesario su extracción y un posterior tratamiento de conservación. Por ello, el estudio de la estabilidad de los polifenoles es fundamental para valorizar los extractos procedentes de biorresiduos [1-2].

El objetivo de este estudio es la evaluación de la estabilidad de los extractos fenólicos, obtenidos a partir de cáscaras de mandarina y limón, frente a diferentes tratamientos de secado y a la congelación. Para ello, el extracto hidro-etanoico procedente de las cáscaras [1] se evapora a sequedad (en estufa o evaporador a vacío a 40 oC o 60 oC), o se mantiene a -20 oC o a temperatura ambiente durante un periodo de 90 días. Todos los extractos fenólicos se han analizado a intervalos regulares de tiempo mediante métodos espectrofotométricos (contenido total de polifenoles y de flavonoides) y cromatografía líquida capilar acoplada a un detector UV-Vis de matriz de diodos y un analizador de masas (cLC-DAD-MS), a fin de monitorizar el contenido individual de los polifenoles extraídos y establecer la cinética de la degradación. Análogamente, se ha evaluado la actividad antioxidante de los extractos sometidos a los distintos tratamientos utilizando el método de inhibición de radicales libres DPPH•.

Los resultados obtenidos han demostrado que los extractos fenólicos son estables durante más de 20 días cuando se conservan a temperatura ambiente, no encontrando diferencias con la velocidad de degradación a -20 oC. En cuanto al método de secado, el contenido y el perfil polifenólico varían considerablemente según la naturaleza de la matriz y el tipo de polifenol evaluado, por lo que la aplicación final del extracto determinará el tratamiento más adecuado. Por todo ello, los extractos obtenidos en este estudio presentan aplicaciones potenciales en la industria agroalimentaria como antioxidantes, y se podrían incorporar como aditivos naturales de alto valor añadido en muchos productos.

Este trabajo ha sido apoyado por el programa Madrid/FEDER [S2018/BAA-4393, AVANSECAL II-CM]; el Ministerio de Ciencia [PID2020-114714RB-100] y la Universidad Complutense de Madrid mediante una beca predoctoral [CT17/17 - CT18/17].

[1] E. Gómez-Mejía, Food Chem., 295(15) (2019) 289-299, [2] K. Papoutsis, Int. J. Food Sci. Technol., 52(4) (2017) 880-887,



Transformation products and degradation kinetics of chlorantraniliprole: laboratory and field studies in tomato samples applying LC-HRMS and non-targeted analysis

Antonio Jesús Maldonado-Reina, Antonio Jesús Maldonado-Reina, Rosalía López-Ruiz, Roberto Romero-González, José Luis Martínez Vidal, Antonia Garrido-French

Universidad de Almería, Facultad de Ciencias Experimentales, Departamento de Química y Física, Ctra. Sacramento s/n, 04120 Almería, jlmartin@ual.es.

Chlorantraniliprole is a novel synthetic anthranilic diamide insecticide developed by DuPont. It is an active substance authorised in Spain, and as such, it is commonly monitored in marketed agricultural goods. Nonetheless, its transformation products (TPs) are currently overlooked, even though they are likely to be present in foodstuff treated with chlorantraniliprole plant protection products (PPPs). Therefore, it is important to shed light on possible TPs originated from its degradation and monitor them, either those previously described in literature,¹ or novel identified, using a non-targeted approach (suspect screening and unknown analysis), as they may also end up in the food chain and pose a threat to human health.

To this purpose, laboratory and field studies in greenhouse were carried out in tomato samples to monitor the dissipation behaviour of chlorantraniliprole, as well as its degradation in TPs. Samples were carefully sprayed with an aqueous solution of Altacor® at different concentrations. Laboratory studies were performed at single (7.53 g chlorantraniliprole/L) and twofold (15.05 g chlorantraniliprole/L) dose for a total of 30 days at room temperature. On the other hand, field studies were carried out at the single recommended dose, up to 53 days. Tomato samples were processed by a solid-liquid extraction method using acetonitrile (MeCN) as extracting solvent (5 g tomato /5 mL MeCN), and analysed by ultra-high performance liquid chromatography coupled to Q-Orbitrap high resolution mass accuracy spectrometry (LC-Q-Orbitrap-HRMAS), operating in Full Scan MS, and data independent acquisition (DIA) modes.

Concerning dissipation studies, for both laboratory and field studies, dissipation of chlorantraniliprole fitted to a biphasic kinetic model, regardless of the applied concentration. Additionally, 2 TPs of chlorantraniliprole were tentatively identified by a combination of a database created from literature research, and MassChemSite, which predicts possible TPs generated from a parent structure. IN-F6L99 was a common TP in both studies, being detected from day 0 (laboratory) and day 2 (greenhouse). The tentatively identified TPs were semiquantified by an analytical standard of chlorantraniliprole, due to their structural similarity, which yielded a result of around 3.2 µg/kg, whose toxic effects should be studied.

Authors gratefully acknowledge the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness and FEDER-EU (project ref. PID2019-106201RB-I00) for financial support. RLR acknowledges to the Andalusian Ministry of Economic Transformation, Industry, Knowledge and Universities for financial support (Ayudas para Captación, Incorporación y Movilidad de Capital Humano de I+D+I, PAIDI 2020). AJMR acknowledges the Ministry of Universities for financial support (FPU, ref. FPU19/04260).



Discriminación/Clasificación de chufas de distinto origen geográfico combinando técnicas cromatográficas y quimiométricas

Miriam Medina García, Fidel Ortega Gavilán, Ana M. Jiménez Carvelo, María G. Bagur González, Antonio González Casado

Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, Av Fuentenueva s/n, 33012 Granada, miriammedina@ugr.es.

La chufa es el tubérculo del rizoma del *Cyperus esculentus* L., esta especie vegetal se emplea como alimento al presentar elevadas propiedades nutritivas y energéticas atribuibles, en gran medida, a su elevado contenido en aceite, principalmente compuesto por ácidos grasos monoinsaturados. Sus propiedades beneficiosas han sido precursoras de la expansión de este producto en el mercado como alimento alternativo a otros de origen animal. La demanda de este alimento y de sus derivados, ha aumentado de manera exponencial en los últimos años, expandiéndose su explotación agrícola a numerosas zonas geográficas. Entre ellas, destacan las zonas con climas mediterráneos, como países de África occidental y regiones de España, más concretamente Valencia. El cultivo de la chufa en la zona de l'Horta Nord (Valencia) se encuentra protegido y regulado por la Denominación de Origen Protegida (D.O.P.) "Chufa de Valencia".

La composición de este alimento parece variar en función del origen de la chufa y de su variedad, lo cual podría deberse a diversos factores como pueden ser el clima o la técnica empleada para el cultivo. De ahí, surge el interés por conocer la relación existente entre la composición de este fruto y la localización geográfica de sus cultivos.

En esta comunicación se presenta la posibilidad de discriminar muestras de chufa de distinto origen geográfico a partir de la información recogida en cromatogramas globales e inespecíficos o huellas instrumentales cromatográficas. Cada muestra se analiza mediante cromatografía de gases y cromatografía de líquidos, como resultado se obtienen dos huellas instrumentales cromatográficas para cada muestra. La información recogida en ambas huellas se fusiona y se le aplican métodos quimiométricos de clasificación multivariable para diferenciar muestras de chufa con distinto origen geográfico.

C. Ruiz-Samblás, A. González-Casado, L. Cuadros-Rodríguez. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 55 (2015) 1618-1631.

L. Cuadros-Rodríguez, C. Samblás-Ruiz, L. Valverde-Som, E. Pérez-Castaño, A. González-Casado. *Anal Chim Acta.* 909 (2016) 9-23.



Classification of different olive oil categories using ambient mass spectrometry

Antonio Molina-Díaz, Ines Rosita Talarico, Lucia Bartella, Priscilla Rocio-Bautista, Leonardo Di Donna, Juan F. García-Reyes.

University of Jaén, Department of Physical and Analytical Chemistry, Analytical Chemistry Research Group (FQM-323), Campus Las Lagunillas, Edif. B3, 23071, Jaén, amolina@ujaen.es

The beneficial effects of olive oil consumption on human health are well known and extensively documented. These benefits are often associated with monounsaturated fatty acids content and minor components such as tocopherols and phenolic compounds. Olive oil is composed of two fractions, the saponifiable fraction (with a total percentage of 98-99%) and the unsaponifiable, which represents the remaining. This minor fraction consists of a complex mixture of hydrocarbons, tocopherols, pigments, waxes, aromatic and aliphatic alcohols, phytosterols and triterpene acids. Subtle differences in the contents of these species allow us to classify olive oils according to their quality. Several studies have been described in the literature using whole oil without fractionation. However, considering that most of the properties are found in the unsaponifiable fraction, its analysis is proposed through direct analysis in combination with mass spectrometry (MS).

Among all the ambient MS techniques, paper spray MS (PS-MS) is a suitable approach for streamlined MS analysis. The importance lies in combining the advantages of mass spectrometry with minor or negligible sample preparation constraints. Therefore, in this work, the PS-MS has been first applied for direct analysis of the unsaponifiable fraction, with particular attention to sterols. Subsequently, with a fingerprinting approach, a classification method has been developed, using three groups of commercial olive oil: extra virgin olive oil (EVOO), virgin olive oil (VOO) and pomace olive oil (POO) (a total of 21 samples from each class). Not only with PS-MS, but the same procedure has been assessed with high-resolution MS (direct infusion APCI-HRMS), which allowed us to achieve meaningful results. Indeed, two different techniques, two distinct ionization methods and mass spectrometry resolutions were compared with the same good outcome. In order to classify the olive oils according to their sterol fraction composition, various statistical tests were applied, including principal component analysis, cluster analysis of original variables and K-NN.



Cuantificación no destructiva de azúcares en manzanas mediante espectroscopía Raman

Olga Monago Maraña, Nils Kristian Afseth, Svein Halvor Knutsen, Sileshi Gizachew Wubshet, Jens Petter Wold.

Universidad Nacional de Educación a Distancia, Facultad de Ciencias, Ciencias Analíticas, Urbanización Monte Rozas, Avda. Esparta s/n, Crta. de Las Rozas-Madrid Km 5, 28232, Madrid, olgamonago@ccia.uned.es

Las manzanas son unas de las frutas más consumidas y producidas en todo el mundo, siendo ricas en azúcares, vitaminas y muchos otros nutrientes. Un parámetro importante que determinar en estas frutas son los sólidos solubles, ya que determinan el sabor, la madurez, así como la fecha óptima de recolección. Actualmente, este parámetro se determina mediante refractometría, que supone un procedimiento destructivo y algo lento. Por otro lado, la cuantificación de azúcares individuales (fructosa, glucosa y sacarosa) en las manzanas también es de interés en relación con los programas de fenotipado y mejora, así como para estudiar el metabolismo de los carbohidratos durante la maduración y el almacenamiento poscosecha (1). Por todo esto, existe una necesidad industrial de mejora e investigación de la determinación no destructiva y rápida de estos parámetros.

Así, el objetivo de este estudio ha sido explorar la posibilidad de emplear la espectroscopía Raman como técnica no destructiva para la cuantificación de sólidos solubles y azúcares individuales en manzanas (2). Para llevarlo a cabo se eligieron seis variedades de manzanas comerciales y se obtuvieron sus espectros Raman. Los resultados indicaron que se podía medir a una profundidad de 8 mm con la sonda que se empleó, lo cual supuso un resultado muy interesante. Una vez registrados los espectros, se analizaron las muestras para obtener los correspondientes valores de referencia y se construyeron los modelos de calibración multivariante para evaluar como podría ser usada la espectroscopía Raman para estimar los parámetros de calidad mencionados anteriormente: sólidos solubles (%), azúcares totales (mg/L), glucosa (mg/L), fructosa (mg/L) y sacarosa (mg/L).

La precisión del modelo obtenido para sólidos solubles fue comparable a otros modelos obtenidos mediante espectroscopía de infrarrojo cercano. Se obtuvo un valor para el coeficiente de determinación $R^2 = 0.70$ y un error cuadrático medio de validación cruzada (RMSECV, root mean square error of cross-validation) = 0.66%. En el caso de los modelos obtenidos para glucosa y sacarosa también se obtuvieron bajos errores, con valores de $R^2 > 0.82$. Los coeficientes de regresión de todos los modelos de calibración mostraron que las variables del espectro Raman que más influían en los mismos estaban relacionadas con los azúcares objeto de estudio, por lo que se confirmó la fiabilidad de los modelos.

(1) Y. Guan, C. Peace, D. Rudell, S. Verma, K. Evans, Mol. Breed., 35 (2015) 1-13., (2) O. Monago-Maraña, N. K. Afseth, S. H. Knutsen, S. G. Wubshet, J. P. Wold, Postharvest Biol Technol, 180 (2021) 111620.,



Quantitative characterization of the phenolic compounds profile of Arauco virgin olive oil exposed to different storage conditions

Romina Monasterio, Irene Serrano-García, Lucía Olmo-García, Eduardo Trentacoste, Alegría Carrasco-Pancorbo.

University of Granada, Faculty of Sciences, Department of Analytical Chemistry., Institute of Agricultural Biology of Mendoza, IBAM-CONICET, Mendoza, Argentina., Av. Fuentenueva s/n, 18071, Granada, rmonasterio@ugr.es

The storage conditions are important issues in minimizing hydrolytic and oxidative reactions of virgin olive oils (VOOs), mainly deleterious reactions of this food. These reactions are logically influenced by the composition of the VOO. Therefore, each variety can have a specific behavior, depending on the composition of its oils and its typical botanical characteristics.

In this way, the changes in the phenolic compounds profile of Arauco VOO samples after being stored at different conditions were investigated, together with other physico-chemical parameters. The study was performed with Arauco monovarietal VOO because it is the unique local variety from Argentina (recognized in the World Catalog of Olive Varieties) and at the moment this type of study has not been previously reported. This experimental research was carried out to study the influence that exposure to light (darkness and light), temperature (24 and 40°C), packaging material (PET and dark-glass) and headspace (air and N₂ atmosphere) have on the quality of Arauco EVOO over 76 days.

After storage, the basic quality parameters, such as free acidity, peroxide values, extinction coefficients and fatty acids composition were evaluated according to IOC methodologies. In addition, two methods were used to check the evolution of the phenolic fraction and some other important substances: liquid-liquid extraction followed by LC-ESI-MS to characterize the profile of phenolic and triterpenic compounds; and acid hydrolysis followed by LC-DAD, to quantify tyrosol and hydroxytyrosol derivatives and assess if the oils met the condition of "healthy food" established by the European Food Safety Authority (EFSA; at least 5 mg of hydroxytyrosol and its derivatives for 20 g of oil) after the storage.

A reduction in the concentration of total phenolic compounds was observed after storage treatments, but all samples still met the EFSA claim. Overall, the results revealed that conservation of the oils in PET appears adequate, with improved stability when N₂ was used in the headspace, together with darkness and low temperature. It was also noted, in general terms, that the oils had a higher resistance to light than to temperature.

The study of phenolic compound profiles showed that substances previously reported as possible markers of olive oil aging, such as hydroxytyrosol and an isomer of decarboxymethyl oleuropein aglycone, also follow a behavior consistent with the aging of Arauco variety oil. Interestingly, some evidence was found that another oleuropein-derived compound could also be used as an aging marker.

N. Tena, R. Aparicio, D. García-González D. Talanta 2017, 167, 453-461., E. Trentacoste, A. Banco, P. Piccoli, R. Monasterio J. Sci. Food Agric. 2019, 101, 2, 518-524., A. Castillo-Luna, I. Criado-Navarro, C. Ledesma-Escobar, M. López-Bascón, F. Priego-Capote Food Chem. 2021, 336.



Characterisation of the minor fraction of edible and cosmetic argan oils by LC-MS. Quantitative evaluation of saponins

Lucía Olmo-García, María Rodríguez-Gómez, Romina Monasterio, Irene Serrano-García, Alegría Carrasco-Pancorbo

Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, Instituto de Biología Agrícola de Mendoza, IBAM-CONICET, Chacras de Coria, Mendoza, Argentina, Av. Fuentenueva s/n, 18071 Granada, rmonasterio@ugr.es.

Argan oil is obtained by pressing the mature seeds contained inside the berries of the argan tree (*Argania spinosa*). It comes from Morocco but, in recent years, its consumption has grown exponentially. Whether as an edible oil or in its cosmetic form, its use has been associated with different benefits in the prevention of diseases related to oxidative stress and in skin care, mainly due to its antioxidant properties. However, a deep characterisation of the compositional profile of bioactive compounds (which are present in small amounts in this oily matrix) has not been carried out so far. The aim of this work was double: to describe the minor fraction of argan oil from a qualitative point of view and to establish the quantitative levels of the most abundant compounds (saponins).

To this end, samples of argan oil (both for food and cosmetic uses) were analysed by using a powerful method that allows the determination of a high number of metabolites belonging to different chemical classes. Firstly, a liquid-liquid extraction protocol was applied and preconcentrated extracts were then analysed by LC-MS (using both positive and negative ionization modes). A great number of compounds were tentatively identified in the profiles; pure standards, MS/MS fragments and data previously published in literature were used for identity assignment. Phenolic compounds (phenolic acids and alcohols, lignans, flavonoids, secoiridoids and some of their glycosides), triterpenic acids and dialcohols, tocopherols and fatty acid derivatives were identified in the samples, saponins being the most abundant substances found in the extracts. This fact led to a second stage of the study, where the quantitative evaluation of these analytes was carried out using a targeted LC-MS method. They greatly differed in the two evaluated categories of argan oil (both in the number of detected peaks and their relative concentration levels), since they are partially lost during the roasting treatments applied in the production of edible argan oil.

To the best of our knowledge, this is the first study describing in such comprehensive way the minor composition of argan oil. These results open up many possible interesting paths for further research.

[1] Z. Charrouf & D. Guillaume, *Phytochemistry Reviews*, 1 (2002) 345-354.

[2] L. Olmo-García et al., *Food Chemistry*, 261 (2018) 184-193.



Encapsulación de β -caroteno natural con SUPRASoleoresin-NLCs y su aplicación como ingrediente funcional en yogur

Luis Muñiz de Bustamante, Noelia Caballero Casero, Soledad Rubio Bravo.

Universidad de Córdoba, Ciencias, Química Analítica, Avenida de Medina Azahara, nº 5, 14071, Córdoba, t52mubul@uco.es

El β -caroteno es un compuesto liposoluble con propiedades antioxidantes presente en un gran número de especies vegetales. Numerosos estudios han demostrado que el β -caroteno es un precursor de la vitamina A, ayuda a reducir el riesgo de algunos tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares, aumenta la fortaleza del sistema inmunológico y protege las células contra los radicales libres. En virtud de sus propiedades, este carotenoide presenta un gran potencial como aditivo antioxidante y colorante en productos alimenticios. Sin embargo, la utilización de β -caroteno como ingrediente funcional en la industria alimentaria es aún limitada. Su alta hidrofobicidad, pobre absorción, baja disponibilidad en forma cristalina y alta reactividad e inestabilidad al calor, la luz y el oxígeno, hacen muy difícil su incorporación en matrices alimentarias. El objetivo de este trabajo es la encapsulación y estabilización de β -caroteno natural en transportadores lipídicos nanoestructurados (NLCs) basados en disolventes supramoleculares (SUPRAS). Estos disolventes son líquidos nanoestructurados producidos a partir de disoluciones coloidales de anfifilos mediante procesos espontáneos de autoensamblaje y coacervación. En esta aplicación, el SUPRAS cumple tres funciones: extrae el β -caroteno natural a partir de desechos de zanahoria a través de un proceso previamente patentado; estabiliza el β -caroteno (SUPRASoleoresin) hasta la formación de las NLCs; y actúa como reactivo (lípidos líquidos) en la formación de las NLCs (SUPRASoleoresin-NLCs). El tamaño y morfología de las NLCs sintetizadas se determinaron utilizando dispersión dinámica de la luz (DLS) y microscopía electrónica de transmisión (TEM), revelando partículas esféricas de 150 nm, con un índice de polidispersión (PDI) de 0,52 y un potencial zeta de -2,24 mV. La eficiencia de encapsulación fue del 67% y su actividad antioxidante se evaluó mediante el ensayo TEAC, obteniéndose un valor de 4,4 μ M TE (equivalente de Trolox). Todas estas propiedades se mantuvieron estables durante al menos 30 días. Para comprobar su posible aplicación en la industria alimentaria, se adicionó la formulación SUPRASoleoresin-NLCs a un yogur de fabricación casera. Las propiedades fisicoquímicas del yogur y las SUPRASoleoresin-NLCs adicionadas al mismo se evaluaron periódicamente durante 1 mes. Los resultados evidenciaron la capacidad del SUPRASoleoresin-NLCs para mantener estable el β -caroteno, e incorporarlo a una matriz alimentaria.



Characterization and Classification of Honey Samples based on Botanical Varieties by HPLC-UV Fingerprinting and Profiling Strategies

Oscar Núñez, Víctor García-Seval, Claudia Martínez-Alfaro, Javier Saurina, Sònia Sentellas.

Universidad de Barcelona, Facultad de Química, Departamento de Ingeniería Química y Química Analítica, Martí i Franquès, 1-11, 08028, Barcelona, oscar.nunez@ub.edu

Throughout the years, honey has taken an essential role in different societies because of its curative and nutritive properties coming from the presence of bioactive substances such as polyphenols, responsible for its antioxidant, antitumoral and anti-inflammatory activity. Honey is a natural product produced by bees from nectar and other non-floral secretions. Honey is classified as multifloral or monofloral honey depending on the pollen content. If more than 45% of the pollen belongs to the same plant or floral species, the honey can be considered monofloral and it is labeled after the name of the main plant or flower source. Honeys can also be classified according to the materials bees use for their production. Thus, blossom-honeys are produced from the nectar of flowers while honeydew-honeys are produced from plant secretions or sugar-rich material that plant-sucking insects excrete. Honeydew-honeys tend to be darker and with higher total polyphenol content (leading to higher antioxidant properties).

Honey is susceptible to adulteration because of the variable composition of this product regarding different conditions (botanical origin, region of production, etc.), and the similarity between many adulterants (syrup-based products) and the natural components of honey. Hence, the possibility of committing fraud by giving incomplete information about the product or by mixing high-quality honeys with cheaper ones is always present [1].

In this work, the characterization and classification of honey according to their botanical varieties using C18 reversed-phase HPLC-UV methodologies were evaluated. A total of 137 blossom- and honeydew-honeys of different botanical varieties (blossom, heather, mountain, eucalyptus, forest, holm oak, rosemary, thyme, and multifloral) were analyzed by means of two HPLC-UV strategies. The first method consisted of a HPLC-UV fingerprinting approach performing a simple honey sample treatment based on sample dilution with water followed by a 1:1 dilution with methanol, and separation under a universal gradient elution. Secondly, a polyphenolic HPLC-UV profiling approach was employed by performing a solid-phase extraction (SPE, HLB sorbent) of polyphenols followed by a polyphenolic optimized gradient elution. The obtained HPLC-UV fingerprinting and profiling chromatograms were evaluated as honey chemical descriptors by principal component analysis, partial least squares-discriminant analysis, and hierarchical cluster analysis for sample characterization and classification. With both strategies, important differences between blossom-honey and honeydew-honey groups were observed, mainly based on their polyphenolic content, allowing honey variety discrimination.

[1] N.L. Chin, K.A. Sowndhararajan. A Review on Analytical Methods for Honey Classification, Identification and Authentication in V. D-A. Arnaud De Toledo and E.M. Chambó (Eds.) Honey Analysis. New Advances and Challenges, Intechopen. 2020, ,



Perfil de similitud cromatográfica: una metodología innovadora para la detección de mezclas fraudulentas de aceites de oliva vírgenes

Fidel Ortega Gavilán, Ana M. Jiménez Carvelo, Luis Cuadros Rodríguez, María Gracia Bagur González.

Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, Avda Fuentenueva, 18071, GRANADA, fog@ugr.es

Comparado con otros aceites vegetales, el aceite de oliva (independientemente de la categoría comercial) es un alimento potencialmente vulnerable a ser fraudulentamente mezclado con otros aceites vegetales de peor calidad para obtener beneficios ilícitos. Estas operaciones no autorizadas pueden darse en cualquier etapa del proceso de producción y comercialización, incluido el transporte, y provocan cambios considerables en la composición química de los aceites.

El análisis directo de muestras de aceites mediante (NP)HPLC-DAD (detección 190-700 nm) permitiría poner de manifiesto los cambios composicionales de varias familias de compuestos de forma simultánea entre los que se encuentran tocoferoles, clorofilas, feofitinas y carotenos, siendo los tres últimos responsables del color de los aceites. El resultado de cada análisis es un espectro-cromatograma que se identifica con una huella instrumental 2D, y que se agrupa en una matriz de datos rectangular de intensidades para cada longitud de onda en cada tiempo de la separación cromatográfica.

La detección de mezclas podría hacerse evidente empleando técnicas que evalúen cambios en las huellas instrumentales como la evaluación del agrupamiento natural de las muestras, métodos de clasificación o mediante la evaluación de la similitud de señales. Tanto el agrupamiento natural como los métodos de clasificación, por ejemplo SIMCA, suelen necesitar antes de una reducción de variables que conlleva implícitamente un riesgo alto de pérdida de parte de la información encerrada inicialmente en la huella instrumental, por lo que las diferencias son principalmente apreciables en aquellos casos en los que se producen cambios composicionales severos. En el caso de mezclas de aceites de oliva de diferentes categorías, en las que los cambios no son tan pronunciados, la comparación completa de las matrices correspondientes a la muestra antes y después de su mezcla con otro aceite de peor calidad permitiría no solo poner de manifiesto las diferencias entre dos huellas instrumentales, sino también poner de manifiesto en qué intervalo de longitudes de onda y por tanto en qué familia de compuestos se producen las mayores diferencias.

En este trabajo se propone el análisis de diferentes mezclas de aceite de oliva virgen extra con otros aceites de oliva de peor calidad preparados en el laboratorio, emulando una situación en que dichas mezclas han tenido lugar durante la etapa de transporte. Para ello se propone el uso tanto de métodos de clasificación SIMCA como la aplicación del perfil de similitud desarrollado y aplicado por primera vez en este estudio.

..



Trace-Level Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Dairy Products Available in Spanish Supermarkets by Semi-Automated Solid-Phase Extraction and Gas Chromatography–Mass Spectrometry Detection

Laura Palacios Colón, Andrés J. Rascón, Evaristo Ballesteros

Universidad de Jaén, Facultad de Ciencias, Dpto Química Física y Analítica, C/ Bailén N/1, 23510 Torreblascopedro, lpcolon@ujaen.es.

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are a group of carcinogenic organic compounds composed by two or more fused benzene rings. Polycyclic aromatic hydrocarbons are generated from incomplete burning of organic matter in natural events and human activities. The US Environmental Protection Agency (EPA) published the High Priority Pollutants list including 16 PAHs such as naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene, benzo(a)anthracene, chrysene, benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(a)pyrene, dibenzo[a,h]anthracene, benzo[ghi]perylene and indeno[1.2.3-cd]pyrene [1]. The ubiquity of PAHs and their presence in foods is a major safety concern. Because of the proven carcinogenic and mutagenic properties of these compounds, some Regulatory Agencies such as the EPA, the European Commission and the International Agency for Research in Cancer have set maximum allowed levels for PAHs in a wide variety of foods and feeds [2]. In Europe, Regulation No 835/2011 set a maximum allowed level of 1 µg/kg for benzo(a)pyrene and 1 µg/kg for the sum of benzo(a)pyrene, benzo(a)anthracene, benzo(b)fluoranthene and chrysene in cereal-based foods for children and infants and infant formula including infant milk and follow-on milk [3].

Research was carried out to detect and measure PAHs in milk and dairy products. As PAHs usually occur at very low levels and milk has complex matrices, the determination requires a multi-stage sample preparation including pre-extraction, cleaning and pre-concentration of the analytes. Liquid-liquid extraction and solid-phase extraction have been widely used for the extraction of PAHs in milk [1]. The combination of both techniques allows higher sensibility, selectivity and precision. In this work, a new methodology was developed to detect and quantify sixteen of the EPA's priority PAHs in commercial milk and dairy products. The method involves liquid-liquid extraction (LLE) followed by semi-automated solid-phase extraction (SPE) to clean-up and preconcentrate the analytes prior their detection and quantification by gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS).

The proposed method provided high precision (relative standard deviation < 11.5%), recoveries of 80–107% and low detection limits (1–200 ng/kg). The method was used to analyze 30 dairy products. The majority of them contained some PAH at concentrations from 7.1 to 1900 ng/kg. The most detected analytes were the lighter PAHs (naphthalene, acenaphthylene, fluorene and phenanthrene). None of the samples, however, contained more than four different PAHs.

[1] S. Amirdivani, N. Khorshidian, M.G. Dana, R. Mohammadi, A.M. Mortazavian, S.L.Q. Souza, H.B. Rocha, R. Raices, *Int. J. Dairy Technol.* 72 (2019) 120.

[2] A.J. Rascón, A. Azzouz, E. Ballesteros, *Food Control* 94 (2018) 268
COMISIÓN EUROPEA, “REGLAMENTO (UE) No 835/2011 que modifica el Reglamento (CE) No 1881/2006 por lo que respecta al contenido máximo de hidrocarburos aromáticos policíclicos en los productos alimenticios,” *D. Of. la Unión Eur.* 835 (2011) 4.



Discriminación de Tequilas Blancos 100% agave y mixtos mediante espectroscopia Raman con compensación espacial y análisis multivariable

C.H. Pérez-Beltrán¹, G. Pérez-Caballero², J.M. Andrade³, L. Cuadros-Rodríguez¹, A.M. Jiménez Carvelo¹

¹Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, C/Fuentenueva, s/n, 18071, Granada (España), christianpb@correo.ugr.es

²Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Unidad de Investigación Multidisciplinaria, Laboratorio de Físicoquímica Analítica y Especiación Química.

³Universidad de A Coruña, Grupo de Química Analítica Aplicada, Campus da Zapateira s/n, 15071, A Coruña.

El Tequila es una bebida espirituosa mexicana con Denominación de Origen Protegida de acuerdo con la norma NOM-006-SCFI-2012, Bebidas alcohólicas-Tequila-Especificaciones. El Tequila se clasifica en cinco clases: Tequila Blanco, Oro, Reposado, Añejo y Extra añejo, según su tiempo de maduración en barricas de roble o encino. Estos Tequilas pueden clasificarse a su vez en dos categorías dependiendo de su elaboración: Tequilas '100% agave', los cuales son elaborados con un 100% de los azúcares obtenidos del Agave tequilana weber variedad azul; o Tequilas 'mixtos', elaborados con una mezcla de como mínimo 51% de azúcares de este Agave y como máximo 49% de otros azúcares [1].

El control de calidad del Tequila es llevado a cabo por el Consejo Regulador del Tequila (CRT) mediante el uso de métodos analíticos oficiales establecidos en la misma NOM-006-SCFI-2012, los cuales son invasivos y no amigables con el medio ambiente, ya que necesitan llevar a cabo un pre tratamiento de la muestra haciendo uso de diferentes reactivos químicos. En este sentido, sería de interés contar con una técnica analítica de control que sea no invasiva, rápida, amigable con el medio ambiente y confiable capaz de diferenciar entre las distintas clases y categorías de Tequilas.

En este sentido, una variante de la convencional espectroscopia Raman conocida como espectroscopia Raman con compensación espacial (SORS – Spatially Offset Raman Spectroscopy) se presenta como técnica prometedora en el ámbito de la autenticidad alimentaria. En ésta, la señal dispersada Raman se recolecta en una ubicación desplazada espacialmente situada a cierta distancia del punto láser de excitación en la superficie de la muestra [2], posibilitando el análisis de alimentos y bebidas a través de sus contenedores de plástico o vidrio ámbar [3].

El presente trabajo presenta la aplicación de la técnica SORS mediante un equipo portátil con el objetivo de discriminar entre muestras de Tequilas Blancos 100% agave (TB) y Tequilas blancos mixtos (TBM)). Para ello, se llevó a cabo un análisis multivariable sobre las señales obtenidas aplicando diferentes métodos quimiométricos con la finalidad de obtener un modelo capaz de diferenciar entre ambas categorías de Tequila Blanco.

Los resultados muestran la viabilidad para utilizar SORS como una técnica rápida y no invasiva de rutina para diferenciar TB de TBM con ayuda de análisis multivariable. El mejor modelo obtenido fue el realizado con análisis discriminante mediante regresión parcial por mínimos cuadrados (PLS-DA – partial least square-discriminant analysis) pudiendo clasificar correctamente de todas las muestras.

[1] Norma Oficial Mexicana NOM-006-SCFI-2012, Bebidas alcohólicas-Tequila-Especificaciones. Mexican National Official Bulletin (Mexican Government). Available online:

http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5282165&fecha=13/12/2012

[2] A. Arroyo-Cerezo, A.M. Jimenez-Carvelo, A. González-Casado, A. Koidis, L. Cuadros-Rodríguez, LWT – Food Sci Technol. 2022, 149, 111822.

[3] A.M. Jimenez-Carvelo, A. Arroyo-Cerezo, S. Brikani, W. Jia, A. Koidis, L. Cuadros-Rodríguez, Microchem. J. 2022, Accepted, in proofs.



Estabilidad oxidativa de aceites de origen vegetal y marino microencapsulados. Potencial aplicación al tratamiento de la obesidad infantil

Arrate Rivas Macho, Unai Duoandicochea, Asier Santamaría, Sara Martín, Maria Luz Alonso, Luis Bartolomé, Rosa M. Alonso, Carlos Izuriaga, Hesham Salman.

Universidad del País Vasco, Ciencia y Tecnología, Química Analítica, Barrio de Sarriena S/N, 48940, Leioa, arraterivas@gmail.com

La obesidad infantil constituye uno de los problemas más graves de salud pública del siglo XXI. Su prevalencia está incrementándose a un ritmo preocupante a nivel mundial, por lo que es necesario tomar medidas para su tratamiento. Las principales consecuencias de la obesidad son las enfermedades cardiovasculares, diabetes, trastornos del aparato locomotor y un aumento en el riesgo de padecer ciertos cánceres. En el caso de los niños, la obesidad se asocia a una mayor probabilidad de muerte prematura y discapacidad en la edad adulta; además de una mayor probabilidad de sufrir las enfermedades antes mencionadas durante su crecimiento.

Está demostrado que un aumento de la actividad física y un incremento en la ingesta de alimentos ricos en compuestos anti-inflamatorios y antioxidantes, como los ácidos grasos tipo omega y los polifenoles, pueden reducir la obesidad. En este contexto, se han sintetizado microencapsulados 'core-shell' de liberación controlada y sostenida, utilizando combinaciones de ácidos grasos tipo omega de origen vegetal y marino. Estos microencapsulados aportarán una mayor estabilidad al aceite frente a la oxidación.

En primer lugar, se ha optimizado el procedimiento de encapsulación de los aceites para proporcionar cambios o mejoras significativas en parámetros determinantes y cuantitativos del proceso, como son la eficacia de la encapsulación, la capacidad de carga del aceite o el rendimiento del mismo.

Posteriormente, en base a diferentes parámetros analíticos que definen la calidad de un aceite, se ha estudiado la estabilidad oxidativa de estos aceites microencapsulados en dos condiciones de almacenamiento: en cámara climática a 25 °C al 40 % de humedad durante 1 año y a 40 °C al 65 % de humedad durante 6 meses. Este estudio ha precisado la puesta a punto de diferentes metodologías analíticas, que permiten evaluar los cambios observados en función del tiempo de estos aceites microencapsulados y sus controles (aceite libre en formato sólido).

Los parámetros analíticos seleccionados para el estudio de la estabilidad oxidativa han sido: índice de acidez, índice de peróxidos, índice de p-anisidina, los porcentajes de ácidos grasos tipo omega, el contenido polifenólico, la capacidad antioxidante y la cuantificación de los aldehídos hexanal y propanal, considerados como indicadores de la oxidación. Para ello, se han empleado métodos químicos y técnicas analíticas como espectrofotometría UV-Vis, fluorimetría, cromatografía líquida de alta resolución con detección de fotodiodos y fluorescencia (HPLC/PDA-FL) y cromatografía gaseosa-espectrometría de masas (GC/MS).

M. De Spiegeleer et al, Mol. Med 27 (2021) 145., M. Mahboubif et al, J. Iran. Chem. Soc 13 (2016) 2291-2299., D. Eratte et al, J. Funct. Foods 23 (2016) 485-496



Evaluation of antioxidant properties of Carbon Dots obtained from wasted green coffee beans

Sandra Rodríguez Varillas, Alfonso Fernández González, Rosana Badía Laíño

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica, Av. Julián Clavería, 8, 33006 Oviedo, rodriguezvsandra@uniovi.es.

Carbon Dots are nano-sized carbon materials discovered in 2004 by professor Scribevens(1). Made of carbon in combination with other heteroatoms such as H, N and O present in their surface, they have attracted strong interest in different scientific areas due to their unique properties like low toxicity, high biocompatibility, high water solubility, strong antioxidant capacity and characteristic luminescent properties. These properties are related to the synthesis pathway, which essentially determines the size and the surface functionality.

Synthesis of Carbon Dots usually follows a bottom-up approach that includes methods such as solvothermal/hydrothermal decomposition and microwave-assisted pyrolysis. One of the most used techniques is hydrothermal treatment because of their simplicity and low cost. Following this route, precursors undergo four-stage process (dehydration, polymerization, carbonization and passivation) to generate nanomaterials(2).

Although carbon dots can be synthesized from a broad range of carbon sources, the use of natural products presents advantages over other non-natural sources, since they usually show higher biocompatibility and antioxidant properties. Furthermore, recycling of natural wastes or by-products results in the so-called 'green synthesis' and benefits the circular economy. Coffee beans contain a great number of antioxidant compounds naturally present in their structure, like chlorogenic acids, caffeine and polyphenols and, therefore, carbon dots obtained from this source are expected to show high antioxidant capabilities.

In the present work, we obtained different carbon dots from coffee beans and tested the antioxidant properties through the ABTS and DPPH colorimetric assays, commonly employed to determine the antioxidant character or the ability to neutralize free radicals like reactive oxygen species (ROS). In this sense, CDs could have prospective in pharmacologic applications to overcome oxidative stress and to prevent or treat pathologies associated with ROS like Alzheimer's disease, aging and even cancer(3).

The morphology, size, lattice spacing, optic properties and functional groups of the nanomaterials were characterized by different techniques. HR-TEM images reveal a graphitic-based material with a diameter below 10 nm and FTIR spectrum confirms the presence of surface functional groups. The UV-Vis absorption and excitation-emission fluorescence profiles are consistent with that expected for Carbon Dots. Their stability and spectroscopic characteristics were evaluated at different ionic strength or pH conditions, finding that fluorescence intensity decreases at very low and high pH values as result of protonation and deprotonation of the functional groups, respectively, while it remains constant at neutral conditions.

(1) X. Xu, R. Ray, Y. Gu, H. J. Ploehn, L. Gearheart, K. Raker, W. A. Scribevens, J. Am. Chem. Soc. 126 (2004) 12736-12737.

(2) P.-C. Hsu, H.-T. Chang, Chem. Commun. 48 (2012) 3984-3986.

(3) S. Galagari, A. Rahman, S. Pallichankandy, F. Thayyullathil, Free Radic. Bio. Med. 104 (2017) 144-164.



MODELO DE DIGESTIÓN IN VITRO PARA EVALUAR LA BIOACCESIBILIDAD DE LAS AFLATOXINAS B1, B2, G1 Y G2 PRESENTES EN ARROZ

Iván Romero Sánchez, Emma Gracia Lor, Yolanda Madrid Albarrán.

Universidad Complutense de Madrid, Ciencias Químicas, Química Analítica, Av. Complutense, s/n, 28040, Madrid, ivaromer@ucm.es

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por un amplio rango de hongos, principalmente de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. Estos hongos son ubicuos en el ambiente y pueden producir diferentes tipos de micotoxinas con un amplio rango de toxicidades, como las aflatoxinas, consideradas entre las más tóxicas por su fuerte implicación en el desarrollo de hepatocarcinomas, entre otras toxicidades. Las contaminaciones por aflatoxinas son muy comunes en los cultivos, especialmente en cereales como el arroz, que es un cereal básico en la dieta común en todo el mundo y suele ser susceptible de contaminarse por aflatoxinas [1]. Las toxicidades más frecuentes por aflatoxinas están relacionadas con la ingestión de alimentos contaminados de manera natural, y este hecho centra el interés en los procesos digestivos como el factor limitante para la incorporación de aflatoxinas al organismo [2]. Por esta razón, en este estudio se ha optimizado un modelo de digestión in vitro que se ha aplicado a muestras de arroz fortificadas para evaluar la bioaccesibilidad de las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2. Este modelo simula las principales condiciones fisicoquímicas y enzimáticas de los fluidos digestivos que se aplican durante la digestión in vivo de los alimentos [3]. Las muestras de arroz se fortificaron con las cuatro aflatoxinas y se sometieron a tratamientos de cocción a 100°C durante 15 min previamente a su digestión; a continuación, se sometieron a la acción secuencial de los fluidos salivar, gástrico y duodenal. Se obtuvieron valores de bioaccesibilidad en torno al 100% para todas las aflatoxinas, sin embargo, se estimó que los tratamientos térmicos de cocción del arroz redujeron la contaminación inicial entre un 81-100% para todas las aflatoxinas (en el caso de que el agua de cocción fuese eliminada) y entre un 40-55% (manteniendo el agua de cocción). Finalmente, los datos obtenidos en este estudio permiten concluir que la bioaccesibilidad de las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 a partir de arroz previamente cocido es total, mientras que los tratamientos térmicos por cocción pueden reducir significativamente la presencia inicial de las aflatoxinas en el arroz fortificado.

Agradecimientos:

Este trabajo ha sido financiado por la Comunidad de Madrid a través del Convenio Plurianual con la Universidad Complutense en su línea Programa de Estímulo a la Investigación de Jóvenes Doctores (Referencia PR65/19-22432) y a través del programa AVANSECAL-II CM (Referencia S2018/BAA-4393). I. Romero Sánchez agradece su contrato predoctoral a la Universidad Complutense de Madrid [CT63/19-CT64/19].

[1] S. Marchese, A. Polo, A. Ariano, S. Velotto, S. Costantini & L. Severino. *Toxins*. 2018, 10, 6., [2] C.A. González-Arias, S. Marín, V. Sanchis and A.J. Ramos. *World Mycotoxin Journal*. 2013, 6 (2), 167-184., [3] B. Gómez-Gómez, M.T. Pérez-Corona and Y. Madrid. *Analytica Chimica Acta*. 2020, 1100, 12-21.



Determination of biogenic amines and amino acids by liquid chromatography with pre-column derivatization. Application to the characterization of wine and cava by chemometric methods

Javier Saurina, Ainhoa Navarro-Abril, Aina Mir-Cerdà, Sònia Sentellas.

University of Barcelona, Faculty of Chemistry, Department of Chemical Engineering and Analytical Chemistry, calle Martí i Franquès, 1-11, 08028, Barcelona, xavi.saurina@ub.edu

Biogenic amines (BAs) are low molecular nitrogenous compounds present in different fermented foods, seafood and wines. They are biologically active molecules that participate in metabolic pathways of living beings, such as stabilization of blood, regulation of body temperature and improvement of neurotransmission. However, at high concentrations of BA, toxicological problems may appear in organisms, such as migraines and effects on the vascular or nervous system. The level of BA is an important parameter to evaluate the quality of wines since it can indicate a production under poor hygiene conditions. BAs are principally generated from the decarboxylation of their precursor amino acids (AAs) but can also be generated from transamination and reducing amination reactions [1,2].

The aim of this work is to characterize BAs and AAs in sparkling wines and related samples, including must, base wines, stabilized wines and 3-month and 7-month aged sparkling wines obtained from Pinot Noir and Xarel-lo grape varieties. The determination of BAs and AAs contents relies on C18 reversed-phase liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS/MS) and FIA-MS/MS with precolumn derivatization of analytes with dansyl chloride. Subsequently, chemometrics methods have been applied to study the behaviour and classification of the samples.

The results obtained by principal component analysis (PCA) and the partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) by HPLC-MS/MS and FIA-MS/MS show differences between quality of wine. Good qualities can be discriminated against bad qualities. However, must presents a different description and all their qualities show up all together in a group.

[1] A. Mir-Cerdà, A. Izquierdo-Llopart, J. Saurina, S. Sentellas. Oenological Processes and Product Qualities in the Elaboration of Sparkling Wines Determine the Biogenic Amine Content, *Fermentation* 7 (2021) 144., [2] Y. Liu, F. Han, Y. Liu, W. Wang. Determination of Biogenic Amines in Wine Using Modified Liquid-Liquid Extraction with High Performance Liquid Chromatography-Fluorescence Detector, *Food Anal. Methods* 13 (2020) 1-12.,



Puntos cuánticos de grafeno pasivados para la determinación y degradación de carbarilo presente en zumos de frutas

M. Laura Soriano Dotor, M.Laura Soriano, Andrés Jiménez-Sánchez, Soledad Cárdenas.

universidad de Córdoba, Facultad de ciencias, Departamento de Química Analítica, Anexo Edificio Marie Curie, Campus de Rabanales, Carretera Nacional IV Km. 396, Universidad de Córdoba, Córdoba, España, 14014, Córdoba, qa2sodom@uco.es

Este trabajo se enfoca en la preparación de cuatro tipos de puntos cuánticos de grafeno (GQDs) variando su tamaño y grupos superficiales a partir de grafeno de alta calidad como único precursor. Una de las nanoestructuras resultantes presentó una alta afinidad hacia el carbarilo, siendo capaz de detectar y cuantificar su contenido mediante cambios en la fluorescencia de GQDs. Además, se demostró como este tipo de nanoestructuras actuaba como catalizador degradando dicho plaguicida a su metabolito.

Se describe un método analítico basado en GQDs que actúan como sensibilizador y catalizador para la determinación de carbarilo en muestras de agua y zumos. El método analítico propuesto se basa en cambios de la señal de fluorescencia emitida por los GQDs cuando se encuentra en presencia del analito. Se logró una mayor sensibilidad después de 8 min de contacto, en el cual los GQDs promovían la degradación del carbarilo a naftol, siendo este último el responsable de la intensificación de la señal analítica. Los límites de detección y cuantificación obtenidos fueron de 0.36 y 1.21 $\mu\text{g/L}$, respectivamente. La recuperación del analito de muestras comerciales de zumo (91.4–96.7%) atestigua la aplicabilidad del método propuesto al análisis de zumos.

M.L. Soriano, A. Jiménez-Sánchez, S. Cárdenas, J Sep Sci 2021;1-10., ,



Allergenic Protein Analysis in Food by On-Line Aptamer Affinity Solid-Phase Extraction Capillary Electrophoresis-Mass Spectrometry

María Vergara^{1,2}, José Manuel Herrero-Martínez², Ernesto Simó-Alfonso², Fernando Benavente¹

¹Universidad de Barcelona, Departamento de Ingeniería Química y Química Analítica, 08028 Barcelona, maria.vergara@uv.es.

²Universidad de Valencia, Departamento de Química Analítica, 46100 Burjassot, Valencia.

In this study an on-line aptamer affinity solid-phase extraction capillary electrophoresis-mass spectrometry (AA-SPE-CE-MS) method is described for preconcentration, separation and characterization of allergenic food proteins at the intact protein level from diverse food matrices [1-2]. Specifically, concanavalin A (Con A) was selected as a case of study to evaluate the performance of AA-SPE-CE-MS. SPE microcartridges were prepared using a sorbent based on magnetic bead particles modified with an aptamer against Con A [3]. Different parameters of the AA-SPE-CE-MS method such as loading, elution, separation, and MS detection conditions were optimized. Under the selected conditions, Con A solutions were loaded during 5 minutes at 930 mbar (ca. 10 μ L) while the elution was carried out with a small plug (ca. 40 nL) of 100 mM ammonia solution (pH=11.2), and separation with a background electrolyte of 2 M acetic acid (pH=2.3). Limits of detection (LODs) for Con A by AA-SPE-CE-MS were 50 times lower than by CE-MS (0.5 vs 25 μ g·mL⁻¹). The AA-SPE-CE-MS method was linear between 0.5 and 20 μ g·mL⁻¹, repeatability of migration times and peak areas were good (2.8 and 16%, respectively) and the microcartridges could be reused more than 25 analyses with standards. Finally, the established method was also applied to the detection of trace levels of Con A in several food matrices, including jack and white beans, as well as chickpea and lentil flours.

[1] L. Pont, R. Pero-Gascon, E. Gimenez, V. Sanz-Nebot, F. Benavente, *Anal Chim. Acta* 1079 (2015) 1-19.

[2] R. Pero-Gascon, F. Benavente, Z. Minic, M.V. Berezovski, V. Sanz-Nebot, *Anal. Chem.* 92 (2019) 1525-1533.

[3] R. Ahirwar, P. Nahar, *J. Agric. Food Chem.* 63 (2015) 4104-4111.



Desarrollo de un nuevo método analítico para foodómica basado en microextracción en fase líquida con fibra hueca (HF-LPME) asistido por ultrasonidos: aplicación a leche materna

María del Carmen Villegas-Álvarez, Ana Arias-Borrego, Inés Velasco-López, Tamara García-Barrera.

Huelva, Facultad de Ciencias Experimentales, Departamento de Química, Avda. Fuerzas Armadas S/N, 21007, Huelva, mcarmen.villegas@dqcm.uhu.es

La etapa de tratamiento de muestras para el análisis metabólico de alimentos, suele ser una de las más complejas, ya que existen diferencias en las concentraciones y una gran diversidad estructural entre los metabolitos. A bajas concentraciones de metabolitos es posible que no se detecten sin preconcentración, mientras se requiere dilución del extracto para evitar la saturación de las señales por espectrometría de masas para analitos mayoritarios. En este trabajo se ha desarrollado un método analítico para la determinación del perfil metabólico en leche materna mediante microextracción en fase líquida con fibra hueca porosa en tres fases (HF-LLLME) [1], considerando las premisas anteriores y se compararon los resultados con los métodos basados en la extracción líquido-líquido (LLE) [2,3]. Inicialmente se desarrollaron dos configuraciones distintas para la fibra, en forma U y en barra. La fase donadora consistió en muestras de leche diluida en agua, con la membrana impregnada con disolvente apolar (n-dodecano) creando una película de impermeabilidad. Para la fase aceptora, se realizaron ensayos con disolventes polares, acetonitrilo y metanol. Los extractos se analizaron mediante cromatografía de gases con detector de masas (GC-MS) tras una etapa de derivatización. Tras la optimización de todos los parámetros operacionales se seleccionaron las siguientes condiciones de trabajo: disposición de la fibra en barra con extracción asistida por ultrasonido, a 25 °C, con un tiempo de extracción de 5 min, longitud de fibra 3 cm y metanol como fase aceptora. Se determinaron 2403 metabolitos con HF-LLLME frente a 2345 con LLE. Los cromatogramas obtenidos con el método propuesto (HF-LLLME) mostraron mejores resultados en resolución y eliminación de efecto matriz de la muestra. La sensibilidad también resultó mejor, obteniéndose límites de detección en el rango de 80-160 ng/g, mientras en el método LLE fueron de 4632-690 ng/g. Por otro lado, se consiguió eliminar la etapa previa de centrifugación para la eliminación de proteínas y otras sustancias interferentes habitual en LLE ya que la fibra no permite su paso a la fase aceptora. Por último, el método permitió extraer mayor variedad de clases de metabolitos como purines y derivados, que no fue posible extraer con el método LLE, así como una extracción más eficiente de ácidos orgánicos y derivados, como ácidos grasos y lípidos. Sin embargo, LLE resultó ser una técnica de extracción más eficiente para azúcares y derivados, por lo que las técnicas podrían tener cierta complementariedad.

[1] Tello, A. D. (2017). Desarrollo de métodos de análisis y control de subproductos de desinfección en aguas de abastecimiento público (Doctoral dissertation, Universidad de Huelva)., [2] Villaseñor, A., García-Perez, I., García, A., Posma, J. M., Fernández-López, M., Nicholas, A. J., Barbas, C. Anal. Chem. 86 (2014) 8245., [3] Ojo-okunola, A.; Cacciatore, S.; Nicol, M.P.; du Toit, E. Metabolites, 10 (2020) 77.



Aptamer-Functionalized Stir Bar Sorptive Extraction for Selective Isolation, Identification and Determination of Concanavalin A in Food by Mass Spectrometry

José Manuel Herrero-Martínez, María Vergara-Barberán, Mónica Catalá-Icardo, Ernesto Simó-Alfonso, Fernando Benavente.

Valencia, Química, Química Analítica, C/Dr. Moliner, 50, 46100, Burjassot, jmherrer@uv.es

Stir bar sorptive extraction (SBSE) has been successfully applied for microextraction of organic small molecules in complex samples due to its well-known merits (low solvent consumptions, high recoveries, large enrichment factor, good reproducibility, etc.). However, there are still several issues that seriously hindered further development, such as the limited selectivity and availability of commercial sorptive coatings. Additionally, this is aggravated when the extraction of large biomolecules (such as proteins) is required. Therefore, the exploration of novel coatings with high extraction efficiency and selectivity for these target analytes is of utmost interest. In this study, a novel aptamer-functionalized SBSE coating was developed for selective isolation of allergenic food proteins followed by a reliable identification and accurate determination by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry (MALDI-MS). Concretely, the allergenic protein concanavalin A (Con A) was selected as a case of study. For this purpose, the polytetrafluoroethylene (PTFE) surface of commercial magnetic stir bars were properly modified and vinylized via “thiol-ene” click chemistry in order to immobilize a thiol-modified aptamer against Con A [1-3]. Extraction efficiency of Con A was optimized by evaluating the effect of several parameters such as extraction and desorption time as well as extraction temperature or stirring speed. Under the selected conditions, Con A solutions were extracted and desorbed during 30 and 45 minutes, respectively; at 25 °C and 600 rpm. The SBSE method was linear between 1 and 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, being the limit of detection 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Finally, the method was applied to the analysis of trace levels of Con A in several food matrices (i.e. white beans as well as chickpea, lentils and wheat flours). Recoveries ranged from 70 to 108% with relative standard deviations (%RSD) below 6%. The developed aptamer-based stir bars were convenient to use, and presented good physical and chemical stability with a lifetime of 15 extraction cycles

Acknowledgements. This study was supported by grants RTI2018-095536-BI00 and RTI2018-097411-B-I00 funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033 and “ERDF A way of making Europe” (European Union). Support from the Cathedra UB Rector Francisco Buscarons Úbeda (Forensic Chemistry and Chemical Engineering) is also gratefully acknowledged. María Vergara-Barberán thanks the Generalitat Valenciana for a VALi + D postdoctoral research contract (ref. APOSTD/2020/213).

[1] Q. Chu, Y. Liu, S. Jiang, Y. Zhu, H. Lyu, Z. Xie, *Anal Chim Acta* 1146 (2021) 109-117., [2] S. Lin, N. Gan, J. Zhang, L. Qiao, Y. Chen, Y. Cao, *Talanta* 149 (2016) 266-274., [3] J.C. Nadal, M. Catalá-Icardo, F. Borrull, J.M. Herrero-Martínez, R.M. Marcé, N. Fontanals, *J Chromatogr A* 1663 (2022) 462748.



Efecto de la inflamación en la homeostasis de metales en un modelo celular de epitelio pigmentario de la retina

Ana Álvarez-Barrios, Lydia Álvarez, Rosario Pereiro, Héctor González-Iglesias.

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica, Av. Julián Clavería, 8, 33006, Oviedo, ana.alvarezbarrios1@gmail.com

La inflamación es la respuesta natural de las células a moléculas exógenas o dañadas, pero también se relaciona con el envejecimiento y múltiples enfermedades [1]. La inflamación está implicada en la progresión de la degeneración macular asociada a la edad (DMAE), una de las principales causas de ceguera irreversible en personas mayores de 60 años. La DMAE afecta al epitelio pigmentario de la retina (RPE) en la zona de la mácula, así como a los vasos sanguíneos adyacentes, lo que acaba provocando la degeneración de los fotorreceptores y la pérdida de la visión central [2]. La DMAE también afecta a la homeostasis de metales como el Zn, Cu y Fe, y a las metalotioneínas, lo que podría tener relación con la inflamación [3]. Las metalotioneínas son una familia de proteínas ricas en cisteína que unen Zn y Cu, y poseen actividad anti-inflamatoria. El empleo de modelos celulares in vitro puede contribuir a una mayor comprensión de la relación entre los procesos inflamatorios, los metales y las metalotioneínas, aunque se requieren tecnologías analíticas que permitan llevar a cabo análisis de modelos celulares con un número de células limitadas (<4·10⁵).

En este estudio, hemos optimizado sendas metodologías analíticas basadas en espectrometría de masas elemental (ICP-MS) para el análisis del metaloma de un modelo celular de RPE bajo condiciones de inflamación, con objeto de explorar la relación entre los procesos pro-inflamatorios y la homeostasis de metales. Se llevó a cabo la determinación multielemental de Zn, Cu y Fe en el citosol y membranas de las células de RPE mediante análisis por nebulización convencional y detección por ICP-MS, empleando un micronebulizador. Posteriormente, se cuantificaron los niveles de Zn y Cu unido a metalotioneínas mediante dilución isotópica (IDA) y detección por ICP-MS, previa separación cromatográfica empleando una columna de exclusión por tamaños. Ambas aproximaciones metodológicas aportaron información complementaria sobre la homeostasis de metales en células de RPE expuestas a condiciones de estrés inflamatorio.

Agradecimientos. Este trabajo fue financiado a través de los proyectos PID2019-107838RB-I00 de la Agencia Estatal de Investigación (AEI)/10.13039/501100011033) y la Cátedra Rafael del Pino, así como por la ayuda FPU concedida a Ana Álvarez-Barrios (Ref. FPU20/00608, Ministerio de Universidades).

1. C. Franceschi et al., Nat. Rev. Endocrinol. 14(10) 576-590, 2. A. Kauppinen et al. Cell. Mol. Life Sci. 73(9) 1765-1786, 3. R. Gilbert et al. Mol. Nutr. Food 63(15) 1-16



Estudio del perfil metabólico y la composición elemental de la leche materna humana en madres con deficiencia de yodo

Ana Arias-Borrego, José Luis Gómez-Ariza, Inés Velasco, Tamara García Barrera.

Sevilla y Huelva, Facultad de Química y Facultad de Ciencias Experimentales, Departamento de Química Analítica y Departamento de Química, Avda. Profesor García González S/N y Avda. Fuerzas Armadas S/N, 41012, Sevilla y Huelva, aarias1@us.es

La concentración adecuada de yodo en la leche materna humana (LMH) es esencial para proporcionar suficiente aporte de este elemento al lactante. La ingesta apropiada de yodo durante la infancia es importante para garantizar reservas óptimas de hormonas tiroideas y prevenir un posible desarrollo neurológico deficiente [1]. Existen estudios previos relacionados con el impacto de la deficiencia de yodo en el metabolismo señalando trastornos en el metabolismo basal de los adultos, como el metabolismo de los carbohidratos, el consumo de oxígeno y la síntesis de proteínas [2]. Sin embargo, a pesar de la importancia del aporte de yodo en lactantes, la influencia potencial de la deficiencia materna de yodo en la composición de LMH no se ha estudiado previamente.

En este trabajo se ha aplicado por primera vez, un enfoque metabólico no dirigido para evaluar el impacto de la deficiencia de yodo en el metaboloma de LMH. Además, se ha determinado la composición elemental de la LMH. Para ello, se determinaron las yodurias maternas y se caracterizó el metaboloma de LMH mediante una plataforma analítica combinada basada en cromatografía líquida de ultra-alta presión con espectrometría de masas cuadrupolo-tiempo de vuelo (UHPLC-QTOF-MS) y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). La composición elemental de LMH se determinó mediante plasma de acoplamiento inductivo con detector de triple cuadrupolo (ICP-QQQ).

Los resultados revelaron que la LMH de mujeres lactantes con deficiencia de yodo y niveles normales en orina podría distinguirse claramente en función de sus perfiles multielementales y metabólicos [3]. Por otro lado, se observó que 31 metabolitos con funciones biológicas importantes (e.g., glicerosfolípidos relacionados con el desarrollo neurológico) estaban alterados en la LMH de mujeres con deficiencia de yodo. Las principales vías metabólicas alteradas en LMH de mujeres con déficit de yodo fueron el metabolismo de los lípidos, el ciclo de los aminoácidos, el ciclo de los ácidos tricarbóxicos y la glucólisis. Además, se concluyó que la concentración de selenio, zinc y cobre era significativamente menor en LMH de mujeres con deficiencia de yodo. Estos resultados pueden ayudar a futuros estudios dirigidos a identificar posibles componentes bioactivos en la LMH que puedan mejorar los efectos en la salud.

[1] S. Grouffh-Jacobsen, L.M. Mosand, I. Oma, K.S. Bakken, *Nutrients* 12 (2020) 630, [2] Mullur, R., Liu, Y.-Y., & Brent, G. A, *Physiological Reviews*, 94 (2014) 355., [3] A. Arias-Borrego, I. Velasco, J.L. Gómez-Ariza, T. García-Barrera, *Food Chem.* 371 (2022) 131329



ANTIMYCOBACTERIAL EFFECT OF SELENIUM NANOPARTICLES ON MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

HÉCTOR ESTÉVEZ SÁNCHEZ, RAFAEL PRADOS ROSALES, JOSÉ LUIS LUQUE GARCÍA.

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID, CIENCIAS QUÍMICAS, QUÍMICA ANALÍTICA, AVENIDA COMPLUTENSE S/N, 28040, MADRID, hestevez@ucm.es

Tuberculosis (TB) is a chronic infectious disease that is transmitted aerielly through droplets expelled by an infected person. TB infection represents the leading cause of death from a single infection agent worldwide. Current treatments entail a 6-month regimen of four first-line drugs, still ineffective when facing multidrug-resistant TB strains. Therefore, there is a call for the development of non-antibiotic based therapies to enhance the effectivity of TB treatments.

Nanotechnology emerged as a reliable tool for biomedical purposes due to the novel properties of nanoparticles in comparison to bulk materials. They show unique optical and magnetic properties, and their small size provides a greater surface area-to-volume ratio.

There are many studies that have proven the efficiency of different nanoparticles to play bactericidal roles besides being drug delivery vehicles [1]. Nanoparticles impede normal bacterial growth in two lethal pathways: disrupting the membrane potential and integrity, or producing reactive oxygen species (ROS). Both pathways can occur simultaneously.

In this work, we focused on the potential of selenium nanoparticles (SeNPs) for inhibiting the growth of two types of mycobacteria: *Mycobacterium smegmatis* (Msm) and *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). Selenium is one of the most antioxidant elements, and has been proven to inhibit growth in different types of bacteria [2]. However, its potential antimycobacterial activity have never been tested in Mtb before.

We tested the effect of SeNPs exposure on Msm and Mtb, finding effective growth inhibition in a dose-dependent manner for both types of mycobacteria. In addition, the structural analysis of the treated mycobacteria carried out by electron microscopy, demonstrated that the cell envelope integrity was compromised in cells exposed to SeNPs [3].

The obtained results open a path for the design and development of SeNPs-based nanosystems that either alone or in a synergistic combination with antibiotics, can potentially led to the improvement of treatments against multi-drug resistant TB strains.

[1] Reshma, V. G., Syama, S., Sruthi, S., Reshma, S. C., Remya, N. S., & Mohanan, P. V. (2017). Engineered Nanoparticles with Antimicrobial Property. *Current drug metabolism*, 18(11), 1040-1054., [2] Huang, T., , Holden, J. A., , Heath, D. E., , O'Brien-Simpson, N. M., , & O'Connor, A. J., (2019). Engineering highly effective antimicrobial selenium nanoparticles through control of particle size. *Nanoscale*, 11(31), 14937-14951., [3] Estevez, H., Palacios, A., Gil, D., Anguita, J., Vallet-Regi, M., González, B., Prados-Rosales, R., & Luque-García, J. L. (2020). Antimycobacterial Effect of Selenium Nanoparticles on *Mycobacterium tuberculosis*. *Frontiers in microbiology*, 11, 800.



Determinación y localización de proteínas específicas en células individuales empleando nanoclústeres de iridio como marca elemental mediante ICP-MS: “single cell” versus ablación láser

Beatriz Fernández García, Paula Menero-Valdés, Ana Lores-Padín, C. Derrick Quarles Jr., Montserrat García, Héctor González-Iglesias, Rosario Pereiro.

Oviedo, Química, Química Física y Analítica, Avda. Julian Clavería, 8, 33006, Oviedo, fernandezbeatriz@uniovi.es

Es bien conocido que las poblaciones celulares de todos los sistemas biológicos se caracterizan por tener una naturaleza heterogénea. De este modo, un conocimiento exhaustivo de la población celular es crucial para entender los procesos biológicos, aunque las diferencias en las poblaciones pueden ser difíciles de dilucidar a menos que los sistemas biológicos se estudien célula a célula (i.e., análisis de células individuales).

En este trabajo se propone el empleo de la ablación láser (LA) ICP-MS y “single cell” (sc) ICP-MS como estrategias complementarias para la determinación y localización de proteínas en células individuales de cultivos in vitro. La técnica LA-ICP-MS ha demostrado un enorme potencial para determinar la distribución espacial de diferentes metales en células individuales. Aunque el imaging de proteínas celulares endógenas sigue siendo aún hoy en día un reto, estudios recientes han demostrado que es posible llevar a cabo la detección de proteínas mediante LA-ICP-MS. Para ello es necesario recurrir a una etapa previa de preparación de muestra en la que se realiza un inmunoensayo con las células utilizando una inmunosonda conjugada con una etiqueta elemental [1]. Por otro lado, la técnica sc-ICP-MS ha demostrado un gran potencial para la determinación cuantitativa de metales y proteínas en células individuales en diferentes cultivos celulares [2]. Por lo tanto, combinando sc-ICP-MS y LA-ICP-MS es posible determinar la concentración de proteínas en células individuales, así como obtener su distribución espacial a nivel celular.

La metodología propuesta para el estudio de proteínas específicas en células individuales está basada en el empleo de nanoclústeres de iridio (IrNCs) como marca elemental para la detección de APOE y Claudina en células individuales del epitelio pigmentario de la retina (ARPE-19) mediante sc-ICP-MS y LA-ICP-MS. En ambos casos se ha optimizado el protocolo de preparación de los cultivos celulares para la determinación secuencial de una proteína de membrana y una citosólica en células ARPE-19 empleando LA-ICP-MS (láser NWR193 equipado con una célula de ablación TwoVol2 e interfaz DCI) y sc-ICP-MS (sistema microFAST Single Cell. Los inmunoensayos con los IrNCs se han llevado a cabo con células fijadas en portaobjetos para LA-ICP-MS y suspensiones celulares para sc-ICP-MS, tanto con células control como sometidas a un tratamiento con glucosa (100 mM).

Agradecimientos. Este trabajo fue financiado a través de los proyectos PID2019-107838RB-I00 de la Agencia Estatal de Investigación (AEI)/10.13039/501100011033) y AYUD/2021/51289 - (Gobierno del Principado de Asturias, FICYT y Fondo Europeo de Desarrollo Regional).

A. Lores-Padín A, P. Menero-Valdés, B. Fernández, R. Pereiro. Anal. Chim. Acta. 1128 (2020) 251-268., M. Corte-Rodríguez, R. Alvarez-Fernandez, P. García-Cancela, M. Montes-Bayon, J. Bettmer, Trends Anal. Chem. 132 (2020) 116042.,



Detección de nanopartículas de cobre endógenas en esporas individuales de *Streptomyces coelicolor* y su efecto en el metabolismo secundario

Paula García Cancela, Nathaly González Quiñónez, Marío Corte Rodríguez, Jörg Bettmer, Ángel Manteca, María Montes Bayón.

Universidad de Oviedo, Facultad de Química de Oviedo, Departamento de Química Física y Analítica, Julián Clavería 8, 33006, Oviedo, garciapaula@uniovi.es

El cobre modula el metabolismo secundario en *Streptomyces* [1]. Sin embargo, la posible formación de nanopartículas de cobre endógenas y su relación con la producción de antibióticos nunca se ha establecido en *S. coelicolor*. En este trabajo, se desarrollaron y aplicaron herramientas analíticas de última generación para evaluar la incorporación de Cu en esporas individuales de *Streptomyces coelicolor* a diferentes concentraciones de exposición de Cu utilizando espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo de célula única (SC-ICP-MS). Los resultados cuantitativos revelaron la incorporación de este metal, que aumentaba significativamente a la mayor concentración de exposición ensayada (160 μM). El almacenamiento del Cu dentro de las esporas en forma de nanopartículas también se evaluó mediante una combinación de ICP-MS de partícula única (sp-ICP-MS) y microscopía electrónica de transmisión (TEM) [2]. Estas técnicas permitieron confirmar, por primera vez, la presencia de nanopartículas de Cu endógenas dentro de esporas de *S. coelicolor* que parecen modular el metabolismo secundario, aumentar la producción de actinorrodina y prevenir la toxicidad del Cu.

N. González-Quiñónez et al., *Sci Rep* 9 (2019) 4214., P. García Cancela et al., *Metallomics* 14 (2022) 3.,



Estudio del efecto protector del selenio nanoparticulado en la ferroptosis mediante ICP-MS

Paula García Cancela, Juliana Severo Fagundes Pereira, Roberto Alvarez Fernández-García, Jörg Bettmer, Maria Montes Bayón.

Universidad de Oviedo, Facultad de Química de Oviedo, Departamento de Química Física y Analítica, Julián Clavería 8, 33006, Oviedo, garciapaula@uniovi.es

En los últimos años, se ha propuesto una ruta de muerte celular no-apoptótica dependiente del hierro, denominada la ferroptosis, que juega un papel muy importante en gran variedad de enfermedades. El mecanismo de este tipo de muerte viene asociada a un aumento de la producción y acumulación de especies reactivas del oxígeno (ROS) a través de la reacción de Fenton. Una característica de la ferroptosis es la peroxidación lipídica dependiente del hierro, que puede ser inhibida por el regulador clave de la ferroptosis glutatión peroxidasa 4 (Gpx4), dependiente del Se, antioxidantes que atrapan radicales e inhibidores específicos de la ferroptosis, como ferrostatinas y liproxestatinas, así como la quelación del hierro [1, 2]. Algunos estudios recientes muestran que la suplementación farmacológica de selenio, incluso en ausencia de deficiencia nutricional, tiene una capacidad inesperada para impulsar la transcripción adaptativa a contrarrestar la ferroptosis (y otras tensiones) y proteger las neuronas específicamente.

Por tanto, en este trabajo se pretende estudiar el efecto protector del Se mediante tratamientos celulares con nanopartículas de Se (SeNPs) y extractos de levaduras ricas en este elemento (SELM-1) tras inducir la ferroptosis con erastina como molécula modelo. Con esta finalidad, se caracterizaron las SeNPs comerciales de tamaño medio de 20 nm así como un extracto de levadura selenizada enriquecida en Se (SELM-1) mediante diferentes técnicas como la espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo de partícula única (SP-ICP-MS) y la microscopía electrónica de transmisión (TEM). Además, se estudió la toxicidad tanto de éstas como de la erastina como inductor de la apoptosis en células Hep-G2 de cáncer hepático. Igualmente, se evaluaron los niveles de incorporación celular del Se procedente de las diferentes fuentes en las células hepáticas empleando para ello estrategias de "single cell" ICP-MS. Los resultados preliminares mostraron una incorporación más efectiva del Se desde el extracto de levadura que desde las nanopartículas sintéticas. Así mismo, se llevó a cabo la monitorización de la presencia de ROS y de la peroxidación lipídica en presencia de erastina y de erastina + Se para estudiar el efecto protector de este elemento.

I. Ingold et al., *Oncotarget* 9 (2018) 32., J. Li et al., *Cell Death & Disease* 11 (2020) 88.,



Seguimiento del titanio iónico y nanoparticulado liberado in vivo a partir de desechos de implantes dentales metálicos utilizando (single particle)-ICP-MS

Sara González Morales, Mario Corte-Rodríguez, Diogo Pompéu de Moraes, Jorge Toledano-Serrabona, M Ángeles Sánches Garcés, Jörg Bettmer, María Montes-Bayón.

Universidad de Oviedo, Facultad de Química de Oviedo, Departamento de Química Física y Análítica, Julián Clavería 8, 33006, Oviedo, España, 33006, Oviedo, g.morales.sara@gmail.com

Los implantes dentales, generalmente contruidos de aleaciones de titanio con aluminio y vanadio, son ampliamente utilizados como sustitutos de piezas dentales perdidas. Sin embargo, pueden aparecer diferentes tipos de complicaciones asociadas a ellos, y entre ellas, las infecciones bacterianas están entre las más comunes. Una de las técnicas más utilizadas para solucionar este problema es la implantoplastia, que consiste en la abrasión mecánica de la superficie del implante, generando por lo tanto una gran cantidad de partículas metálicas que se depositan en el tejido y no siempre se pueden eliminar. Por lo tanto, el estudio de la liberación y la posible traslocación de iones y (nano)partículas de estos metales en el organismo tiene un alto interés biomédico.

En este trabajo se estudia la presencia de iones metálicos y nanopartículas de Ti, Al y V procedentes de los desechos liberados durante la implantoplastia en diferentes órganos de ratas modelo. Para ello, se optimizó una estrategia de digestión por microondas utilizando insertos de micromuestreo para minimizar la dilución de la muestra durante el ataque ácido de los tejidos liofilizados. La presencia de un pequeño porcentaje de ácido fluorhídrico (0.006%) es necesaria para la recuperación cuantitativa del Ti iónico en las muestras analizadas mediante ICP-TQ-MS. De esta forma, se compararon los contenidos de estos metales en los diferentes órganos de ratas sometidas a un proceso simulado de implantoplastia con los de ratas control.

Para evaluar la posible presencia de nanopartículas de Ti en los tejidos, estos se sometieron a una digestión enzimática para liberar las posibles nanopartículas presentes en ellos. Los lisados fueron sometidos a análisis de microscopía electrónica y mediante single particle-ICP-MS, que permitieron caracterizar las nanopartículas de TiO₂ extraídas en comparación con las presentes de manera natural en los tejidos de las ratas control. Mediante esta estrategia combinada de análisis de su forma iónica, se ha podido tener un mayor conocimiento sobre la liberación y el transporte de los metales tras el proceso de implantoplastia.

W. Becker, P. Hujoel, B. E. Becker and P. Wöhrle, *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 2016, 18, 473-479., ,



Aplicaciones basadas en espectrometría de masas para el estudio de la homeostasis de metales en muestras biológicas de volumen limitado

Héctor González-Iglesias 1, Eva Valencia Agudo 2, Ana Álvarez-Barrios 2,3 , Lydia Álvarez 3, Lara Lobo 2, Beatriz Fernández 2, Rosario Pereiro 2.

CSIC, Instituto de Productos Lácteos, Tecnología y Biotecnología, Paseo Río Linares, 33300, Villaviciosa, hectorgi@ipla.csic.es

Afiliaciones:

1Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC), Villaviciosa, España.

2Departamento de Química Física y Analítica, Facultad de Química, Universidad de Oviedo, Oviedo, España.

3Fundación de Investigación Oftalmológica, Oviedo, España.

Resumen

Las enfermedades neurodegenerativas asociadas a la edad son un grupo de trastornos que comparten características y patrones moleculares comunes caracterizados por la acumulación anormal de proteínas, la degeneración neuronal selectiva y la muerte celular. Se ha identificado depósitos insolubles de proteínas oligomerizadas dentro del ojo relacionados con el inicio y la progresión de la degeneración macular asociada a la edad (DMAE). La dishomeostasis de metales contribuye a la producción de radicales libres, estrés oxidativo, inflamación y apoptosis y da como resultado cambios conformacionales de proteínas implicadas en la neurodegeneración. Por lo tanto, es posible que tenga lugar una alteración en la homeostasis de metales durante el desarrollo de la DMAE, tanto a nivel local (lágrima, tejidos oculares, células) como sistémico (sangre). La dificultad añadida que presenta el análisis de muestras con bajos niveles de concentración de metales y metaloproteínas, así como el volumen limitado de las mismas o su complejidad, requiere de metodologías analíticas innovadoras que sean rápidas, con bajos límites de detección y con capacidad de análisis multiplexado.

Con este objetivo, se han desarrollado estrategias analíticas basadas en espectrometría de masas elemental (ICP-MS) para el estudio de elementos esenciales y (metalo)-proteínas implicadas en enfermedades oculares neurodegenerativas, en muestras de lágrima, y tejidos oculares. En primer lugar, se llevó a cabo un análisis multiparamétrico y dirigido de muestras de fluido lacrimonal (10 μ L) de pacientes con DMAE y sujetos control, empleando ICP-MS y técnicas ELISA, observándose alteraciones significativas para Mg, Fe y Cu, lactoferrina, S100A6 y metalotioneínas. Posteriormente, se sintetizaron nanoclústeres de plata bioconjugados con anticuerpos para la obtención de bioimágenes de proteínas específicas, mediante ablación láser-ICP-MS, en muestras de tejido procedente de retinas humanas. Finalmente, se desarrolló una metodología FIA-ICP-MS para el análisis multielemental de metales en cultivos celulares de células de epitelio pigmentario de la retina, observándose una alteración de Zn durante su maduración. Todas estas aproximaciones, basadas en MS elemental, muestran el potencial de esta herramienta analítica para el análisis de micromuestras de diversa complejidad.

Agradecimientos. Este trabajo fue financiado a través de los proyectos PID2019-107838RB-I00 de la Agencia Estatal de Investigación (AEI)/10.13039/501100011033) y AYUD/2021/51289 - (Gobierno del Principado de Asturias, FICYT y Fondo Europeo de Desarrollo Regional). E. V. agradece la ayuda FPI BES-2017-080518.



Estudios in vivo e in vitro sobre la incorporación y toxicidad de nanopartículas de óxido de hierro ultrapequeñas

Lucía Gutiérrez Romero, Alonso Rodríguez Pescador, Elisa Blanco González, Luisa María Sierra Zapico, María Montes Bayón.

Universidad de Oviedo, Facultad de Químicas, Departamento de Química Física y Analítica, Avenida Julian Clavería s/n, 33006, Oviedo, UO245895@uniovi.es

El empleo de nanopartículas de óxido de hierro con fines terapéuticos ha sido un foco de interés en los últimos años debido a su uso en el tratamiento de la anemia (p.e. Venofer). Puesto que este tipo de tratamientos se suministran por vía intravenosa, y presentan diferentes tipos de efectos adversos, se han estado buscando alternativas que se puedan administrar por vía oral. Una de las opciones con la que trabajamos en nuestro grupo, se basa en el uso de nanopartículas de óxido de hierro (FeNPs), ultrapequeñas (<10 nm) y no magnéticas, con un núcleo de ferrihidrita, similar al de la ferritina, recubiertas con ligandos biocompatibles como los ácidos tartárico y adípico. Estas nanopartículas resultan interesantes debido a su baja solubilización en el tracto gastrointestinal, por lo que pueden ser absorbidas en forma nanoparticulada por los enterocitos del intestino, y pasar, posteriormente, al torrente circulatorio en forma de hierro soluble. Sin embargo, dicha solubilización puede provocar un aumento de su toxicidad en el organismo, debido a que la actividad redox del hierro puede generar especies reactivas de oxígeno (ROS), con el consiguiente daño oxidativo en proteínas, lípidos y ADN.

Por todo ello, en este trabajo se evaluó la toxicidad asociada al empleo de estas FeNPs como agentes terapéuticos. Para ello, se realizó un estudio sistemático tanto de su incorporación celular, como de su posterior solubilización, en distintos modelos celulares de diferente origen, empleando técnicas analíticas (HPLC-ICP-MS). Además, en todos los modelos se determinó la viabilidad celular tras la exposición a diferentes concentraciones de las FeNPs, así como la formación de ROS. La inducción de daño en el ADN, debido a la posible generación de ROS, se evaluó mediante el ensayo del Cometa. Finalmente, se determinó la posible genotoxicidad de estas FeNPs, in vivo en *Drosophila melanogaster*, utilizando el ensayo SMART, que detecta inducción de mutación somática y recombinación.



Expresión génica y análisis isotópico en un modelo celular in vitro para investigar el rol del Zn como elemento protector frente a eventos inflamatorios asociados a enfermedades oculares neurodegenerativas

Lara Lobo Revilla, Marta Aranaz, Ana Álvarez-Barrios, Marta Costas-Rodríguez, Marta Marina Latorre, Lydia Álvarez, Héctor González-Iglesias, Frank Vanhaecke, Rosario Pereiro

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica, Julián Clavería 8, 33012 Oviedo, lobolara@uniovi.es.

El epitelio pigmentario de la retina (EPR) es una monocapa de células pigmentadas dispuestas en la capa externa de la retina. Durante el envejecimiento, la retina está expuesta a procesos inflamatorios, lo que resulta en daño celular y la aparición de trastornos oculares, como la Degeneración macular asociada a la edad^{1,2}. Estos procesos van acompañados a su vez de alteraciones homeostáticas a nivel elemental y/o isotópico de metales cuya función es esencial para el correcto funcionamiento de la retina. Así, por ejemplo, el Zn juega un papel fundamental en los procesos de fototransducción y neurotransmisión, encontrándose asociado a metalotioneínas y transportadores de Zn en las células del EPR. El Zn, además, tiene función antioxidante y antiinflamatoria. Por todo ello, la deficiencia o el exceso de zinc puede desencadenar el desarrollo de trastornos oculares relacionados con el envejecimiento.

El uso de modelos celulares que asemejan el tejido humano resultan de gran utilidad para estudiar procesos biológicos y bioquímicos, de ahí que para poder evaluar el papel del Zn como elemento protector frente a alteraciones de tipo inflamatorio en este trabajo se haya optado por un modelo celular del EPR. Concretamente, y para un proceso inflamatorio inducido por interleucina, se han evaluado los efectos de dicho proceso inflamatorio tanto a nivel de expresión génica como a nivel de composición elemental e isotópica de Zn en células no suplementadas y suplementadas con Zn.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido posible gracias a la financiación recibida por el proyecto PID2019-107838RB-I00 de la Agencia Estatal de Investigación (AEI)/10.13039/501100011033). Así mismo, M.A. agradece a la Universidad de Oviedo la beca predoctoral PAPI-21-PF-05.



DETERMINACIÓN DE ELEMENTOS TRAZA EN VESÍCULAS EXTRACELULARES: EVALUACIÓN DE DIFERENTES SISTEMAS DE INTRODUCCIÓN DE MUESTRA EN EL ICP-MS PARA LA COMPARACIÓN DE CÉLULAS CONTROL CON CÉLULAS SOMETIDAS A ESTRÉS OXIDATIVO

**Jaime Martínez García, Ana Álvarez Barrios, Héctor González Iglesias, Beatriz
Fernández García, Rosario Pereiro García.**

Universidad de Oviedo, Química, Química Física y Analítica, Avenida Julián Clavería 8, 33006, Oviedo, martinezjaimegarcia@gmail.com

La degeneración macular asociada a la edad (DMAE) es una enfermedad ocular neurodegenerativa que se caracteriza por la degeneración progresiva de región macular de la retina y que puede provocar ceguera irreversible. Actualmente no se dispone de una terapia efectiva para la DMAE en su forma inicial y seca, lo que supone un problema de salud a nivel mundial. Se han desarrollado diferentes modelos celulares in vitro que permiten estudios a nivel celular y molecular de la DMAE, empleándose habitualmente células de epitelio pigmentario de la retina (EPR), por ser las primeras células afectadas. Recientemente, se ha observado que las células del EPR secretan vesículas extracelulares (EVs), cuya función puede ser crucial durante las primeras etapas de la DMAE. Se ha determinado que las EVs secretadas por células del EPR en modelos in vitro de DMAE, junto con la desregulación en el control homeostático de metales, contribuyen a la formación de agregados proteicos patogénicos, una de las principales características clínicas de la DMAE. En este contexto, el estudio de la posible implicación de las VEs en la dishomeostasis metálica y la degeneración de las células de EPR durante la DMAE es también de gran interés.

En este estudio se persiguió la determinación contenido de Fe, Cu y Zn en VEs secretadas en un modelo in vitro de células humanas de EPR inmortalizadas (HRPEsv40), empleando ICP-MS. Se han evaluado fracciones de medio de cultivo de los modelos in vitro donde las VEs se purificaron empleando centrifugación diferencial y precipitación con un kit comercial. El tamaño y la morfología de las VEs se determinó mediante microscopía electrónica de transmisión. Además, se confirmó la presencia de marcadores específicos de las VEs mediante Western Blot. Para la determinación de los elementos traza mediante ICP-MS, y teniendo en cuenta el pequeño volumen de muestra (menor de 100 microlitros), se evaluó el empleo de tres sistemas de introducción de muestra: un micronebulizador y dos sistemas de "single cell" (micronebulizador con cámara de nebulización de consumo total). Se evaluaron las prestaciones de los diferentes sistemas para el análisis de los metales de interés de las VEs en términos de precisión y límites de detección y se compararon los contenidos metálicos de VE obtenidos en células control y en células sometidas a un tratamiento de estrés oxidativo.

Agradecimientos. Este trabajo fue financiado a través de los proyectos PID2019-107838RB-I00 de la Agencia Estatal de Investigación (AEI)/10.13039/501100011033) y AYUD/2021/51289 - (Gobierno del Principado de Asturias, FICYT y Fondo Europeo de Desarrollo Regional).

..



Hacia la búsqueda de los patrones de calibración ideales para la cuantificación de proteínas específicas en células individuales con ablación láser acoplado a ICP-MS

Rosario Pereiro¹, Ana Lores-Padín¹, Montserrat García², Héctor González-Iglesias³, Beatriz Fernández¹

¹Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento Química Física y Analítica, Avda Julián Clavería, 8, 33006 Oviedo, mrpereiro@uniovi.es.

²Instituto Oftalmológico Fernández-Vega, Avda. Dres. Fernández-Vega, 34, 33012 Oviedo

³Instituto de Productos Lácteos de Asturias, CSIC, 3Departamento de Tecnología y Biotecnología de productos lácteos, Villaviciosa (Asturias).

La heterogeneidad a nivel celular es un hecho bien conocido que afecta al estudio de los procesos biológicos y en la actualidad se requieren nuevas herramientas analíticas que permitan la determinación de la variabilidad de la composición de elementos y biomoléculas entre diferentes células de un mismo cultivo. En particular, la ablación láser (LA) acoplada a ICP-MS se ha constituido como una alternativa complementaria prometedora a la nebulización líquida unicelular (sc)-ICP-MS para la caracterización cuantitativa de células individuales. Además, en ambos casos, no sólo se puede abordar el análisis elemental, sino también de biomoléculas específicas mediante la combinación del ICP-MS con estrategias adecuadas de etiquetado con metales [A]. De esta manera, se puede realizar el mapeo 2D de biomoléculas diana con resolución subcelular utilizando LA-ICP-MS.

Sin embargo, la persistente falta de patrones de referencia adecuados para la matriz celular dificulta a día de hoy el análisis cuantitativo de elementos y biomoléculas en células por LA-ICP-MS, debido a su particular matriz. En esta comunicación, proponemos una nueva estrategia de calibración empleando patrones con matriz idéntica a las células objeto de estudio, mediante el uso de la línea celular de la muestra para crear estándares de laboratorio.

Como caso modelo, se llevó a cabo la cuantificación secuencial de dos proteínas citosólicas (MT2A y APOE) en células humanas del epitelio pigmentario de la retina (HRPEsv) individuales, tanto en cultivos sometidos a inflamación con Interleucina-1 α como en células de un cultivo control. Para tal propósito, se emplearon nanoclústeres de Au (AuNCs) de composición bien conocida como etiquetas de anticuerpos específicos para el marcaje de las proteínas objeto de estudio. Los patrones de laboratorio se crearon suplementando a las células HRPEsv con suspensiones que contienen AuNCs desnudos. Para ello, se optimizó la preparación y caracterización de los patrones unicelulares de laboratorio (tanto por ICP-MS como por LA-ICP-MS), así como el protocolo de tratamiento de datos requerido para obtener la distribución cuantitativa de las proteínas en células individuales. A fin de corroborar los resultados cuantitativos obtenidos para la determinación de proteínas por LA-ICP-MS en células HRPEsv individuales, se llevaron a cabo análisis por sc-ICP-MS y kits ELISA comerciales.

AGRADECIMIENTOS. Este trabajo fue financiado a través de los proyectos PID2019-107838RB-I00 de la Agencia Estatal de Investigación (AEI)/10.13039/501100011033) y AYUD/2021/51289 (Gobierno del Principado de Asturias, FICYT y Fondo Europeo de Desarrollo Regional).

A. A. Lores-Padín A, P. Menero-Valdés, B. Fernández, R. Pereiro. Anal. Chim. Acta. 1128 (2020) 251-268



NANOCLÚSTERES DE PALADIO COMO MARCA ESPECÍFICA PARA LA DETERMINACIÓN BIMODAL DE GFAP EN FLUIDOS BIOLÓGICOS: DETECCIÓN ELECTROQUÍMICA Y POR ICP-MS

Rodríguez-Penedo Alejandro, Lores-Padín Ana, Fernández Beatriz, Costa-Rama Estefanía, Fernández-Abedul M. Teresa, Pereiro Rosario.

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Química-Física y analítica, Julián Clavería, 8, 33006, Oviedo, rodriguezpenedoalejandro@gmail.com

El Ictus es una de las causas de muerte más frecuentes en España; actualmente afecta a más de cien mil personas, de las que el 15% fallece y una gran parte de los supervivientes sufren secuelas permanentes. Para poder aplicar el tratamiento adecuado, es necesario determinar qué tipo de ictus está sufriendo el paciente, isquémico o hemorrágico. En la actualidad esta diferenciación clínica del tipo de ictus se realiza mediante tomografía axial computarizada, de manera que existe un elevado interés en el desarrollo de técnicas rápidas, sensibles y descentralizadas que permitan llevar a cabo esta diferenciación. La proteína GFAP ha sido identificada como un biomarcador que permite realizar este diagnóstico diferencial entre ictus isquémico y hemorrágico [1]. Dicha proteína podría determinarse mediante inmunoelectroanálisis, que combina la elevada selectividad de los inmunoensayos con la sensibilidad de las técnicas electroquímicas. Por otro lado, en los últimos años se ha avanzado notablemente en el desarrollo de inmunoensayos que emplean nanopartículas (NPs) metálicas como marcas elementales para determinar proteínas en muestras biológicas mediante detección por espectrometría de masas elemental (ICP-MS) [2]. Estas metodologías destacan por sus excelentes propiedades analíticas en términos de límites de detección y precisión.

En este trabajo se ha llevado a cabo la síntesis de nanoclústeres de paladio (PdNCs) para su uso como marca en la detección de GFAP en fluidos biológicos. Estos NCs tienen un diámetro inferior a 3 nm y son monodispersos, estables y bioconjugables, facilitando su empleo como marcas para su detección por ICP-MS con elevada sensibilidad. Además, se ha comprobado que los PdNCs poseen propiedades catalíticas sobre diversas reacciones electroquímicas, como la reacción de reducción del oxígeno (ORR) y la reacción de evolución de hidrógeno (HER) [3], por lo que pueden ser utilizados para una detección bimodal: con equipos sencillos electroquímicos in-situ o por ICP-MS cuando se requiera de elevada sensibilidad. Tras la caracterización de los PdNCs sintetizados, estos se evaluaron como marca en un inmunoensayo para la determinación de GFAP en muestras de suero y exudado nasal de pacientes afectados por ictus (isquémico y hemorrágico) frente a personas control mediante voltamperometría cíclica e ICP-MS. La validación de los resultados obtenidos se ha llevado a cabo empleando kits ELISA comerciales.

Agradecimientos. Este trabajo fue financiado a través de los proyectos PID2019-107838RB-I00 de la Agencia Estatal de Investigación (AEI)/10.13039/501100011033) y AYUD/2021/51289 - (Gobierno del Principado de Asturias, FICYT y Fondo Europeo de Desarrollo Regional).

[1] Bustamante, A., Penalba, A., Orset, C., Azurmendi, L., Llombart, V., Simats, A., Pecharroman, E., Ventura, O., Ribó, M., Viven, D., Sanchez, J.C. y Montaner, J. *Neurology*, 96(15) (2021): e1928-e1939., [2] Lores-Padín, A., Menero-Valdés, P., Fernández, B. y Pereiro, R. *Anal. Chim. Acta.* 1128 (2020): 251-268., [3] Zheng, F., Zhang, C., Gao, X., Du, C., Zhuang, Z. y Chen, W. *Electrochimica Acta*, 306, (2019) 627-634.



Caracterización de nanopartículas de CeO₂ mediante la técnica de single particle ICP-MS para aplicaciones biomédicas.

Andrés Suárez Priede, Mario Corte Rodríguez, Jörg Bettmer

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento Química Física y Analítica, C/ Julián Clavería, 8, 33006 Oviedo, suarezpandres@uniovi.es.

Las nanopartículas constituyen un material ya no tan novedoso cuyas propiedades han suscitado un incremento en el desarrollo de nuevas aplicaciones en diversos campos tales como el medioambiental, industrial o médico. Particularmente, las nanopartículas de óxido de cerio (CeO₂ NPs) despiertan en los últimos tiempos un gran interés en el ámbito de la biomedicina, debido a unas características fisicoquímicas que les otorgan la capacidad de mimetizar la actividad catalítica, en medio fisiológico, de enzimas relacionadas con el control y regulación del estrés oxidativo en organismos. De ello surgen potenciales propiedades antioxidantes, anticancerígenas y antibacterianas, entre otras [1]. Dicha actividad depende estrechamente de características estructurales como el tamaño de las NPs, por lo que una caracterización adecuada de estas se antoja indispensable como paso previo a cualquier estudio relacionado con el desarrollo de sus posibles aplicaciones biomédicas.

Son varias las técnicas analíticas empleadas en la literatura para la caracterización de nanopartículas. Entre ellas, el análisis de partículas individuales por ICP-MS (SP-ICP-MS) permite cuantificar las nanopartículas y obtener, además, información precisa sobre la masa y cálculo de su distribución de tamaños [2]. Su empleo, sin embargo, para NPs de CeO₂ solo ha sido descrito aún en pocas publicaciones [3]. En este trabajo se ha llevado a cabo un estudio sobre la aplicabilidad de esta técnica para este tipo concreto de nanopartículas mediante su optimización y validación, comparando los resultados finales con los obtenidos mediante análisis de imágenes obtenidas por microscopía TEM.

[1] N. Thakur, P. Manna, J. Das, J. Nanobiotechnology 17 (2019) 1-27

[2] F. Laborda, J. Jiménez-Lamana, E. Bolea, J. R. Castillo, J. Anal. At. Spectrom. 26 (2011) 1326-1371

[3] Y. Dan, X. Ma, W. Zhang, K. Liu, C. Stephan, H. Shi, Anal. Bioanal. Chem. 408 (2016) 5157-5167



VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF HYDROCHLOROTHIAZIDE AND CAFFEINE AS ANTHROPOGENIC IMPACT INDICATORS

Julio Bastos-Arrieta, Gemma Sagristà, Clara Pérez-Ràfols, Núria Serrano, José Manuel Díaz-Cruz.

Universitat de Barcelona, Faculty of Chemistry, Department of Chemical Engineering and Analytical Chemistry, Martí i Franquès 1-11, 08028, Barcelona, julio.bastos@ub.edu

Chemical contamination of surface waters continuously increases as human lifestyle improves and as hydric resources decrease because of global warming and climate change. In this context, the reuse of reclaimed water from wastewater treatment plants becomes a key process in water management. The reuse of reclaimed wastewaters for agricultural irrigation is a potential source of chemical contamination of food products, which also suffer from the abuse of pesticides and other chemicals in agriculture and from the excess of drugs given to farm animals. Hence, it is not surprising to find a wide spectrum of chemical contaminants in natural waters, wastewaters and food samples. However, these so-called emerging contaminants (ECs) have appeared recently and still require extensive studies to evaluate their consumption, fate, absorption rate by organisms, and toxicity to develop safe and effective regulations.

One clear example of ECs are pharmaceutical residues, especially important due to the fast increase in consumption of stimulants and pharmaceutical products by both humans and farm animals. These contaminants are determined by means of powerful yet expensive analytical techniques, especially liquid chromatography coupled to mass spectrometry. Nevertheless, additional methodologies are necessary for the screening and monitoring of the considered substances in natural waters, wastewaters and food products with lower cost, simpler and faster operation, ready for on-site analysis and able to inform quantitatively and accurately about the presence of chemical species of interest.

This communication presents the development of a voltammetric method based on a screen-printed carbon electrode (SPCE) for the simultaneous determination of two ECs considered as anthropogenic impact indicators: hydrochlorothiazide (diuretic) and caffeine (stimulant). The optimized experimental conditions ensured the appropriate identification and quantification of the target analytes with suitable analytical performance, including determination in both water samples and biological fluids.

D.G. Bua, G. Annuario, A. Albergamo, N. Cicero, G. Dugo G. Food Addit. Contam. Part B. 2016, 9, 210-216., R. Tomšič, D. Heath, E. Heath, J. Markelj, A. Kandolf, H. Prosen. Molecules. 2020, 25, 5870., R. Sivaranejane, P. Senthil Kumar, R. Saravanan, M. Govarthan. Chemosphere 2022 294, 133779



Estudio voltamperométrico de tiramina en presencia de tirosina y triptófano

Nielene María Mora Diez, Mónica Palomino-Vasco, María Isabel Rodríguez-Cáceres, Mirta R. Alcaraz, Héctor C. Goicoechea.

Universidad de Extremadura, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, Avda. Elvas S/N, 6006, Badajoz, nielene@unex.es

Las aminas biógenas son compuestos nitrogenados generados por la descarboxilación enzimática de los aminoácidos [1,2] que se emplean como indicador de calidad de los alimentos y que, en grandes concentraciones, pueden ser tóxicos para la salud [1,3]. En cuanto a las técnicas analíticas que se emplean para su determinación, destaca la cromatografía líquida. La voltamperometría ha sido escasamente empleada.

En este trabajo se presenta el estudio voltamperométrico de una mezcla de tres analitos, para tratar de determinar uno de ellos en presencia de los otros dos como interferentes. Ellos son, la amina biógena tiramina, su aminoácido precursor (tirosina) y otro aminoácido (triptófano) precursor de otra amina biógena (triptamina).

Se utilizó la Voltamperometría Diferencial de Pulso, empleando como electrodo de trabajo uno de carbono vitrificado, en el rango de 0.2 a 0.9 V. Para la obtención de los datos de segundo orden se creó una matriz modificando la concentración de los analitos (cinco niveles de concentración) y el pH del medio (rango de 4 a 9). Como muestras reales se analizaron muestras de vino que se trataron con PVPP (polivinilpirrolidona) para eliminar los polifenoles.

Una vez obtenidos los datos, se realizó un tratamiento matemático de los mismos, empleando un método de segundo orden (MCR-ALS). En el preprocesamiento de los datos se hizo corrección de la línea base.

Agradecimientos:

Los autores agradecen la financiación de este trabajo al Proyecto PID2020-112996GBI00 (Agencia Estatal de Investigación) y al IB20016 (Consejería de Economía, Ciencia y Agenda Digital - Junta de Extremadura), ambos proyectos cofinanciados por los Fondos Europeos FEDER; y a la ayuda al Grupo de Investigación ANAYCO GR21048 (Junta de Extremadura).

[1] J. Lange, C. Wittmann, Anal. Bioanal. Chem, 372 (2002) 276., [2] J. L. Ordoñez, R. M. Callejón, A. M. Troncoso, M.C. García-Parrilla, J. Comp. Anal. 63 (2017) 139., [3] N. García-Villar, J. Saurina, S. Hernández-Cassou, Anal. Chim. Acta 575 (2006) 97.



Innovative electroanalytical determination of SARS-CoV-2 and Streptococcus pneumoniae using Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP)

Pablo Rioboó Legaspi, Andrea González-López, José Francisco Beltrán Sánchez, María del Mar García Suárez, M. Dolores Cima Cabal, Antonio Javier García Sánchez, Toribio Fernández Otero, Joan Garcia-Haro, Estefanía Costa-Rama, M. Teresa Fernández Abedul.

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Química Física y Analítica, C/ Julio N42 5A, 33209, Gijón, pablorigoo95@gmail.com

In the context of the current COVID-19 pandemic, the need for rapid and cost-effective diagnostic tests, as well as massive population screenings has been revealed. Another key, and highly topical, infection is community-acquired pneumonia, a major cause of worldwide morbidity and mortality, being *Streptococcus pneumoniae* the main source of such infections. As coinfection of both *S. pneumoniae* and SARS-CoV-2 might occur, the development of procedures for detection of these two types of pathogens is essential.

The current gold standard for pathogen detection is quantitative polymerase chain reaction (qPCR). Nevertheless, qPCR requires centralized and expensive equipment, hampering easy on-site detection. To overcome time and equipment limitations, isothermal amplification procedures are available, such as loop-mediated isothermal amplification (LAMP, or RT-LAMP if RNA should be amplified). LAMP commonly relies on the presence of a colorimetric indicator, where positive and negative samples can be distinguished by the naked eye. However, simple, non-expensive, sensitive and robust methodologies are still required for quantitative point-of-care analysis.

In this work we have developed a simple, fast, and precise *S. pneumoniae* and SARS-CoV-2 detection using (RT)-LAMP and electrochemical determination using phenol red (PR), a visual indicator commonly used in LAMPs, as an electrochemical probe. As amplification progresses, pH drops and PR provides visual and, for the first time, also electrochemical detection. This procedure can be easily conducted on a portable device. For this purpose, a portable heater able of performing (RT)-LAMP outside of specialized facilities has also been developed.

This work has been supported by the projects LIFE of the Fondo Supera COVID-19 from Banco de Santander, CRUE and CSIC, and PID2020-118376RA-I00 funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033.

..



GLUCOSE ELECTROCHEMICAL BIOSENSOR BASED ON COPPER NANOFLOWERS

Concepción Rodríguez Oñate, Alfonso Salinas Castillos, Ignacio de Orbe Payá, Luis Fermín Capitán Vallvey

Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, Avenida de Fuentenueva, 18071 Granada, conro@correo.ugr.es.

The determination of glucose is of vital interest in the clinical setting due to its direct relationship with the diabetes mellitus disease. This measurement has traditionally been performed with electrochemical biosensors and despite the emergence of alternatives such as the use of biosensors with optical transducers, we continue to find devices for this analysis that employ electrochemical techniques. In this work, we present the development of a glucose biosensor based on hybrid copper nanoflowers from screen-printed electrodes.

The hybrid nanoflowers are presented as a nanomaterial that is formed by an organic component, such as an enzyme or a protein, and an inorganic component such as a metallic salt. These flower-like nanoparticles allow the immobilization of enzymes and increase their catalytic activity. In our case, the nanoflowers obtained have been synthesized from glucose oxidase, asparagine and copper sulphate in phosphate buffer. In this way, it is achieved the immobilization of the enzyme on the nanomaterial due to the interaction between the nitrogen atoms of the amino acids of the enzyme and the copper phosphate crystals [1].

Screen-printed electrodes are a method of obtaining miniaturized devices of analytical interest and have a wide range of advantages. These devices are easily modifiable, thereby increasing their selectivity for the desired procedure [2]. For the development of the glucose biosensor, screen-printed electrodes have been designed and prepared in the laboratory and subsequently modified with the synthesized hybrid copper nanoflowers. The results obtained show the development of a second-generation enzymatic amperometric glucose biosensor based on hybrid copper nanoflowers with potential applications in the clinical field.

[1] J. Zhu, M. Wen, W. Wen, D. Du, X. Zhang, S. Wang, Y. Lin. Biosensors and Bioelectronics. Recent Progress in Biosensors Based on Organic-Inorganic Hybrid Nanoflowers. 2018, 120, 175-187.

[2] M. Ariza-Avidad, A. Salinas-Castillo, L.F. Capitán-Vallvey. Biosensors and Bioelectronics. A 3D μ PAD based on a multi-enzyme organic-inorganic hybrid nanoflowerreactor. 2016, 77, 51-55.



Elucidation of the biomolecular mechanisms associated to the anti-tumoral effect of silver and selenium based nanosystems by untargeted metabolomics

Roberto Álvarez-Fernández García, Guillermo Aragonese Cazorla, Jose Luis Luque García

Universidad de Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Avenida Complutense s/n, 28040 Madrid, robalvar@ucm.es.

One of the main challenges in the fight against cancer is still the development of new therapies that minimize side effects, acquired resistance and administered doses. In this sense, nanotechnology emerges as a promising alternative providing a great variety of nanomaterials with unique properties. Among the different nanomaterials proposed in the past few years, selenium [1] (SeNPs) and silver nanoparticles [2] (AgNPs) have demonstrated a good antitumor capacity, being also possible their vehiculization through hybrid nanosystems based on mesoporous silica nanoparticles (MSNs) using transferrin (Tf) as a targeting ligand [3]. Nevertheless, one key aspect when using these nanosystems as anticancer agents is the understanding of the biomolecular mechanisms involved in their therapeutic effect. The functional levels of a biological system include the genome/transcriptome, proteome and metabolome, the latter being the final downstream product in the flow of gene expression and thus, the most representative of the phenotype.

Metabolomics arises with the aim of studying the complete set of metabolites in a biological system in the so-called untargeted approach. In this work, an untargeted metabolomics approach based on a reversed-phase liquid chromatography separation with high resolution mass spectrometry detection (LC-ESI-Q-TOF-MS) was developed and applied to compare the different levels of metabolites between control and cancer cells treated with two different nanosystems: Ag@MSNs-Tf and MSNs-Tf-SeNPs. The significantly altered metabolites were annotated by matching against spectral libraries using accurate mass, MS² spectra and isotopic pattern. The results obtained highlighted several altered metabolic pathways providing a deep insight into the mechanisms of action of the proposed nanosystems and confirming their vast potential as an alternative to conventional therapies.

[1] H. Estevez, E. García-Calvo, J. Rivera-Torres, M. Vallet-Regí, B. González, J.L. Luque-García, *Pharmaceutics*, 13 (2021) 1-20.

[2] S. Montalvo-Quirós, G. Aragonese-Cazorla, L. García-Alcalde, M. Vallet-Regí, B. González, J.L. Luque-García, *Nanoscale*, 11 (2019) 4531-4545

[3] G. Aragonese-Cazorla, J. Serrano-López, I. Martínez-Alfonso, M. Vallet-Regí, B. González, J.L. Luque-García, *Inorg. Chem. Front.*, 8 (2021) 2697-2712



A novel multifunctional nanosystem as potential chemotherapeutic agent against cancer: design, synthesis and bio-analytical characterization

Guillermo Aragonese-Cazorla, María Vallet-Regí, M^a Milagros Gómez-Gómez, Blanca González, José L. Luque-García.

Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Avenida Complutense s/n, 28040, Madrid, guiarago@ucm.es

One of the main drawbacks of the drug-based cancer therapy is the lack of selectivity of the administered compounds. Consequently, these chemotherapeutic agents are distributed in an unspecific way through the whole body, leading to undesired side effects. In this sense, the use of mesoporous silica nanoparticles (MSNs) allows to solve this problematic due to the possibility of functionalizing its external surface with different moieties for selectively targeting tumoral cells. Moreover, their high surface area and pore volume enables them to be used as efficient drug delivery systems [1]. On the other hand, in the last years, the use of silver nanoparticles (AgNPs) as antitumoral agents has increased since these species are proven to display cytotoxic properties [2]. Nevertheless, the use of these agents is limited due to their tendency to aggregate and to their potential high cytotoxicity in healthy cells.

In the present communication, we report a novel hybrid nanosystem based on a silver core coated by a mesoporous silica shell onto which transferrin (Tf) (Ag@MSNs-Tf) has been anchored as a vectorization ligand, thus allowing the selective targeting towards cancer cells [3]. The design and synthesis of this novel core@shell nanosystem will be described. In addition, a deep bioanalytical characterization of this novel nanosystem will be addressed, including the evaluation of its cytotoxic potential, its capacity to induce apoptosis in tumoral cells, as well as its selective internalization in cells with different levels of expression of transferrin receptors. In addition, with the aim of elucidating the main biomolecular mechanisms by which this nanosystem induces its antitumoral effect, we will discuss the most relevant results obtained after combining different omics approaches. Finally, we will comment on the enhanced effect of the hybrid nanosystem when tamoxifen is loaded into the pores of the mesoporous silica shell (Ag@MSNs-TMX-Tf), which shows a vast potential in the treatment of breast cancer with positive estrogen receptors.

[1] M. Manzano, M. Vallet-Regí, Mesoporous silica nanoparticles for drug delivery, *Advanced Functional Materials* 2020, 30, 1902634., [2] C. Ong, J.Z.Z. Lim, J.J. Li, L.-Y. Yung, B.-H. Bay, Silver nanoparticles in cancer: therapeutic efficacy and toxicity, *Current Medicinal Chemistry* 2013, 20, 772-781., [3] G. Aragonese-Cazorla, J. Serrano-Lopez, I. Martinez-Alfonzo, M. Vallet-Regí, B. González, J.L. Luque-García, A novel hematocompatible core@shell nanosystem for selective targeting and apoptosis induction in cancer cells, *Inorganic Chemistry Frontiers* 2021, 8, 2697-2712.



APPLICATION OF SPECTROELECTROCHEMICAL MEASUREMENTS IN REFLECTION CELL TO QUANTITATIVE ANALYSIS: STUDY OF THE Fe(II)/Fe(III) - 1,10-PHENANTHROLINE SYSTEM

Julio Bastos-Arrieta, G. Sirin Ustabasi, Clara Pérez-Ràfols, Núria Serrano, José Manuel Díaz-Cruz.

Universitat de Barcelona, Faculty of Chemistry, Department of Chemical Engineering and Analytical Chemistry, Martí i Franquès 1-11, 08028, Barcelona, julio.bastos@ub.edu

Spectroelectrochemistry (SEC) is a hybrid technique arising from the combination of simultaneous electrochemical and spectroscopic measurements focused on substances electrochemically and optically active. Since its introduction in 1964, SEC has been mainly used in the study of mechanisms of electrochemical reactions and for the characterisation of materials, but scarcely for quantitative analysis. Among the different spectral ranges used, UV/vis and NIR are the most popular and, depending on the instrumental configuration, absorption, reflectance, fluorescence or Raman spectra can be acquired.

For many years, SEC measurements were restricted to optically transparent electrodes, but the use of thin-layer long-pathway spectroelectrochemical cells and some reflection setups allowed the use of non-transparent electrodes. Recently, the increasing use of commercial screen-printed electrodes (SPE) has provided a valuable tool to reinforce the possibilities of SEC for analytical purposes. In this context, the pioneering work of the group of Heras, Colina and López-Palacios is remarkable. They designed a device to carry out reflection SEC measurements in the UV/vis region using SPE units which is the precursor of the commercial reflection equipment used in the present study.

In this work we have investigated the suitability of SEC in reflection mode for quantitative analysis using commercial carbon screen-printed electrodes (SPCE). For this purpose, we have chosen the Fe(II)/Fe(III) system in the presence of 1,10-phenanthroline as a model. This is a well-known ligand used for the spectrophotometric determination of Fe(II) in the visible region, since a strongly coloured complex is formed with high stability constants. Concerning to Fe(III), it also forms complexes with 1,10-phenanthroline, but with lower stability and much lower absorptivity. These features are very promising for the SEC analysis of Fe(III)-ion in the presence of the mentioned ligand, since its progressive reduction to Fe(II) generates a strongly coloured complex that can be optically detected. Different possibilities of quantification are discussed, including cathodic and anodic peaks in cyclic voltammetry and both electrochemical and optical signals acquired in chronoamperometric experiments. Among these, the evolution of absorbance with the square root of time at a constant potential has shown interesting possibilities for the determination of Fe(III)-ion at micromolar level.

W. Kaim, J. Fiedler, Chem. Soc. Rev. 38 (2009) 3373., N. González-Diéguez, A. Colina, J. López-Palacios, A. Heras, Anal. Chem. 84 (2012) 9146., J. Garoz-Ruiz, J.V. Perales-Rondon, A. Heras, A. Colina, Electroanalysis, 31 (2019) 1254.



Determinación de riboflavina producida por bacterias lácticas mediante análisis de imagen digital

Irati Berasarte, Ane Bordagaray, M^a Teresa Dueñas, Rosa García-Arrona, Miren Ostra, Maider Vidal.

Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Facultad de Química, Química Aplicada, Paseo Manuel Lardizabal 3, 20018, Donostia/San Sebastian, irati.berasarte@ehu.eus

Las bacterias del ácido láctico (BAL), comúnmente conocidas como bacterias lácticas, han sido ampliamente utilizadas como cultivos iniciadores de la fermentación en una gran variedad de alimentos, ya que pueden mejorar la calidad y el valor nutricional de los productos fermentados. Entre todas las bacterias lácticas, existen ciertas cepas capaces de sintetizar vitaminas del grupo B, entre ellos la riboflavina. La riboflavina, o vitamina B2, es precursora de dos coenzimas responsables del transporte de electrones en ciertas reacciones redox, por lo que es esencial tomar la cantidad adecuada mediante la dieta. Diferentes cepas han sido aisladas y se ha demostrado su capacidad de fortificar alimentos como leche, suero o cereales.

Una de las características de la riboflavina es su fluorescencia, pues pertenece al grupo de pigmentos amarillos fluorescentes llamados flavinas. La fluorescencia, más allá de la clásica espectrofluorimetría, se puede registrar y cuantificar mediante análisis de imagen digital. Uno de los mayores avances de los últimos años ha sido la adaptación de móviles inteligentes (smartphones) como sistemas de detección y medida que ofrezcan información cuantificable. La determinación de diferentes analitos como quinina, calceína y riboflavina mediante análisis de imagen ha sido realizada con éxito.

Debido a la importancia de conocer la concentración de riboflavina producida por las bacterias lácticas y teniendo en cuenta el tiempo, cantidad de muestra y coste que suponen los métodos tradicionales como espectrofluorimetría o HPLC, se propone un método basado en análisis de imagen digital que permitirá determinar dicha vitamina de una forma rápida y cómoda en el propio medio de crecimiento. Para ello, primero se ha creado una caja negra, ya que la riboflavina es fotosensible, y, además, para evitar posibles interferencias de la luz en la toma de imágenes. Como fuente de excitación se ha utilizado una lámpara ultravioleta que irradia la luz desde arriba, para así tomar las imágenes desde el lado, a 90 grados. Las mediciones se han realizado tanto en cubeta de fluorescencia como en microplacas de pocillos y se han preparado los patrones y las muestras en el medio de crecimiento propio de las bacterias productoras de riboflavina. Tras obtener las imágenes con el teléfono móvil, se han analizado utilizando el software Matlab®, para así extraer los valores RGB y construir la curva de calibración. Por último, el método ha sido validado utilizando diferentes cepas de bacterias lácticas.

R. Levit, G. Savoy de Giori, A. de Moreno de Le Blanc, J.G. Le Blanc, J. Appl. Microbiol. (2021) 130, 1412-1424, M. Granica, L. Tymecki, Talanta (2019) 197, 319-325,



Determinación de anticuerpos en conjugados anticuerpo-fármaco mediante HPLC MS/MS para su uso en ensayos clínicos como terapia antitumoral.

Lidia Blasco Corchado, Eider Alcaraz, Nicholas King, Rosa M. Alonso, Nerea Leal.

Universidad País Vasco, Ciencia y tecnología, Química analítica, Barrio Sarriena, s/n, 48940, Leioa, lblasco02@gmail.com

El cáncer representa uno de los principales problemas de salud pública a escala mundial, siendo los tumores metastásicos los que presentan un mayor índice de mortalidad. Los avances en el diagnóstico precoz y en el tratamiento de tumores en estadios tempranos han contribuido a reducir su mortalidad.

Uno de los nuevos tratamientos utilizados en la terapia contra el cáncer son los conjugados anticuerpo-fármaco (ADC), en los que se une un anticuerpo monoclonal a una molécula antitumoral pequeña por medio de un conector. De esta manera, el anticuerpo identifica específicamente las células tumorales por su antígeno, que son internalizados de forma que liberan en el interior la molécula antitumoral.

La cuantificación de los conjugados anticuerpo-fármaco supone un gran reto ya que el analito es una molécula conjugada que está formada por el anticuerpo, una molécula con actividad antitumoral y un conector que las une, y deben ser analizados individualmente. Para ello se han seleccionado dos técnicas bioanalíticas, la cromatografía líquida unida a espectrometría de masas (HPLC MS/MS) y los inmunoensayos (ELISA).

En este trabajo se ha desarrollado un método analítico que permite la cuantificación del anticuerpo total presente en muestras biológicas de plasma. Para ello, se han optimizado el procedimiento de tratamiento de muestra y el sistema de cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem (HPLC-MS/MS).

El procedimiento de tratamiento de muestra consistió en la digestión con Tripsina durante 2 h a 70 °C con una agitación de 1200 rpm, para la obtención del péptido característico de los anticuerpos empleados y posteriormente una extracción en fase sólida (SPE), utilizando 1% FA en ACN:H₂O (50:50) como eluyente. Para la separación cromatográfica, se seleccionó la columna Kinetex XB-C18, con un flujo de 0,5 mL/min, un volumen de inyección de 10 µL, una temperatura de 50°C y una fase móvil 0,2% de ácido fórmico en H₂O: 0,2% de ácido fórmico en ACN en modo de elución en gradiente. Se empleó en espectrometría de masas la fuente de ionización electrospray (ESI) en modo positivo, con una temperatura del gas de 200 °C y 3000 V para el ion spray. La transición seleccionada para el analito fue de 598,8 \rightarrow 818,6 y para el estándar interno 602,2 \rightarrow 823,5; con una energía de colisión de 15V.

Una vez validado el método analítico optimizado será aplicado a estudios farmacocinéticos de conjugados anticuerpo-fármaco utilizados en tratamientos antitumorales.



Combining transcriptomic and metabolomic approaches to evaluate the toxicity mechanisms associated to Ag nanoparticles exposure

M. Pilar Buendía-Nacarino, Guillermo Aragonese-Cazorla, Maria L. Mena, and Jose L. Luque-Garcia.

Complutense de Madrid, Ciencias Químicas, Química Analítica, Av. Complutense, s/n, 28040, Madrid, mabuen01@ucm.es

Silver nanoparticles (AgNPs) are currently used in many different industrial, commercial and health fields, mainly due to their antibacterial properties [1-3]. Due to this widespread use, humans and the environment are increasingly exposed to this type of nanoparticles, which is the reason why the evaluation of the potential toxicity associated to AgNPs is of great importance. Although some of the toxic effects induced by AgNPs have already been shown, the elucidation of more complete mechanisms, is yet to be achieved. In this sense, and since the integration of metabolomics and transcriptomics approaches constitutes a very useful strategy, in the present study targeted and untargeted metabolomics and DNA microarrays assays have been combined to evaluate the molecular mechanisms involved in the toxicity induced by 10 nm AgNPs. The results have shown that AgNPs induce the synthesis of glutathione as a cellular defense mechanism to face the oxidative environment, while inducing the depletion of relevant molecules implicated in the synthesis of important antioxidants. In addition, it has been observed that AgNPs completely impair the intracellular energetic metabolism, especially affecting the production of adenosine triphosphate (ATP), and disrupting the tricarboxylic acids cycle. It has been demonstrated that AgNPs exposure also affects the glycolysis pathway. The effect on such pathway differs depending on the step of the cycle, with a significant increase in the levels of glucose as way to counterbalance the depleted levels of ATP.

[1] X. F. Zhang, Z. G. Liu, W. Shen, S. Gurunathan "S. Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches". Int. J. Mol. Sci. Vol. 17 (2016) 1534-1567., [2] S. H. Lee, B. H. Jun, " Silver Nanoparticles: Synthesis and Application for Nanomedicine". Int. J. Mol. Sci. Vol 20 (2019) 865-889., [3] E. Abbasi, M. Milani, S.F. Aval, M. Kouhi, A. Akbarzadeh, H.T. Nasrabadi, P. Nikasa, S.W. Joo, Y. Hanifehpour, K. Nejati-Koshki, M. Samiei, "Silver nanoparticles: synthesis methods, bio-applications and properties". Crit. Rev. Microbiol. Vol 42 (2016) 173-180.



A PoCT system to for detection of 2-Heptyl-3-hidroxy-4(1H)-quinolone, the Pseudomonas quinolone signal, based on an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

Criptana Cabello, Josefina Parellada, Elena Domínguez-Cañas, José Ramón de Lucas Iglesias, Mercedes Torre, Arántzazu Narváez.

Universidad de Alcalá, Farmacia, Química Analítica, Química Física e Ingeniería Química, Ctra. Madrid-Barcelona Km. 33,600, 28805, Alcalá de Henares, criptana.cabello@uah.es

Pseudomonas aeruginosa is one of the main pathogens causing nosocomial infections. This type of infections affects patients with cystic fibrosis or lung diseases, and affects immunocompromised patients, elderly, etc. [1] Due to its ability to infect at very low concentrations, it's particularly important to make a rapid and early detection.

One of the Quorum Sensing (QS) mechanisms of *P. aeruginosa* is the so-called *Pseudomonas* quinolone signal, which employs 2-heptyl-3-hydroxy-4(1H)-quinolone (PQS), a quinolone that regulates virulence genes. [2]

In this work, we propose a quickly and reliably method for detection of PQS as a biomarker of *P. aeruginosa* in sputum samples. Once the optimal parameters have been determined by a displacement ELISA, we developed an optical sensor. This sensor is capable of detecting *Pseudomonas* infection in a fast way by means of an Au-screen-printed electrode, after various chemical modifications of its surface. A digital lecture reveals the concentration of PQS in the sputum sample and in these conditions, it has been possible to obtain a linear interval of 43,4-100,7 ng mL⁻¹, EC50 value of 67,2 ng mL⁻¹, and a limit of detection of 33,8 ng mL⁻¹. Although it has been observed that the optical method does not have such remarkable analytical characteristics as the ELISA by displacement, it reduces the analysis times, offers the possibility to perform in situ analysis and greatly reduces the use of materials and reagents (including volume sample).

[1] Fazeli H, Akbari R, Moghim S, Narimani T, Arabestani MR, Ghoddousi AR. *Pseudomonas aeruginosa* infections in patients, hospital means, and personnel's specimens. *J Res Med Sci.* 2012;17(4):332-337. [2] Diggle SP, Matthijs S, Wright VJ, et al. The *pseudomonas aeruginosa* 4-quinolone signal molecules HHQ and PQS play multifunctional roles in quorum sensing and iron entrapment. *Chem Biol.* 2007;14(1):87-96. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1074552106004686>. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2006.11.014>,



Enzymatic generation of AuPt nanoparticles as an alternative to colorimetric biosensors. Application to the determination of tyramine.

Javier Camacho Aguayo, Susana de Marcos, Javier Galbán

Universidad de Zaragoza, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, C/ Pedro Cerbuna, 12, 50009 ZARAGOZA, javier.camacho@unizar.es.

Optical enzymatic biosensors are mainly based on an oxidase type-enzymatic reactions coupled to an indicating reaction in which the oxidation of a dye by H₂O₂ catalysed by peroxidase (HRP) is involved. However, several problems frequently appear in these indicating reactions such as the instability of the dye, the dye/HRP lateral reactions and the lack of specificity of HRP.

This work deepens in an alternative methodology based on the in-situ formation of nanoparticles during the enzymatic reaction. In this work mixed Au:Pt nanoparticles (AuPtNPs) are formed, which plasmon band (at 600 nm) can be used as the analytical signal. Based on this, tyramine has been determined according to its enzymatic reaction with Tyramine Oxidase (TAO).

The Au(III):Pt (II) ratio, the order of addition of the reagent and the temperature effect on the nanostructures formation has been studied in depth. It has been found that working in phosphate buffer 0.1M at pH 7, the ratio 1:4 (Au(III) 0.025 mM: Pt(II) 0.1 mM) gives the more reproducible results at room temperature when they are adding 5 minutes after the enzymatic reaction has begun. In these conditions, the method shows a linear range from 2.5·10⁻⁶ M to 2.5·10⁻⁵ M of tyramine with a LOD below 10⁻⁶ M and an RSD of 3.4% (n=5).

A detailed studied about the AuPtNPs formation mechanism has demonstrated that: 1) a small blank signal is obtained; 2) the enzyme TAO stabilizes the AuPtNPs (which does not occur when the enzyme is replaced by another protein); 3) the presence of oxygen delays the reaction; and 4) the H₂O₂ produced during the enzymatic reaction does not affect the shape and signal of the AuPtNPs. These results have allowed us to conclude that both TAO and the product of the enzymatic reaction are involved in the formation of the AuPtNPs. The method is being applied to Tyr determination in a cheese sample.

This work is part of the I+D+i project PID2019-105408GB-I00 supported by MCIN/AEI/10.13039/501100011033 and the founding to research groups of the DGA-FEDER (E25_20R). J. Camacho thanks to the Gobierno de Aragón for a grant (Construyendo Europa desde Aragón).



Evaluation of circulating lncRNAs as diagnostic biomarkers for colorectal cancer screening

Alexandru Cobzariu, Raquel Sánchez-Salcedo, Rebeca Miranda-Castro, Noemí de-los-Santos-Álvarez, Daniel Fernández-Martínez, Luis J García-Flórez, María Jesús Lobo-Castañón.

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica, Avenida Julián Clavería 8, 33006, Oviedo, UO264818@uniovi.es

Colorectal cancer (CRC) is the second cause of cancer-associated mortality worldwide [1, 2]. The most accurate screening method for CRC early diagnosis is colonoscopy; however, its invasiveness, cost, and expertise requirements hamper its implementation. In order to optimize screening programs and develop novel approaches for early diagnosis, there is an urgent need for new biomarkers for the reliable and efficient detection of the early signs of CRC. Long noncoding RNAs (lncRNAs) are transcripts longer than 200 nucleotides with no protein-coding potential. Dysregulation of certain lncRNAs has been associated with numerous cancer-related processes. Therefore, lncRNAs have the potential to become clinical biomarkers for early cancer screening [3]. In this work, the expression of different lncRNAs is analyzed by one-step quantitative reverse transcription PCR (RTqPCR), using GAPDH as normalization control, in cell lines as well as in plasma of CRC patients and healthy controls. Likewise, their potential as clinical biomarkers for early CRC screening, either individually or as part of a panel of lncRNAs, is evaluated.

Acknowledgements: The work has been financially supported by Spanish Government (project RTI-2018-095756-B-I00).

[1] <https://gco.iarc.fr>, [2] H. Sung, J. Ferlay, R. L. Siegel, M. Laversanne, I. Soerjomataram, A. Jemal, F. Bray, CA, Cancer J. Clin. 71 (2021) 209., [3] R. Miranda-Castro, N. de-los-Santos-Álvarez, M. Jesús Lobo-Castañón, Anal. Bioanal. Chem. 411 (2019) 4265.



Fast methods based on mass spectrometry for peptide identification. Application to sex determination of human remains in tooth enamel

**Miguel del Nogal Sánchez, Ana María Casas-Ferreira, José Luis Pérez Pavón, Ángel Esparza Arroyo,
Javier Velasco Vázquez**

Universidad de Salamanca, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Plaza de los Caídos s/n, 37008 Salamanca, mns@usal.es.

Two new fast methods are proposed for the first time to assign biological sex to prehistoric human remains. Both methods are supported on sexually dimorphic amelogenin protein fragments (AMELX and AMELY) analysis in tooth enamel. The first one is based on flow injection analysis, electrospray ionization and high-resolution mass spectrometry (FIA-ESI-HRMS) with a run time of three minutes per sample. The second method is based on tandem mass spectrometry (FIA-ESI-MS/MS) with a low-resolution mass spectrometer. In this case, run time is one minute per sample.

When FIA-ESI-HRMS was used, two accurate mass-to-charge ratios, corresponding to the diprotonated ions of the molecular species $[M+2H]^{2+}$ of both peptides, and 6 MS/MS transitions, 3 characteristics of peptide specific to the Y isoform of amelogenin and 3 to the X, were selected for identification purposes. In the FIA-ESI-MS/MS method, 6 MS/MS transitions, 3 characteristics of peptide specific to the Y isoform of amelogenin and 3 to the X, were measured. In both cases, no separation step is carried out once the sample is injected into the system.

The two methods were applied to a set of 16 tooth samples from prehistoric human remains. The results obtained in the sex determination with the rapid methods were confirmed using a liquid chromatographic based method (LC-HRMS). Results were in complete agreement among methods.

A very important increase of sample throughput was obtained with the new proposed methods. When the LC-HRMS method was used, time between sample injections was 101.4 min (run time, 100 min; time require for injection, 1.4 min). When the FIA-ESI-HRMS and FIA-ESI-MS/MS methods were used, in this time (101.4 min) it was possible to analyze 23 and 48 samples, respectively. Moreover, the possibility to assign sex using low-resolution mass spectrometers means that a greater number of laboratories could perform AMEL analysis because the cost of the instrumentation is reduced.



Therapeutical Potential of Mesenchymal Stem Cells Secretome from Human Uterine Cervix on Breast Cancer Therapy

Sara Escudero-Cernuda, Noemí Eiró, Francisco J. Vizoso, María Luisa Fernández-Sánchez.

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica, Avenida Julián Clavería, 8, 33006, Oviedo, saraescudero33@gmail.com

Nowadays, research on Mesenchymal Stem Cells (MSCs) and their potential application in regenerative medicine have attracted significant interest. MSC can be extracted from different tissues (i.e. bone marrow, umbilical cord blood or adipose tissue...) and recently, the Research Unit from Jove's Hospital has isolated, identified and characterized a new type of MSC from the uterine cervix (hUCESCs) which has antitumoral, anti-inflammatory and regenerative properties [1].

Moreover, hUCESCs secretes to the culture media a variety of biologically active substances while it's in vitro proliferation. This whole set of molecules is called "conditioned media" (CM) or "Secretome" and it can be inoculated to the patients instead of the MSCs [2]. This treatment has some advantages like i) less safety problems than the transplantation of MSCs, ii) CMs are analyzed like conventional drugs, iii) CM storage does not require criopreservatives, iv) CM production is more economic than the use of MSCs and v) CM lyophilization does not alter its antitumoral properties. Recent studies have shown promising results with both Mesenchymal Stem Cells and the medium in which these cells were cultured, that is, the conditioned medium (CM-hUCESCs).

The aim of this study is to demonstrate the great potential of CM from the culture of human uterine cervix stem cells (CM-hUCESC) on the breast cancer treatment.

In vitro studies have demonstrated that the MC-hUCESCs inhibit the aggressive behavior of breast adenocarcinoma cell line MDA-MB-231. Moreover, the intratumoral administration of CM-hUCESCs in vivo reduces tumor growth in severe immunodeficient (SCID) mouse.

For clinical translation of secretome-based treatment, characterization of the secretome composition is needed to better understand the induced biological processes and identify potentially effective secretomes. The results of a human cytokine antibody array have showed that CM-hUCESCs presented a high concentration of antitumoral proteins like FLT3-LG, IP-10, LIGHT and LAP [3]. Finally, identification of functional protein components in three different CM-hUCESCs was performed using HPLC-ESI-MS/MS. The identification of the secreted protein components with therapeutic effects is expected to be useful for future breast cancer therapy.

J. Schneider, Cancer Genomics Proteomics. 13 (2016) 5, M. Osugi, Tissue Eng. Part A. 18 (2012) 13-14, N. Eiró, Oncotarget. 5 (2016) 21



METABOLISM OF THE TH-PVP SYNTHETIC CATHINONE USING ZEBRAFISH LARVAE AND EMBRYONIC ACUTE TOXICITY

Francesc A. Esteve-Turrillas, Laura Fabra-Cabrera, Encarna Sancho, Dolores Ferrando, Sergio Armenta.

Universitat de València, Faculty of Chemistry / Faculty of Biology, Department of Analytical Chemistry and Department of Cellular Biology, Functional Biology and Physical Anthropology, 50th Dr. Moliner St., 46100, Burjassot, Valencia, francesc.a.esteve@uv.es

Synthetic cathinones, which are typically sold as bath salts, legal highs, or research chemicals, are one of the largest groups of new psychoactive substances reported by the United Nations Office on Drugs and Crime in the last decade [1]. The synthetic cathinone 3',4'-tetramethylene- α -pyrrolidinovalerophenone (TH-PVP) has a sedating pharmacological profile; however, its toxicity and metabolization pathway are still unknown. The use of zebrafish larvae (*Danio rerio*), with a high degree of physiological and genetic homology to humans, is an emerging tool very useful for the identification of metabolic pathways and toxicity of psychoactive substances due to its small size, easy maintenance, low cost, and high reproductive rate [2]. In this study, the metabolism of the synthetic cathinone TH-PVP was evaluated using zebrafish larvae as a 24-h *in vivo* model studied within 5 days after fertilization. The produced metabolites were identified by liquid chromatography-high resolution tandem mass spectrometry and a metabolic pathway was proposed. The main identified metabolites were mono-hydroxylations at different moieties of the TH-PVP molecule. Moreover, di-hydroxylated and carboxy analogues were also identified. Thus, mono-hydroxylated metabolites were proposed as potential biomarkers for identification of TH-PVP abuse in biological matrices. Parallel, acute toxicity of TH-PVP in zebrafish embryos was evaluated. The 50% lethal concentration of TH-PVP (LC₅₀) was calculated in the zebrafish embryos exposed to 24, 48, 72, and 96 h. LC₅₀ results were 11.04, 6.85, 5.32, and 4.78 mg L⁻¹, respectively. During the experiment, embryos exposed to TH-PVP exhibited pericardial and/or sac yolk oedema and bradycardia. Partial hatching and hatching delay were observed in those animals that survive the stipulated period. Some survival larvae exhibited malformations as not swim bladder inflation or tail deformations. These effects on development are similar to those found in zebrafish embryos exposed to the psychopharmaceutical drug fluoxetine [3]. Based on both, the reported acute toxicity values in zebrafish embryos and those obtained in this study with larvae from 4-5 days, it seems clear that TH-PVP could have teratogenic effects and more studies would be required. On the other hand, the use of zebrafish larvae (< 120 h) can be considered as simple and efficient strategy for the identification of metabolic pathways and toxicity of new psychoactive substances.

Acknowledgements

Authors acknowledge the financial support of PID2019-110788GB-I00 project funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033.

[1] United Nations Organizations Drug and Crime Office, Global Synthetic Drugs Assessment, 2020., [2] L.H.J. Richter, J. Herrmann, A. Andreas, Y.M. Park, L. Wagmann, V. Flockerzi, R. Müller, M.R. Meyer, *Toxicol. Lett.* 305 (2019) 73-80., [3] V. Cunha, P. Rodrigues, M.M. Santos, P. Moradas-Ferreira, M. Ferreira, *Aquat. Toxicol.* 178 (2016) 182-189.



Análisis cuantitativo rápido de aminoácidos en orina basado en el uso de una precolumna de protección directamente acoplada a un espectrómetro de masas.

María Teresa Fernández del Campo García, Ana María Casas Ferreira, Encarnación Rodríguez Gonzalo, José Luis Pérez Pavón.

Universidad de Salamanca, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Plaza de los Caídos, S/N, 37008, Salamanca, tfdzcg@usal.es

Los aminoácidos están implicados en muchos procesos biológicos importantes. Diferentes patologías han sido asociadas con la presencia de concentraciones anómalas de estos compuestos en distintas muestras biológicas. Teniendo en cuenta la relevancia clínica de estos analitos, el desarrollo de métodos rápidos para su determinación y cuantificación tiene gran interés en el ámbito clínico.

En este trabajo se desarrolla un método rápido para la determinación cuantitativa de aminoácidos proteinogénicos en orina basado en la utilización de una precolumna de protección o guard column, (gC) directamente conectada a un espectrómetro de masas (gC-MS/MS). La precolumna de protección permite realizar una separación de baja resolución de los analitos previa a su introducción en el espectrómetro de masas.

La configuración que se propone gC-MS/MS se ha comparado con la introducción de muestra de forma directa en el espectrómetro de masas (MS/MS). Los resultados ponen de manifiesto que la precolumna efectúa una etapa de fraccionamiento de baja resolución que mejora la morfología de pico y la sensibilidad, respecto a los resultados que se obtienen con la inyección directa en MS/MS sin aumentar el tiempo de análisis (inferior a 3 min). También se comprueba que la incorporación de la precolumna mejora algunos problemas relacionados con la presencia de compuestos interferentes, lo cual incide positivamente en la selectividad del análisis, ya que es posible obtener cierta separación de los analitos de interés.

El método propuesto se ha aplicado para el análisis cuantitativo de aminoácidos individuales en muestras de orina. Para confirmar los resultados obtenidos mediante gC-MS/MS, se ha puesto a punto un método basado en cromatografía de líquidos empleando una columna cromatográfica convencional acoplada a espectrometría de masas (LC-MS/MS). Ambos métodos se validaron empleando orina sintética en términos de reproducibilidad, repetibilidad, exactitud y sensibilidad, y los resultados obtenidos en ambos casos fueron satisfactorios. El método gC-MS/MS propuesto muestra límites de detección y cuantificación adecuados, considerando las concentraciones endógenas de estos compuestos en orina.

Se analizaron muestras de orina de hombres y mujeres aparentemente sanos usando los métodos gC-MS/MS y LC-MS/MS con un protocolo de adición estándar y normalización con patrón interno. Se obtuvieron resultados similares para todas las muestras analizadas, mostrando que la metodología gC-MS/MS propuesta en este trabajo es una opción rápida y fiable para la determinación cuantitativa de aminoácidos proteinogénicos en orina. Este método puede ser considerado una alternativa a los métodos tradicionales cuyos tiempos de análisis son muy superiores.



ILLNESS RISK MARKERS IN URINE OF ACTIVE SMOKERS, NON-SMOKERS AND VAPERS

Daniel Gallart-Mateu, Pablo Dualde, Clara Coscollà, Juan M. Soriano, Salvador Garrigues, Miguel de la Guardia

Universitat de València, Facultat de Química, Departamento de Química Analítica, Dr. Moliner 50, 46100 Burjassot (Valencia), daniel.gallart@uv.es.

Traditional smoking practices are the main reason of eight million of deaths at year around the World [1] and it has been calculated that every year 69000 persons dead in Spain due to smoking consequences [2]. So, it's a health important subject which requires active politics.

In the last years, vaping of nicotine solutions has been offered to permanent smokers as an alternative to the traditional consume of cigarettes in order to maintain their nicotine level but avoiding the inhale of smoke and, in some conditions, it has been considered as a reduced harmful practice. To verify it, a set of volunteers were selected three study groups, including non-smokers, traditional smokers, and smokers who have completely replaced the traditional practices by vaping nicotine solutions, in order to evaluate representative illness metrics in their urine.

Crotonaldehyde, acrylonitrile and nicotine, as pulmonary and coronary disease precursors, and their corresponding metabolites (Cotinine, DHBMA, MHBMA, CEMA, 3-HPMA, CMEMA, and HMPMA), as disease markers, have been evaluated in urine to make this study. Additionally, creatinine levels were analyzed in order to compensate the contribution of volunteers metabolism in the analytes determination.

Crotonaldehyde and acrylonitrile were identified and analyzed by the head-space technique coupled to gas chromatography-mass detection (HS-GC-MS). The identification of their metabolites, together nicotine and cotinine, was performed by liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry (LC-HRMS), providing satisfactory identification results in analyzed samples through their exact masses while their quantification was achieved by liquid chromatography coupled to triple quadrupole mass detector (LC-MS/MS).

Studied metabolites were evaluated as a function of their relative signal percentage in front of the lowest value obtained for non-smokers, taken as 0%, and the highest value for the traditional smokers, taken as 100%. In general, urine samples from vapers provided low percentages as compared with traditional smokers, obtaining anomalous values for one volunteer who practices simultaneously both, vaping and smoking.

Acknowledgements: The present study has been co-funded by “Contrato de investigación ESPAÑA SALUD-UNIVERSITAT DE VALENCIA para el desarrollo del Proyecto: Evaluación de marcadores en orina de riesgo para la salud de fumadores que hayan reemplazado el Tabaco tradicional por HNB o vapeo” and the European Union through the European Regional Development Fund Operational Programme (ERDF) of the Valencia Region (2014- 2020). P.D. wants to thank the Spanish “Ministerio de Ciencia e Innovacion” for his “Ayudas para la contratacion PTA (PTA2018-016320-I).

[1] World Health Organization, July 2021. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tobacco>

[2] i-Sanidad, November 2020. <https://isanidad.com/173553/el-consumo-de-tabaco-ocasiona-cada-ano-en-espana-al-menos-69-000-muertes-prematuras/>



Development of a smoking simulation chamber for the evaluation of the inhalation uptake of synthetic cannabinoids

Patricia García Atienza, Sergio Armenta Estrela, Francesc Albert Esteve Turrillas.

Universitat de València, Facultad de Química, Departamento de Química Analítica, Edificio de investigación, c/Doctor Moliner, 50, 46100, Burjassot, pagara8@alumni.uv.es

Synthetic cannabinoids are the new psychoactive substances with highest occurrence in the black market, synthesized as an alternative of natural cannabinoids with higher potency for both CB1 and CB2 receptor subtypes. Synthetic cannabinoids are typically sold as herbal smoking mixtures impregnated with one or several psychoactive substances, being the main route of administration through inhalation delivered by smoking a conventional or electronic cigarette.(1) Recently, several European countries issued alerts after low-tetrahydrocannabinol cannabis products were found to be adulterated with synthetic cannabinoid receptor agonists, like MDMB-4en-PINACA.(2) One of the main problems of the consumption of synthetic cannabinoid are related with the lack of knowledge of their psychoactive effects or toxicity, resulting in a high risk for consumers. In this study, a simulation chamber has been designed for the estimation of the inhalation uptake of synthetic cannabinoids during conventional smoking using a dedicated smoking machine. Cigarettes were made by using 200 mg herbal smoking mixtures containing synthetic cannabinoids, a rolling paper, and a smoking filter. The cigarette was burned and smoke was driven by a 10.5 cm silicone tube (0.7 cm i.d.) that simulates trachea, and bubbled to a twin-trap containing 20 mL pH 7 phosphate saline buffer (simulating lung absorption) and 20 mL hexane to trap non-absorbed compounds, respectively. Synthetic cannabinoids absorbed in the silicone tube were extracted using 10 mL methanol and vortex extracted. Phosphate saline solution was extracted by SPE using C18 cartridges, and hexane solution was evaporated to dryness and reconstituted in 1 mL methanol. The obtained extracts were analysed by liquid chromatography fluorescence detection (LC-FD) and the method was adjusted for the determination of NNL3, 5F-NPB-22, ADB-CHMICA, ADB-CHMINACA, 5F-ADB, MDMB-FUBINACA, MMB-CHMICA, and MDMB-4en-PINACA. In summary, the developed smoking simulation chamber allows the rapid and simple estimation of the inhalation uptake of synthetic cannabinoids.

Acknowledgements

Authors gratefully acknowledge the financial support of the project (PID2019-110788GB-I00) funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033.

Naqi, H. A.; Pudney, C. R.; Husbands, S. M.; Blagbrough, I. S. *Anal. Methods* 2019, 11 (24), 3101–3107., Oomen, P. E.; Schori, D.; Tögel-Lins, K.; Acreman, D.; Chenorhokian, S.; Luf, A.; Karden, A.; Paulos, C.; Fornero, E.; Gerace, E.; Koning, R. P. J.; Galindo, L.; Smit-Rigter, L. A.; Measham, F.; Ventura, M. *Int. J. Drug Policy* 2022, 100, 103493.,



Mass spectrometry-based metabolomics for elucidating the toxicity mechanisms associated to ZnSe/ZnS quantum dots exposure

Estefanía García Calvo, M. Pilar Buendía, Andrés Machuca, Daniela S. Anunciação, Jose L. Luque-García.

COMPLUTENSE DE MADRID, CIENCIAS QUÍMICAS, UNIDAD DE ESPECTROMETRIA DE MASAS, Avenida complutense, 28040, Madrid, egcalvo@ucm.es

Quantum dots (QDs) are highly fluorescent and robust semiconductor nanocrystals with a wide variety of applications. They are commonly used in electronic devices, for in-vitro and in-vivo bioimaging, for drug delivery and in solar cells, among others. The toxicological studies performed so far have been mainly focused on the evaluation of Cd-based QDs, since Cd is a well-known toxic agent. In particular, CdSe/ZnS QDs have been extensively studied, showing how this type of nanoparticles are potentially hazardous as they accumulate in the liver and induce mitochondrial damage and oxidative stress [1]. For this reason, novel Cd-free QDs, such as ZnSe/ZnS QDs are beginning to be used in a wide variety of applications. However, even though there is no Cd in their structure, a study of their potential toxicity is still necessary.

Based on the above, in the present work we evaluated the potential toxicity exerted by ZnSe/ZnS QDs using HepG2 cells as an in-vitro model. In order to unveil the biomolecular mechanisms of interaction of this QDs with our model, we used mass spectrometry-based metabolomics. The untargeted metabolomics assay identified several altered metabolites involved in ROS generation, mitochondrial dysfunction, hypoxia, and apoptosis.

Since the mitochondria seemed to be involved in the toxicity induced by ZnSe/ZnS QDs, we further designed a targeted metabolomics and RT-qPCR approaches for the determination of energy-related metabolites. The results confirmed the proposed mechanisms, observing impairment of the ATP, NADH and NAD⁺ levels in cells exposed to the QDs, as well as de-regulation of several genes encoding for protein complexes involved in the electron transport chain. Furthermore, electron paramagnetic resonance (EPR) was used to confirm the generation of ROS inside the mitochondria.

García-Calvo, E., Cabezas-Sánchez, P., Luque-García, J.L., 2021. In-Vitro and in-Vivo Evaluation of the Molecular Mechanisms Involved in the Toxicity Associated to CdSe/ZnS Quantum Dots Exposure. *Chemosphere*. 263, 128170. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128170>,



Determination without derivatization of monohydroxy polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine as biomarkers of PAH-exposed workers

Samuel García García, Héctor Matilla González, Miguel del Nogal Sánchez, Ana Casas-Ferreira, J. L. Pérez Pavón, Javier Peña González.

Universidad de Salamanca, Facultad de Ciencias Químicas, Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Plaza de los Caídos S/N, 37008, Salamanca, samugarcia98@usal.es

Here we propose for the first time a method for the simultaneous determination of up to 7 different monohydroxy polycyclic aromatic hydrocarbon urine metabolites without derivatization reaction prior to their analysis using gas chromatography and mass spectrometry. Determining the concentration of urinary metabolites serves as a measure for individual exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). These compounds have been studied in different types of human samples using a plethora of extraction, separation and detection techniques, but always including a derivatization reaction before further analysis.[1]

The sample treatment in this work is much simpler than those found in literature up to date. After thawing, urine samples are subjected to enzymatic hydrolysis of the corresponding metabolites (i.e., glucuronic acid or sulphate adducts) to give free OH-PAHs. Then, the sample is centrifuged, filtered (PTFE) and diluted 1:5 with a pH 7.0 buffer. Next, analytes are automatically extracted by microextraction by packed sorbent (MEPS, C18) and injected into a programmed temperature vaporizer (PTV, baffled empty liner) using solvent vent mode to introduce the sample into the GC. Separation is performed in only 9 minutes with a MS single quadrupole analyser for detection.

Due to the presence of matrix effect in the different urines, a one-point standard addition calibration method was used to quantify the OH-PAHs. Good linear responses were obtained in the range from the limits of quantification up to 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ with determination coefficients varying from 0.9738 to 0.9995. The limits of quantification (S/N=10) ranged 40 - 120 $\mu\text{g L}^{-1}$. With this methodology we have been able to successfully quantify OH-PAHs in urine sample from non-exposed and exposed volunteers.

P. Martín Santos, M. del Nogal Sánchez, J. L. Pérez Pavón, B. Moreno Cordero, Trends in Analytical Chemistry 113 (2019) 194-209, ,



Cromatografía Líquida Bidimensional (2D-LC) para la monitorización terapéutica conjunta del antiviral Favipiravir y sus metabolitos

Diego García-Gómez, Aitana Sánchez Hernández, Encarnación Rodríguez Gonzalo

Universidad de Salamanca, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Plaza de los Caídos s/n, 37008 Salamanca, dgg@usal.es.

Favipiravir es un fármaco antiviral de la familia de los análogos a nucleótidos aprobado en 2014. Dicho fármaco ejerce su actividad antiviral como un profármaco ya que sufre fosforilación intracelular hasta la forma activa, Favipiravir-RTP, que inhibe selectivamente el ARN polimerasa de los virus. Favipiravir es eficaz contra una amplia gama de virus de la gripe, incluidas cepas resistentes, por lo que se ha investigado también para el tratamiento del virus del Ébola, el virus de Lassa y, más recientemente, para el SARS-CoV-2[1].

La monitorización terapéutica de fármacos como el Favipiravir es compleja, cara y tediosa ya que sus metabolitos presentan estructuras y propiedades fisicoquímicas muy distintas, incluyendo en algunos casos elevada polaridad y/o carga, lo que hace necesario aplicar más de un método analítico para cuantificar el profármaco y sus metabolitos en un único paciente. La matriz biológica estándar para su monitorización es el plasma o suero y células mononucleares de sangre periférica.

La cromatografía líquida bidimensional (2D-LC) ha ido creciendo desde las últimas décadas como una solución relevante para varios problemas analíticos encontrados en análisis farmacéutico como la co-elución o la presencia de impurezas. En el análisis farmacéutico de moléculas pequeñas, la separación no suele mostrar limitaciones en la capacidad de pico sino más bien en la separación de compuestos estructuralmente muy similares y que requieren pequeños cambios en la selectividad para su correcta separación, difíciles de conseguir en separaciones monodimensionales. Por ello, las aplicaciones recientes de 2D-LC en el análisis farmacéutico se centran, principalmente, en la modalidad heart-cutting (LC-LC), donde solo una fracción del efluente de la primera dimensión se transfiere a la segunda dimensión[2].

Se aborda en este trabajo el desarrollo, validación y aplicación de un método LC-LC para la determinación, en un solo análisis, del antiviral Favipiravir y cinco metabolitos, incluyendo su forma activa, Favipiravir-RTP. El método consiste en la separación, en una primera dimensión de naturaleza de fase inversa (C18/PFP), del profármaco Favipiravir y sus metabolitos de hidroxilación y ribosilación. Los metabolitos mono-, di- y tri-fosforilados, que presentan muy baja retención en la primera dimensión, son transferidos a una segunda dimensión que presenta un mecanismo de retención mixto, combinando interacciones hidrofóbicas e intercambio aniónico, donde se resuelven satisfactoriamente. El método desarrollado presentó unas características analíticas adecuadas, con recuperaciones en el intervalo 85%-114% y RSDs < 17%, permitiendo la monitorización terapéutica conjunta, en un único análisis, de Favipiravir y sus metabolitos en diversas matrices biológicas.

1. M. G. Ison, M. H. Scheetz, EBioMedicine 63 (2021) 103204.
2. M. Guinüz, S. Heinisch, J. Pharm. Biomed. Anal. 145 (2017) 482.



Determinación simultánea de ácidos biliares, diclofenaco y sus principales metabolitos en hígado de mamíferos expuestos a cócteles químicos.

Antonio Marín-Garrido¹, Noemí Aranda-Merino¹, Tamara García-Barrera², María Ramos-Payán¹, Miguel Ángel Bello-López¹, Rut Fernández-Torres¹

¹Universidad de Sevilla, Facultad de Química, Departamento de Química Analítica,

²Universidad de Huelva, Facultad de Ciencias Experimentales, Centro de Recursos Naturales, Salud y Medio Ambiente (RENSMA). Departamento de Química, Campus El Carmen, Avda. Fuerzas Armadas, 21007 Huelva.

Se optimiza y valida un método analítico para la determinación de diclofenaco y sus principales metabolitos hidroxilados, en combinación con metabolitos endógenos (ácidos biliares, AB) para su aplicación a ensayos de exposición in vivo en mamíferos (*mus musculus*). Los AB permiten el seguimiento del metabolismo indicando alteraciones en las rutas metabólicas. Por lo general, pueden observarse cambios en la concentración de los AB individuales y sus perfiles, por lo que son considerados marcadores bioquímicos importantes [1].

La determinación simultánea se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de ultra alta resolución acoplada a detección por espectrometría de masas de tiempo de vuelo (LC-ESI-QTOF-MS) en muestras de hígado de *mus musculus* expuestos a un cóctel químico compuesto por arsénico (As), cadmio (Cd) y mercurio (Hg), flumequina y diclofenaco.

Para la separación cromatográfica se usó una columna Acquity BEH C18 (150 mm × 2,1 mm i.d., 1,7 µm de tamaño de partícula) a 45°C, utilizando como fase móvil agua (0,1 % (v/v) de ácido fórmico) (A) y acetonitrilo (0,01 % (v/v) de ácido fórmico) (B), a un flujo de 0.3 mL min⁻¹ durante 33 min, bajo el siguiente programa de elución: t = 0 min 75% A; t = 12.0 min 60 % A; t = 26.0 min 25% A; t = 26.5 min 0 % A; t = 28.5 min 0 % A ; t = 29.0 min 75 % A. La detección se llevó a cabo utilizando una fuente de electrospray en modo ionización negativa (Vcapilar 2,5 kV; Tfuente 150 °C y Tdesolvatación 500 °C). Las muestras de hígado (50 mg) se extrajeron con 750 µL de agua:metanol (1:1, v/v), homogeneización en vórtex durante 2 min y baño de ultrasonidos a 4°C durante 1 hora; posteriormente, se centrifugaron (15 min, 15000 rpm) y el sobrenadante se trató con 3 mL de amoníaco al 5 % (v/v) en acetonitrilo en baño de ultrasonidos a 4°C durante 1 hora. Se tomó un volumen de 550 µL del extracto resultante y se purificó mediante SPE empleando columnas ISOLUTE PLD+ de Biotage 50 mg/1 mL para eliminar los fosfolípidos. El extracto se evaporó, se reconstituyó en 100 µL de una mezcla agua:acetonitrilo (1:1, v/v), se centrifugó (15 min a 15000 rpm) y se trasvasó a un vial de inyección para su análisis. Los resultados obtenidos mostraron parámetros de validación excelentes, recuperaciones superiores al 80% y una sensibilidad del orden de ng g⁻¹.

Agradecimientos: Los autores agradecen la financiación para el desarrollo del proyecto a través de los proyectos PGC2018-096608-B-C22 y PGC2018-096608-B-C21 de FEDER/Ministerio de Ciencia e Innovación – Agencia Estatal de Investigación.

[1]- Kouichi Minato, Masanori Suzuki, Hidenori Nagao, Ryota Suzuki, Hiroyuki Ochiai, J. Chrom B 1002 (2015) 399



Analysis of cancer biomarker glycans by capillary liquid chromatography-mass spectrometry

Estela Giménez, Eduardo Antoñanzas, Montserrat Mancera-Arteu, Victoria Sanz-Nebot.

University of Barcelona, Faculty of Chemistry, Department of Chemical Engineering and Analytical Chemistry, Martí i Franqués, 1-11, 3^o Floor., 08028, Barcelona, estelagimenez@ub.edu

Glycoproteins play a crucial role in many important biological processes, which are usually mediated by the attached oligosaccharides. These structures, also known as glycans, can be altered in many diseases such as cancer. For this reason, their correct identification and quantification in biological samples has become of great interest in many research fields for the diagnosis and monitoring of diseases [1]. Human alpha-1-acid glycoprotein (hAGP) glycans have been described to be altered in certain diseases such as pancreatic cancer (PDAC) or chronic pancreatitis (ChrP). Hence, hAGP is under study as a potential PDAC biomarker and as alternative to distinguish PDAC from ChrP patients.

In the present work, several labelling agents (aniline, procainamide and anthranilic acid) and reaction conditions were evaluated by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry (MALDI-MS) using maltohexose as standard glycan. Once labelling agents and optimal reaction conditions were selected, glycans obtained from hAGP standard samples were derivatized and analysed by capillary liquid chromatography-mass spectrometry. Zwitterionic hydrophilic interaction liquid chromatography and porous graphitic carbon stationary phases were evaluated [2], selecting the one with the best performance in terms of glycan isomer separation and sensitivity. The established methods will improve detection and quantitation of hAGP glycans in serum samples [3], but also they will allow us to tackle the analysis of other glycoprotein biomarkers with lower glycosylation degrees or present at low concentration in biological fluids.

[1] Giménez, E., Sanz-Nebot, V., Rizzi, A., *Anal Bioanal Chem*, 405 (2013) 7307-7319., [2] Mancera-Arteu, M., Giménez, E., Barbosa, J., Sanz-Nebot, V., *Anal Chim Acta*, 940 (2016) 92-103., [3] Mancera-Arteu, M., Giménez, E., Balmaña, M., Barrabés, S., Albiol-Quer, M., Fort, E., Peracaula, R., Sanz-Nebot, V., *J Proteomics*, 195 (2019) 76-87.



Peptide imprinted nanoparticles as anti-CB1 antibody substitutes for bioanalysis.

Alberto Gómez Caballero, Ainhoa Elejaga Jimeno, Amaia Alday Izaguirre, Ane Gorostizu Orkaiztegi, Gontzal García del Caño, Nora Unceta, Miquell Saumell Esnaola, Joan Sallés, M. Aránzazu Goicolea, Ramón J. Barrio..

Universidad del País Vasco UPV/EHU, Facultad de Farmacia, Química Analítica, Paseo de la Universidad 7, 01006, Vitoria-Gasteiz, a.gomez@ehu.eus

Molecularly imprinting technology has been proven effective to develop artificial receptors capable of binding a target ligand with affinities comparable to their natural counterparts. They have been developed to overcome typical drawbacks associated with biologic receptors including low stability under non-physiological temperature and pH conditions, the need of animals for their production, and high production costs (1). Molecularly imprinted polymers (MIP) are most often prepared through radical polymerisation in the presence of a target compound, referred to as template. This gives rise to a rigid cross-linked polymer network, which presents some deficiencies generated as a consequence of the imprinting event on the polymer matrix. Once the template is removed from the polymer, recognition sites will be available to selectively bind the target ligand, since these sites retain memory towards the template, showing complementary shape and functionality. The applicability of these materials in biomedicine has experienced a fast expansion over the last decades, being exploited for analyte extraction and sample clean up, sensor technology and controlled release of drugs (2).

In this work, MIP have been produced in nanoparticle format, as artificial antibodies for the cannabinoid CB1 receptor (anti-CB1). To this end, high affinity nanoparticles have been synthesised combining the solid phase imprinting and the epitope imprinting approaches. Thus, a linear peptide composed of 15 amino acids has been used as template for imprinting, which is identical to the final C-terminus fraction of the natural CB1 receptor (458-KVTMSVSTDTSAEAL-472). This sequence is responsible for the desensitization and internalization of the CB1 receptor as it is involved in the coupling of Gi/o proteins intracellularly.

Developed anti-CB1 nanoparticles were explored as antibody substitutes in dot blot and Western blot assays, which served to evaluate the affinity and selectivity of the produced MIPs. For these tests, the recombinant fusion protein GST-CB1414-472 was used as target, and the protein GST-CB1414-442 as negative control, not carrying the target epitope. It has been found that the anti-CB1 could selectively bind the target GST protein having the target 15 aa sequence, which definitely demonstrates that the binding took place at the C-terminus of the CB1 receptor (3).

1. Regan B, et al. *Sensors* 19 (2019) 3458., 2. Zhang H. *Adv. Mater* 32 (2020) 1806328., 3. Gómez-Caballero A, et al. *Microchim. Acta* 188 (2021) 368.



Aplicación de Técnicas Metabolómicas Complementarias para Estudiar el Efecto de la Ingesta de Algas Comestibles

Raúl González-Domínguez, Raúl González-Domínguez, Álvaro González-Domínguez, Remedios Castro, Alfonso María Lechuga-Sancho, Enrique Durán-Guerrero.

Universidad de Cádiz, Hospital Universitario Puerta del Mar, Instituto de Investigación en Innovación Biomédica de Cádiz (INIBICA), Av. Ana de Viya, 21, 11009, Cádiz, raul.gonzalez@inibica.es

Las algas comestibles pueden tener importantes repercusiones positivas sobre la salud debido a su rico perfil nutricional, ya que son una fuente de fibras, minerales (e.g., yodo), lípidos esenciales (e.g., ácidos grasos poliinsaturados) y compuestos bioactivos (e.g., compuestos fenólicos, carotenoides). Para estudiar el efecto de su consumo se necesitan herramientas potentes que permitan desentrañar los complejos mecanismos mediante los cuales los nutrientes y otros componentes alimentarios interactúan con el correcto funcionamiento de nuestro organismo. En este sentido, la metabolómica ha demostrado gran utilidad con el fin de descubrir posibles biomarcadores de ingesta de alimentos, así como para investigar el papel de los hábitos dietéticos sobre la salud y su papel protector frente al desarrollo de enfermedades.

Con el fin de investigar el efecto de la ingesta de algas comestibles, se realizó un ensayo de intervención aleatorizado y cruzado en 11 voluntarios sanos con alga Ogonori rojo (*Gracilaria* spp.). A lo largo del estudio de intervención se recogieron muestras de plasma sanguíneo antes de la ingesta y tras 30, 60, 120 y 180 minutos, así como muestras de orina antes de la ingesta y tras 3, 6, 12 y 24 horas. Estas muestras fueron analizadas mediante una multi-plataforma metabolómica, consistente en la combinación de cromatografía líquida de ultra alta resolución de fase inversa, cromatografía de gases y electroforesis capilar acopladas a espectrometría de masas de alta resolución, lo cual nos permitió caracterizar de forma integral el metaboloma plasmático y urinario.

Los resultados mostraron que el consumo de algas produce alteraciones significativas en metabolitos plasmáticos relacionados con el metabolismo glucídico, del colesterol y de los fosfolípidos. Por el contrario, los principales cambios metabólicos detectados en orina se relacionaron con la producción de acil-carnitinas, el metabolismo de aminas biogénicas, así como con la excreción de compuestos fitoquímicos y derivados de la microbiota intestinal (e.g., ácido hipúrico). Todo ello pone de manifiesto el gran impacto que el consumo dietético de algas puede tener sobre el estado de salud, y abre la vía a posibles estudios futuros dirigidos a dilucidar su potencial papel protector y terapéutico frente a enfermedades.

..



USE OF GUARD COLUMNS COUPLED TO MASS SPECTROMETRY AS A FAST SCREENING METHODOLOGY FOR THE DETERMINATION OF PLASTICIZER METABOLITES IN URINE

Iria González Mariño, Ana M. Casas-Ferreira, Miguel del Nogal-Sánchez, José L. Pérez-Pavón

Universidad de Salamanca, Facultad de Química, Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Plaza Caidos s/n, 37008 Salamanca, iriagonzalez@usal.es.

Plasticizers are large-scale production chemicals used as additives in a large variety of plastic polymers. They are easily released from the containing material into the surrounding environment and, hence, we are highly exposed to them via different routes. Some of the most widely used plasticizers are the diesters of the 1,2-benzenedicarboxylic acid (phthalates), which have been gradually substituted by terephthalates (diesters of the 1,4-benzenedicarboxylic acid) and DINCH® (di-iso-nonyl cyclohexane-1,2-dicarboxylate). These compounds are metabolized by hydrolysis followed, in some cases, by subsequent oxidation and/or glucuronide conjugation. Both the monoesters and the oxidized forms are excreted with urine and used as biomarkers of exposure to the parent plasticizer [1].

The determination of phthalate, terephthalate and DINCH® metabolites in urine is usually performed by enzymatic hydrolysis of the conjugate forms, a concentration and purification step based on either off-line or on-line solid-phase extraction (SPE), and a subsequent separation and detection stage by (ultra)high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry ((U)HPLC-MS/MS). The combination of SPE and (U)HPLC-MS/MS provides exceptionally low limits of detection and highly selective methods. However, it is expensive and time-consuming, both from the operator (if the SPE is performed off-line) and instrument point of view. As an economic and faster alternative, herein we propose a simple dilution and direct injection method combined the use of a guard column (gC) coupled to MS/MS [2]. Samples (1.0 mL), were submitted to enzymatic hydrolysis for 10 min, filtered, diluted 1:10 with ultrapure water and directly injected into the liquid chromatograph. A fast run of only 2 min allowed the low resolution separation of 18 metabolites. To confirm the quantitative results obtained with gC-MS/MS, a UHPLC-MS/MS method was also developed. Limits of quantification (MQL) achieved by UHPLC-MS/MS ranged between 0,3 and 25 ng/mL; with gC-MS/MS, they ranged between 2 and 77 ng/mL except for two isomers not being resolved (MQL 400 ng/mL in real urine). Although higher than the limits reported in literature by SPE-(U)HPLC-MS/MS methods, these values are still low enough to allow the quantification at levels below metabolite urinary concentrations when exposed to the maximum tolerable daily intakes of the parent plasticizers (200 ng/mL as the lowest value [3]). To correct matrix effects, a standard addition method was used to quantify the levels of analytes considered in three urine samples, including an 8-people integrated urine sample.

[1] H. Frederiksen, N.E. Skakkebaek, A.M. Andersson, *Mol. Nutr. Food Res.* 51 (2007) 899

[2] M.T. Fernández-del-Campo-García, A.M. Casas-Ferreira, E. Rodríguez-Gonzalo, B. Moreno-Cordero, J.L. Pérez-Pavón, *Microchem. J.* 158 (2020) 105223

[3] European Food and Safety Authority, *EFSA J.* 243 (2005) 1



DESARROLLO DE UN MÉTODO DE REFERENCIA BASADO EN DILUCIÓN ISOTÓPICA CON DOBLE TRAZADOR PARA LA DETERMINACIÓN DE CREATINA Y CREATININA EN SUERO HUMANO MEDIANTE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA BIDIMENSIONAL CON DETECCIÓN POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS EN TANDEM (2D-LC-ESI-MS/MS)

Adriana González-Gago, Daniela del Carmen Pineda Cevallos, María Funes Menéndez, Pablo Rodríguez González, José Ignacio García Alonso.

Oviedo, Química, Química Física y Analítica, C/ Julián Clavería, 8, 33006, Oviedo, gonzalezadriana@uniovi.es

Los métodos de referencia para la determinación de parámetros de interés clínico son una herramienta indispensable para poder garantizar la fiabilidad de los resultados y un correcto diagnóstico y tratamiento de algunas enfermedades. La creatinina es un metabolito de la creatina que se emplea habitualmente como marcador de enfermedades renales. Sin embargo, su determinación puede presentar ciertas dificultades debido a la interconversión entre ambas especies durante la etapa de preparación de muestra, especialmente cuando los niveles de concentración son elevados. Por ello es necesario disponer métodos analíticos de referencia frente a los cuales se puedan contrastar adecuadamente los métodos de rutina empleados habitualmente en el laboratorio clínico, de modo que se pueda garantizar la fiabilidad y comparabilidad de los resultados.

En este trabajo se presenta un método de referencia para la determinación de creatina y creatinina, basado en un trabajo previo en el que se desarrolló una metodología de cuantificación por dilución isotópica empleando un doble trazador para la corrección de la interconversión de especies [1]. Esta metodología propone el empleo de trazadores mínimamente marcados ($^{13}\text{C}1$ -creatinina y $^{13}\text{C}2$ -creatina) y medida de las distribuciones isotópicas de ambos mediante ESI-MS/MS tras la separación mediante cromatografía líquida de intercambio catiónico. Sin embargo, con este método la determinación de creatina en algunas muestras se veía comprometida debido a la supresión de la ionización de los analitos en la fuente ESI por efectos de matriz. Para mejorar dicho método y hacerlo aplicable a todo tipo de muestras se ha recurrido a la cromatografía líquida bidimensional (2D-LC). En la primera dimensión se emplea una columna de fase reversa a cuya salida se recoge una fracción que contiene a los dos analitos, por lo que el tiempo de análisis no se alarga, que es transferida a la segunda dimensión, donde se lleva a cabo una separación por intercambio catiónico en ausencia de matriz. El método propuesto se ha validado mediante el análisis de materiales de referencia certificados y aplicado a la determinación de creatina y creatinina en muestras reales.

M. Fernández-Fernández, P. Rodríguez-González, M. E. Añón Álvarez, Felix Rodríguez, F. V. Álvarez Menéndez, J. I. García Alonso, Anal. Chem. 87 (2015) 3755–3763, ,



Insights on selenium nanoparticles disruption of hepatocarcinoma cells molecular pathways based on studies of targeted metabolomics by LC-QqQ-MS and non-targeted metabolomics by GC-TOF-MS.

Cristina Gutiérrez López, Héctor Estévez Sánchez, Estefanía García Calvo, María Luz Mena Fernández, Blanca María Herrera González, José Luis Luque García.

Universidad Complutense de Madrid, Químicas, Unidad de Espectrometría de Masas, AV. COMPLUTENSE s/n. Facultad de Químicas. Unidad de Espectrometría de Masas. UCM, 28040, MADRID, cristina.gutierrez@ucm.es

Chitosan-stabilized selenium nanoparticles (Ch-SeNPs) have recently emerged as a promising chemical form of selenium for anticancer purposes. However, gathering more profound knowledge related to their molecular mechanisms of action might contribute to promote their evolution as a chemotherapeutic drug.

Here, we evaluated alterations in the metabolome of HepG2 cells after exposure to Ch-SeNPs. Metabolites are not just the terminal downstream product of the genome; since they can be chemically targeted in order to modulate biomolecular pathways, metabolites are key elements for chemotherapeutical strategies.

In the present study, a targeted metabolomics method based on LC-QqQ-MS working in MRM mode has been optimized to assess the levels of four energy-related metabolites (ATP, ADP, NAD⁺, NADH), revealing alterations as a result of exposure to Ch-SeNPs related to a deficit in the energy supply system in the cell.

Besides, an untargeted metabolomics experiment based on GC-TOF-MS was performed. This tool has allowed a global metabolite discovery, generating extensive amounts of data that have revealed how the metabolic profile is altered as a consequence of Ch-SeNPs exposure. Valuable information was collected regarding cell cycle arrest, inhibition of tumor growth capacity, bioenergetic dysfunction and glycolysis impairment, among others.

..



Estudio de los parámetros lumínicos de una fuente LED para terapia fotodinámica del cáncer de mama

Andrea Lizette Larraga Urdaz, Adrián Vizcaíno Rodríguez, Marta Valledor Llopis, Francisco Ferrero, José J. Costa-Fernández, María Luisa Fernández-Sánchez

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica, Julián Clavería 8, Facultad Química (Cristo), Lab193, 33006 Oviedo, alarragaur@gmail.com.

El cáncer es uno de los principales problemas de salud a nivel mundial, encabezando la lista de causas de mortalidad más frecuentes. Los tratamientos más frecuentes son cirugía, radioterapia y quimioterapia. Los fármacos utilizados en quimioterapia son muy agresivos, inespecíficos y causan graves efectos secundarios. En la actualidad, los avances en los tratamientos contra el cáncer se están centrando en el desarrollo de terapias dirigidas. Debido a que estos tratamientos actúan específicamente en las células cancerosas, los efectos secundarios se ven reducidos, dañando por lo general menos las células sanas.

Una de las alternativas emergentes para el tratamiento del cáncer es la terapia fotodinámica (TFD). Esta técnica consiste en administrar un compuesto fotosensible (Fotosensibilizador, FS) que se acumula en las células diana. El efecto terapéutico se obtiene por generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) cuando este es irradiado con su longitud de onda de absorción y a su vez se encuentra en presencia de oxígeno. Sus grandes ventajas son su especificidad, su selectividad (ya que no daña el tejido sano), su seguridad y sus escasos efectos secundarios.

Uno de los inconvenientes de este tipo de tratamiento es que su aplicabilidad se ve limitada por la longitud de onda de activación del FS y la efectividad del tratamiento lumínico. Las fuentes de luz más utilizadas son los láseres, equipados con fibras ópticas necesarios para acceder a órganos internos. Los láseres permiten seleccionar con exactitud la longitud de onda correspondiente al espectro de absorción del FS, así como la aplicación precisa de la luz en una pequeña área. Alternativamente, se pueden utilizar diodos emisores de luz, pequeños semiconductores con una banda de longitud de onda estrecha.

En este trabajo, fruto de la colaboración entre ingenieros electrónicos, químicos y médicos, se ha diseñado un prototipo que emplea fuentes de luz LED y se ha evaluado su aplicabilidad para TFD del cáncer de mama. El dispositivo que emite con una longitud de onda de 660nm y 810nm para analizar el efecto fotodinámico sobre línea cáncer de mama MDA-MB-231.

La viabilidad celular se correlaciona con la cantidad de luz absorbida, siendo significativamente más efectivo el tratamiento con luz a 660nm en comparación con 810nm a igual fluencia ($J\ cm^{-2}$). Los resultados muestran como influyen diferentes parámetros de irradiación en la eficacia del tratamiento.

Robertson CA, Evans DH, Abrahamse H. Photodynamic therapy (PDT): A short review on cellular mechanisms and cancer research applications for PDT. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 17 de julio de 2009;96(1):1-8

Ogawa, K., & Kobuke, Y. (2008). Recent Advances in Two-Photon Photodynamic Therapy. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 8(3), 269–279

Moreno Sanchez de Almeida R, Corrêa Fontana L, dos Santos Vitoria G, Henrique Correia Pereira A, Pacheco Soares C, Guerra Pinto J, Ferreira-Strixino J. Analysis of the effect of photodynamic therapy with Fotoenticine on gliosarcoma cells. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*.2020;30



DETERMINACION DE TIRAMINA Y CADAVERINA MEDIANTE MICROFLUIDICA EN PAPEL Y GENERACION DE NANOPARTICULAS CROMOGENICAS DE Au.

Angel Lopez Molinero, ANDREA GARCIA CUBERO, CAROLINA MARTINEZ ROMAN y JAVIER GALBAN

Universidad de Zaragoza, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, C/ Pedro Cerbuna, 12, 50009 Zaragoza, anlopez@unizar.es.

Se ha puesto a punto un método para la determinación colorimétrica de aminas biógenas [1], tiramina y cadaverina, sobre soporte de papel. El procedimiento se basa en dos reacciones consecutivas. En un primer paso se produce la oxidación enzimática de las aminas en presencia de tiramina oxidasa y diamino oxidasa, respectivamente, y a pH 7.0. En una segunda etapa el producto se hace reaccionar con Au(III), a pH alcalino, para producir Au(0) en forma de nanopartículas, AuNPs, de coloración violeta. Se caracteriza este último color obteniendo sus coordenadas RGB, por 'Digital Image Colorimetry, DIC', con cámaras digitales-Smartphone y mediante una macro programada sobre la plataforma ImageJ. El procedimiento se ha implementado sobre soporte de microfluidica en papel. Para lo cual se han estudiado distintos tipos y formas geométricas. Papel Whatman grado 4, de poro grande 20-25 μm , son óptimos para la determinación de Tiramina, con soportes en forma circular, de 8 mm de diámetro. Mientras que para Cadaverina se han implementado sobre Whatman grado 2, de poro pequeño 8 μm , y en forma estrella. En ambos casos los soportes son preparados mediante corte con molde metálico. Si bien se han realizado ensayos con corte laser de CO₂.

La influencia de los principales factores del procedimiento colorimétrico se ha estudiado con diseños experimentales a 2 niveles. El pH de la reducción a AuNPs se muestra como el más influente. Por otra parte, los mejores resultados analíticos se han obtenido con iluminación de color blanco-frío y medida del color reflejado en el canal Rojo.

En la determinación de tiramina, se obtiene un LD de 1.5 mg/L con un rango lineal hasta 20 mg/L. Se presenta una sensibilidad de 1.8 L/mg y una reproducibilidad, como %RSD, para el valor centroide del rango, inferior al 10%.

Valores similares son obtenidos para la cadaverina, pero con valores de %RSD, inferiores al 7%. Los procedimientos han sido aplicados a muestras de agua natural con adición conocida. Los factores de recuperación están en el rango 90-110%.

Agradecimientos: Proyecto PID2019-105408GB-I00: Generación enzimática de nanomateriales: una estrategia innovadora en el desarrollo de Biosensores ópticos para el control de calidad en alimentos (GENMINAL). Los autores agradecen la Ayuda a grupos de Investigación DGA-FEDER (grupo E25_17R, N&SB).

[1] Sanz-Vicente, I., López-Molinero, Á., de Marcos, S., Navarro, J., Cebrián, P., Arruego, C., & Galbán, J. Analytical & bioanalytical chem 412,(2020) 4261.



Untargeted Metabolomics to reveal the biomolecular mechanisms underlying rhodium nanoparticles-based photodynamic cancer therapy

Adrián Margüello Molina, Andrés Machuca Marcos, Estefanía García Calvo, Jose Luis Luque García.

Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Universidad Complutense de Madrid, Av. Complutense, s/n, 28040, Madrid, adrimarg@ucm.es

Although cancer, usually affects in small localized areas of certain organs. Most current treatments are systematic, which involves a high level of side effects that can damage other healthy organs. Currently, the development of targeted therapies such as gene expression modulators, hormonal therapies or the use of nanotechnology, allow selective treatments avoiding damage healthy tissues.

A wide variety of nanomaterials have been proposed for direct therapeutic application against tumor cells, as drugs transporters or as photosensitizing agents in photodynamic therapy (PDT). In the latter case, nanoparticles are capable of generating reactive oxygen species (ROS) when activated after being exposed to near-infrared radiation, thus inducing tumor cell death.

In a previous work, we have proved that the combination of rhodium nanoparticles (RhNPs) exposed to NIR radiation generated a photodynamic effect capable of provoking oxidative stress and inducing the cell to apoptosis.

Apoptosis caused by oxidative stress is mediate by different metabolites in the cell. The monitoring of these metabolites can be very useful to obtain a detailed picture of the function and routes in which they are involved. Based on the above, a metabolomics approach based on mass spectrometry (LC-MS and GC-MS) has been used to elucidate the different mechanisms of action activated by the combination of RhNPs exposure and NIR radiation.

Rkein AM, Ozog DM. Photodynamic therapy. *Dermatoly Clinics*. 32 (2014), Kwiatkowski S, Knap B, Przystupski D et. Photodynamic therapy - mechanisms, photosensitizers and combinations. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 106 (2018), Cui L, Lu H, Lee YH. Challenges and emergent solutions for LC-MS/MS based untargeted metabolomics in diseases. *Mass Spectrom Rev*. 37 (2018) 06



Quantification of DL-2-Hydroxyglutarate in Clinical Samples by an Enhanced in-Source Fragmentation UPLC-TOF Strategy

Samuel Bernardo-Bermejo, Jingchuan Xue, Linh Hoang, María Castro-Puyana, María Luisa Marina, Gary Siuzdak, Martin Giera, Elena Sánchez-López

Universidad de Alcalá, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, Química Física e Ingeniería Química, Ctra. Madrid-Barcelona Km. 33.600, 28871 Alcalá de Henares (Madrid), mluisa.marina@uah.es.

DL-2-Hydroxyglutarate (DL-2-HG) is a chiral molecule with high relevance in the bioanalytical field. While the D-enantiomer is considered an “oncometabolite” in different types of cancer carrying mutations in the isocitrate dehydrogenases 1 or 2 (IDH1/2) enzymes, the L-enantiomer increases under hypoxia. In addition, measuring both enantiomers in biofluids is a known tool for the diagnosis of DL-2-hydroxyglutaric aciduria-related diseases.

It is clear that analytical techniques with high sensitivity and selectivity are needed to carry out the determination of compounds in different samples, particularly in clinical analysis. Among the techniques employed, liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) is the most used but it is also associated with high instrumental costs. To perform the quantitative analysis employing more affordable instrumentation, different works based on enhanced ionization source annotation (EISA) method have been published [1,2]. The EISA method allows to obtain a fragmentation pattern similar to MS/MS employing a much simpler and low-cost single MS instrument.

The aim of this work was to develop an UPLC-EISA-TOF strategy to quantify DL-2-HG in different biological samples of clinical interest. First, to carry out the chiral separation under achiral conditions, it was necessary a derivatization step with diacetyl-L-tartaric anhydride (L-DATAN) to obtain the DL-2-HG diastereomers [3]. Then, different columns, mobile phases, and column temperatures were evaluated to improve the separation. Subsequently, an EISA method was optimized by testing different parameters of the MS spectrometer such as end plate offset, capillary voltage, nebulizer pressure, and drying gas. Once these conditions were optimized, the UPLC-EISA-TOF strategy was applied to the analysis of cell lines, fetal calf serum, and human urine, serum, and plasma. This method enabled the quantification of D-2-HG in chondrosarcoma IDH1 mutant cells, serum samples from cancer patients. Both enantiomers could be quantified in human urine.

Acknowledgements

Authors thank the Leiden Center for Computational Oncology (LCCO) and the Spanish Ministry of Science and Innovation for project PID2019-104913GB-I00. S.B.B also thanks the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness for his predoctoral research contract (BES-2017-082458).

Keywords: DL-2-Hydroxyglutarate, biological samples, clinical analysis, enhanced in-source fragmentation, LC-MS.

[1] J. Xue, X. Domingo-Almenara, C. Guijas, A. Palermo, M. M. Rinschen, J. Isabell, H. P. Benton, G. Siuzdak. *Anal. Chem.* 92 (2020) 6051-6059.

[2] J. Xue, R. J. E. Derks, W. Webb, A. Aisprona, M. Giera, G. Siuzdak. *Anal. Chem.* 93 (2021) 10879-10889.

[3] E. A. Struys, E. E. W. Jansen, N. M. Verhoeven, C. Jakobs. *Clin. Chem.* 50 (2004) 1391-1395.



Evaluación de alteraciones en la salud del organismo analizando una muestra de orina: un set de 19 biomarcadores para la evaluación multiparamétrica del estado del estrés oxidativo, estrés nitrativo, inflamación y alteraciones metabólicas.

María Pilar Martínez Moral, Kurunthachalam Kannan.

Fundación RiojaSalud, Centro de Investigación Biomédica de La Rioja (CIBIR), Oncología, C/Piqueras 98, 3ª planta, 26006, Logroño, mpmmmoral@riojasalud.es

Diversos factores como la exposición a contaminantes ambientales, una alimentación poco saludable o hábitos como el consumo de alcohol o tabaco se han relacionado con la creciente incidencia de enfermedades crónicas como cáncer, diabetes, alteraciones del sistema endocrino o inmunológico o enfermedades cardiovasculares.

Algunos de los efectos directos de estos factores en la salud, que conducen al desarrollo de enfermedades, son el estrés oxidativo, el estrés nitrativo, la disrupción endocrina, la neutrofilia y la eosinofilia; que pueden ser estudiados mediante la cuantificación de sus respectivos biomarcadores en orina. La mediación de estos efectos en los mecanismos implicados en la aparición de enfermedades y las interacciones entre estos factores no están bien definidos; por lo que un enfoque multiparamétrico es de gran interés.

En este estudio, se describe un protocolo analítico para la determinación de 19 biomarcadores de efectos en la salud: malondialdehído (MDA), 8-isoprostaglandina-F2 α (8-PGF2 α), 11- β -prostaglandina-F2 α (11-PGF2 α), 15-prostaglandina-F2 α (15-PGF2 α), 8-iso-15-prostaglandina-F2 α (8,15-PGF2 α), 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG), 8-hidroxiguanosina (8-HdG), 8-hidroxiguanina (8-HG), ditirosina (diY), alantoína (Alla), y dos productos metabólicos del 4-hidroxinonenal (HNE), llamados 4-hidroxi-2-nonenal glutatión (HNE-GSH) y ácido mercaptúrico 4-hidroxi-2-nonenal (HNE-MA) (en total, 12 biomarcadores de estrés oxidativo, OSBs); 8-nitroguanosina (8-NdG), 8-nitroguanina (8-NG), y 3-nitrotirosina (NY) (3 biomarcadores de estrés nitrativo, NSBs); clorotirosina (CY) y bromotirosina (BY) (2 biomarcadores de inflamación IBs); y los productos finales de glicación avanzada (AGEs) N ϵ -carboximetil-lisina (CML) y N ϵ -carboxietil-lisina (CEL) (2 biomarcadores de alteraciones metabólicas). Estos biomarcadores se forman como resultado de diferentes factores, y se producen a través de diferentes rutas moleculares por lo que su cuantificación en orina para describir el estado de salud servirá para estudiar los mecanismos de desarrollo de enfermedades como resultado de la exposición a factores de riesgo.

M.P. Martínez-Moral and K. Kannan. Anal. Bioanal. Chem. 414 (2022) 2103, ,



L1CAM as neuronal extracellular vesicle's marker for biosensor applications

Helena Mateos Cuadrado, Esther Serrano-Pertierra, Antonia Mallardi, Maria Carmen Blanco-López, Gerardo Palazzo..

Università degli studi di Bari, Química, Química Física, Via Edoardo Orabona 4, 70125, Bari, helena.mateos@uniba.it

Extracellular vesicles (EVs) are small membrane vesicles secreted by cells and filled with biomolecular cargoes. Some of these extracellular vesicles are created from neuronal cells and expelled into the cerebrospinal fluid or even plasma, where they can be selectively isolated for signs of neuronal pathological conditions. In recent years research groups around the world have selectively isolated neuronal EVs relying on L1CAM as a membrane marker. L1CAM is supposedly a transmembrane protein with high and relatively specific expression in neural tissue. [1] However, in June 2021, Norman et al. [2] published a study claiming L1CAM in plasma and cerebrospinal fluid is found as a soluble protein and not associated with EVs, being, therefore, a wrong choice of marker for neuronal EVs isolation protocols. This affirmation brings shade into the numerous studies that have relied on L1CAM to report differences between healthy controls and patients with various neurodegenerative diseases.

To bring further understanding into this controversy, we fabricated lateral flow immunoassay (LFIA) tests. Isolated EVs from plasma were sampled in a sandwich structure between a common EVs anti-tetraspanin antibody (aCD63) labeled with gold nanoparticles (AuNPs) for detection, and a anti-L1CAM antibody, for capture on the test line. The test line binds all the L1CAM protein present in the solution, but the soluble L1CAM (if any) does not contribute to any signal since the AuNPs-aCD63 binds only to EVs.

The presence of the visible test line signal we found on the strips is a strong indication of the presence of EVs with L1CAM embedded in the membrane. These results have been supported by fluorescence correlation spectroscopy (FCS) and dynamic light scattering (DLS) measurements in solution.

[1] L. Pulliam, , B. Sun, M. Mustapic, S. Chawla, D. Kapogiannis, J. Neurovirology. 25 (2019) 702., [2] M. Norman, D. Ter-Ovanesyan, W. Trieu, R. Lazarovits, E. J. K. Kowal, J. H. Lee, A. S. Chen-Plotkin, A. Regev, G. M. Church, D. R. Walt Nat. Methods 18 (2021) 631.,



Turn-Off Luminescence Sensors based on nano-MOFs to detect biogenic amines

Candela Melendreras, Pablo Álvarez García, Enrique Álvarez Rubiera, Elena Lastra Bengochea, Francisco Javier García Alonso, Ana Soldado, José M. Costa Fernández.

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica, Avenida Julián Clavería nº8, 33006, Oviedo, uo257805@uniovi.es

Biogenic amines (BA) are nitrogenous compounds formed in foods by the decarboxylation of amino acids or by the amination of aldehydes. They are organic bases with a low molecular weight, which appears because of the metabolic activities of microorganisms in food. BA can be present in all types of foods with high protein or free amino acid content, such as fish, meat or wines, their presence in non-fermented foods is usually undesirable and is related to microbial spoilage. Putrescine and cadaverine are two of the most common BA, their presence in high concentrations can produce severe toxicological effects in humans [1]. In addition, these amines can also react with nitrites giving rise to nitrosamines, compounds that are carcinogenic. Selective detection of biogenic amines is necessary to maintain safety in the food chain.

NanoMOFs (metal organic frameworks) are crystalline nanoparticles composed of ions of a metal or a cluster held in a three-dimensional structure connected via organic ligands. They have aroused great interest in designing sensors due to their porous structure, large surface area, modifiability and luminescent properties [2]. This behaviour and the possibility of being used as sensing platforms have increased the interest of MOF based luminescent sensors.

In the present work, the changes in luminescence properties of a new fluorescent copper MOF (CuDOBCD or "green MOF") when exposed to different amines, including cadaverine and putrescine, have been studied. The optical behaviour of the nano MOFs varies depending on the amine, and a loss of fluorescence is observed at different speeds, making possible the design of a "turn off" fluorescence sensor.

The assays were carried out in solution using MilliQ water as solvent, as well as in the gas phase. For water solution luminescent properties are modified in presence of pyridine piperidine and propylamine among others. For solid-gas (MOF-Amine) reactions, changes in the colour have been observed, going from the characteristic green colour of the MOF to yellowish and brown colours.

, [1] Wunderlichová, L., Buňková, L., Koutný, M., Jančová, P., & Buňka, F. (2014). Formation, degradation, and detoxification of putrescine by foodborne bacteria: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(5), 1012-1030., [2] M.D. Allendorf, C.A. Bauer, R.K. Bhakta, R.J.T. Houk, Luminescent metal-organic frameworks, *Chem. Soc. Rev.* 38 (2009) 1330-1352, <https://doi.org/10.1039/B802352M>.



Production of ^{15}N -enriched biomass from algae and characterization of labeled metabolites through an untargeted metabolomics workflow

Jesús Nicolás Carcelén, J. M. Marchante-Gayón, P. Rodríguez González, L. Valledor, G. Koellensperger, J. I. García Alonso.

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Química Física y Analítica, Avenida Julián Clavería, 8, 33006, Oviedo, nicolasjesus@uniovi.es

The culture of microorganisms in a media containing enriched stable isotopes has been traditionally performed to study metabolic pathways and to produce specific compounds for different uses. The potential of microorganisms to produce labeled compounds with a high labeling degree make them a feasible tool to further produce complex mixtures of labeled standards for their use in high resolution mass spectrometry workflows. Recently, the development of isotopically enriched extracts for quantitative metabolomics has emerged as a promising field in many research areas as they can be used for standardization and quantification through different Isotope Dilution strategies [1]. These novel approaches proved the cutting-edge accuracy and precision of quantifications in metabolomics using isotopically labeled compounds. At the same time, the development of stable and fully characterized reference materials based on bio-extracts has set the beginning of a new era in quantitative (harmonized) metabolomics [2].

In this work, we present a cost-effective and simple strategy to obtain ^{15}N -labelled biomass from ^{15}N labelled ammonium chloride with a quantitative isotopic incorporation. This strategy is based on the growth of the microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* CC503 in a media containing $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ as the only nitrogen source. The use of the wall-deficient strain CC503 cw92 mt+ is essential as it only assimilates ammonia as nitrogen source and the extraction of metabolites is very simple. After the extraction of intracellular polar metabolites, an untargeted workflow was employed for their identification. This workflow made use of MetExtract II [3], a software dedicated to (untargeted) identification of labeled compounds, and required the independent measurement of natural and labeled extracts and the measurement of an equimolar mixture of them. For this, a standardized untargeted metabolomics workflow using HILIC separation and MS/MS detection with Orbitrap was used. A total of 74 labeled metabolites of the primary N-metabolome (amino acids, nucleobases and other N-containing compounds) were identified with a high degree of confidence.

1. Rampler, E., Anal. Chem. 93(1) (2020) 519, 2. Wasito, H., Anal. Bioanal. Chem. (2021) 1, 3. Bueschl, C. Anal. Chem. 89(17) (2017) 9518



Development of a method for the determination of polyamines including N-acetylated forms in human saliva via benzoylation and gas chromatography-mass spectrometry

JAVIER PEÑA GONZÁLEZ, M^a Esther Fernández Laespada, Carmelo García Pinto, José Luis Pérez Pavón.

SALAMANCA, CIENCIAS QUÍMICAS, QUÍMICA ANALÍTICA, NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA, PLAZA DE LOS CAÍDOS S/N, 37008, SALAMANCA, javierpena@usal.es

A simple method for the determination of polyamines and their N-acetylated forms was developed using benzoyl chloride as derivatization reagent, and 1,6-diaminohexane (DAH) as internal standard, followed by liquid-liquid extraction with ethyl acetate. The organic extract was injected in a gas chromatograph using a programmed temperature vaporizer (PTV) and the determination and quantification was performed with a quadrupole mass spectrometer. There was no matrix effect with the proposed method, so internal standard calibration was used to quantify the corresponding derivatives. Good linear responses were obtained in the range from the limits of detection to 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ (50 $\mu\text{g L}^{-1}$ for spermidine), with correlation coefficients varying from 0.9591 to 0.9968. The limits of quantification (S/N=10) ranged 1.0-8.3 $\mu\text{g L}^{-1}$. Recoveries were found between 82-117%, showing the good accuracy of the proposed method. Intra- and inter-day precision assays, expressed as relative standard deviation (RSD) were evaluated at two different concentration levels (low and high), showing values in the range of 2.4-6.1% and 5.2-9.0% for repeatability and reproducibility, respectively (6.9-9.7% and 14.1-14.6% for spermidine). Successful determination of the studied polyamines and their N-acetylated forms was performed on the saliva of 17 volunteers.

, J. Peña, M. E. F. Laespada, C. G. Pinto and J. L. P. Pavón, Journal of Chromatography A, 2021, 1651, 462278.,



POINT-OF-CARE ANALYSIS OF METABOLIC, PROTEIC AND CELLULAR MARKERS IN URINE USING INFRARED SPECTROSCOPY.

DAVID PEREZ-GUAITA, ANGEL SANCHEZ-ILLANA, FRANCISCO JOSÉ VALERO MENA, IRIS VIEJO BOYANO, MIGUEL DE LA GUARDIA CIRUGEDA.

UNIVERSIDAD DE VALÈNCIA, QUÍMICA, QUÍMICA ANALÍTICA, C/ Dr Moliner 50, 46100, Burjassot, david.perez-guaita@uv.es

The era of big data and personalised medicine is destined to revolutionise the clinical field and dramatically improve the health of individuals and societies. This new health paradigm requires analytical tools which could be used extensively, providing rapid information about several clinical parameters simultaneously with a cost close to zero. This kind of analysis is especially useful in the case of minimally invasive samples such as urine, which do not require complex extraction procedures enabling screening and continuous monitoring.

In the previous decades, Infrared (IR) spectroscopy has shown great potential in quantifying clinical Parameters and diagnosing disease. Biochemical components absorb IR light at specific wavelengths and the features of resulting spectrum can be related to the presence and concentration of biological molecules and thus, IR bands can be related to the presence of disease markers or be used by themselves as spectral markers. Here we present different strategies for the discovery of spectral markers in urine by integrating Internal Reflection Elements (IREs) and simple separation steps such as protein ultrafiltration (1) and cytocentrifugation (2) techniques. The separation allows the independent measurement of the spectra of the metabolic, proteinic and cellular fraction, increasing both selectivity and sensitivity.

As a proof of concept of the proposed methodologies, we present different examples where chemometric procedures were used to treat the spectra from fractions of urine to provide potential diagnostic tools. This includes the discrimination between samples from controls and patients with prostate cancer using the spectrum of dried urine, the quantification of microalbuminuria from spectra of the urine protein extract or the measurement of the spectrum of cells by integrating cytocentrifugation and Attenuated Total Reflectance.

[1] Perez-Guaita et al, Anal. Chem. 92 (2020), 2409-2416, [2] Perez-Guaita et al, Lab Chip 24 (2021), 4743-4748,



Lateral flow immunoassay for extracellular tumor marker detection

Gabriel Pino-Peco, Clara Saweres-Argüelles, José María Duque, Guillermo García-Santos, María Fernández-Hevia, Luis Sánchez, Luis García-Flórez, Esther Serrano-Pertierra, Gemma Gutiérrez, María Matos, María Carmen Blanco-López.

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica, Departamento de Química Física y Analítica, Instituto de Biotecnología de Asturias, University of Oviedo, 33006, Oviedo, gabrielpinopeco@gmail.com

Over the last decade, extracellular vesicles (EVs) have been a priority in biomedical research. They are naturally released by the cells and have proven to be key mediators in extracellular communication in physiological and pathological conditions. It is known that both their number and composition are altered in cardiovascular, neurodegenerative and tumoral diseases. EVs can be found in any kind of biological fluid and contain biomarkers related to the cell of origin. Thus, they constitute a novel source of biomarkers for non-invasive diagnosis, prognosis and monitoring of several diseases, as well as a drug delivery system for personalized therapies.

Consequently, there is a need for quantification and characterization methods of these vesicles by means of rapid, sensitive, and cost-effective devices. In this line, our research group developed a lateral flow immunoassay (LFIA) for biomarkers in EVs (1) and has already employed them successfully in conditions such as chronic fatigue syndrome (2).

In this work, we have developed a LFIA capable of detecting circulating EV-CD326+ in patients at different stages of colorectal cancer (CRC) to evaluate its potential as a diagnostic tool. In the recent years, different proteins present in the membrane of EV have been reported to be altered in CRC cell lines. CD326 is a glycoprotein typically expressed by cancers originating from epithelial tissue, hence it is a good candidate to detect circulating EVs derived from CRC at different stages.

Plasma-derived EV were isolated by using a precipitation reagent and subsequently analyzed by LFIA. EV were first detected using an anti-CD63 antibody, which recognizes a tetraspanin stably expressed on the membrane of EV. The detection antibody was coupled to gold nanoparticles, which were used as reporter labels. As capture antibody, anti-CD326 was dispensed on the nitrocellulose membrane. The samples were allowed to run for 15 minutes, and only 1 μ l of the freshly isolated EV fractions was required to obtain a visual signal.

The development of this rapid and easy-to-use assay may contribute to detect tumor markers in circulating EV for the diagnosis and patient's prognosis. In addition, this detection would not require invasive techniques and could be considered as a liquid biopsy.

Acknowledgements: This work was funded by the Ministerio de Ciencia y Tecnología, grant number MCI-21-PID2020-119087RB-I00 and by Principado de Asturias (FICYT, PCTI 2018-2022), under the grant number SV-PA-21-AYUD/2021/52132. Support from the European Regional Development Fund (ERDF) is gratefully acknowledged.

(1) M. Oliveira-Rodríguez, et al. Biosens. Bioelectron. 87 (2017) 38-45., (2) Jesús Castro-Marrero, et al. J Extracell Vesicles (2018) 7: 1453730,



Estudios mediante fluorescencia molecular de aminas biógenas aromáticas

María Isabel Rodríguez-Cáceres, Nielen María Mora-Díez, Carmen Mena-Iglesias.

Universidad de Extremadura, Facultad de Ciencias, Química Analítica, Avenida Elvas, S/N, 06006, Badajoz, maribelro@unex.es

Las aminas biógenas están presentes de manera natural en organismos vivos, alimentos y bebidas (1). El interés de su detección y cuantificación se debe a que, desde el punto de vista alimentario, son un indicador de frescura, por lo que su cuantificación puede ser utilizada como control de calidad. Sin embargo, a elevadas concentraciones pueden desencadenar intoxicaciones alimentarias como la conocida “reacción al queso”, provocando hipertensión por la ingesta de queso con elevada concentración de tiramina (2).

La revisión bibliográfica realizada pone de manifiesto la dificultad de determinarlas por técnicas espectroscópicas como absorción o fluorescencia molecular. Es por ello por lo que se recurre a la modificación química de sus estructuras, mediante la derivatización (3).

En este trabajo se realizó un estudio espectrofluorimétrico de Tiramina y Feniletilamina. Se registraron sus espectros de excitación y emisión. A continuación, se realizó un estudio de los factores que podrían alterar la señal de fluorescencia de estas dos aminas biógenas. El primero de ellos fue el pH. En este estudio se observó que la señal de fluorescencia era máxima para la tiramina en el rango de pH de 3 a 6, mientras que para feniletilamina la máxima señal se obtenía entre pH 4 y pH 7. Además, se observó que, a igualdad de concentración, la señal de tiramina era más alta que la de feniletilamina.

Se ensayó también cómo influía la presencia de metales en la intensidad de fluorescencia de los dos analitos, probando un total de 9 metales, observándose ligeras variaciones en el caso de tiramina con la mayoría de los metales, excepto en presencia de Fe(III) en cuyo caso la señal se perdía al aumentar la concentración del metal. Para la feniletilamina, se observó un quenching de fluorescencia con todos los metales excepto con Zr(IV). Se probó también cómo influía la presencia de ciclodextrinas en el medio en la intensidad de fluorescencia de los dos analitos, observándose que sólo en el caso de la interacción de α -ciclodextrina con tiramina, se produjo un aumento de la señal. Finalmente, se probaron también diversos surfactantes, no encontrando variación de la señal analítica con ninguno de ellos.

Los autores agradecen la financiación de este trabajo al Proyecto PID2020-112996GB-I00 (Agencia Estatal de Investigación) y al IB20016 (Consejería de Economía, Ciencia y Agenda Digital - Junta de Extremadura), ambos proyectos cofinanciados por los Fondos Europeos FEDER; y a la ayuda al Grupo de Investigación ANAYCO GR21048 (Junta de Extremadura).

1. C. Ruíz-Capillas, F. Jiménez-Colmenero. Crit Rev Food Sci Nutr 44 (2004) 489-599., 2. M.C. Vidal-Carou, F. Titus, R. Guayta-Escobies. Food Control 13 (2010) 519-524., 3. H. Yoon, J.H. Park, A. Choi, H.-J. Hwang, J.-H. Mah. Tox. Res. 31 (2015) 299-305.



Metabolómica de Alto Rendimiento y Amplia Cobertura para la Determinación de Compuestos Fenólicos en Muestras Alimentarias y Biológicas

Ana Sayago, Raúl González-Domínguez, María Santos-Martín, Ángeles Fernández-Recamales, Ana Sayago.

Universidad de Huelva, Facultad de Ciencias Experimentales, Departamento de Química, Av. Fuerzas Armadas, sn, 21007, Huelva, raul.gonzalez@dqcm.uhu.es

Los compuestos fenólicos juegan un papel crucial en las propiedades organolépticas, nutricionales y bioactivas de los alimentos de origen vegetal. El contenido de estos fitoquímicos puede verse influenciado por múltiples factores, incluyendo la variedad botánica, origen geográfico, condiciones de cultivo y técnicas de procesado de los alimentos. Asimismo, la determinación de estos compuestos en muestras biológicas es de gran utilidad para la búsqueda de biomarcadores de ingesta de alimentos. En este campo de estudio, la espectrometría de masas es actualmente la técnica más ampliamente utilizada por su sensibilidad y selectividad, aunque su habitual alto coste, limitada reproducibilidad y falta de disponibilidad en muchos laboratorios analíticos dificulta su implementación de forma rutinaria.

En este trabajo, describimos la optimización y validación de un novedoso y robusto método metabolómico de alto rendimiento para la determinación de un amplio espectro de compuestos fenólicos. Este se basa en la aplicación de cromatografía líquida de ultra alta resolución de fase inversa acoplada a un detector de diodo array, permitiendo la identificación y cuantificación de 69 polifenoles y metabolitos relacionados en cortos tiempos de análisis. El método fue satisfactoriamente validado en términos de linealidad, sensibilidad, efecto matriz, exactitud, precisión intra- e inter-día, especificidad, y contaminación cruzada. Asimismo, demostró excelente aplicabilidad para estudiar los perfiles fenólicos de diversas muestras alimentarias (aceite de oliva, vino tinto, fresa) y biológicas (orina). Además de los metabolitos diana considerados durante la optimización, el método también permite la detección y semi-cuantificación de otros compuestos fenólicos tentativamente identificados en base a sus característicos espectros de absorción.

En resumen, el método aquí desarrollado representa una excelente alternativa para el análisis de polifenoles y metabolitos derivados de forma rápida, simple y económica, mejorando significativamente los tiempos de análisis y la cobertura analítica proporcionada por otros métodos basados en RPLC-DAD publicados anteriormente, que generalmente requieren de tiempos de análisis más prolongados (30-120 minutos) para la determinación de un menor número de compuestos fenólicos (menos de 20-30). Por tanto, este nuevo método tiene potencial aplicabilidad en ciencia de alimentos con el fin de garantizar su calidad, seguridad, autenticidad y trazabilidad, así como en estudios de nutrición y descubrimiento de marcadores de ingesta de alimentos.



Influence of oncometabolites in the response to cisplatin induced DNA damage.

L.M. Sierra, E. Álvarez-González, R. Cué, L. Celada, L. Gutierrez-Romero, MD. Chiara, E. Blanco..

Universidad de Oviedo, Facultad de Medicina, Departamento de Biología Funcional, C/ Julián Clavería s/n, 33006, Oviedo, uo239407@uniovi.es

Mutations in genes encoding Krebs cycle enzymes, such as succinate dehydrogenase (SDH) and fumarate hydratase (FH), result in the accumulation of their respective metabolites, succinate and fumarate. This accumulation produces a deregulation of the energetic metabolism and leads to the development of a tumoral phenotype. Besides, through the alteration of chromatin structure, by inhibiting histone and DNA demethylases, these metabolites might modify DNA repair and, then, influence cancer treatments, like chemotherapy and radiotherapy.

In this work, we have used cells A2780, from ovary carcinoma and sensitive to cisplatin, and GM04312, from human fibroblasts mutant for the XPA gene and deficient in the nucleotide excision repair (NER) system, to check the influence of succinate and fumarate oncometabolites in the response to the DNA damage induced by 3 hours treatment with 20 μ M of cisplatin. In this DNA damage response (DDR) we have analysed viability, cell cycle progression, apoptosis, clonogenic activity, genomic instability (with the comet assay), and the presence of cisplatin adducts in the DNA with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS). In addition, the presence of the proteins SDHB and FH were determined by immunofluorescence.

Results show that, in GM04312 cells, both in one hour pre-treatment and co-treatments with these metabolites, the percentage of Tail DNA (used as a measure of DNA damage) was increased by the highest oncometabolite concentrations. In addition, these concentrations also increased the DNA-bound platinum, suggesting that the accumulation of oncometabolites prevents the repair of some of the cisplatin-induced DNA damage.

In A2780 cells, results show that the oncometabolites, in the conditions and concentrations tested, did not induce relevant mortality, did not modify cell cycle progression or apoptosis, and did not influence clonogenic activity, but cisplatin did. As in GM04312 cells, the cisplatin-induced DNA damage measured with the comet assay is checked against the DNA-bound platinum, to confirm the possible effects of oncometabolites on the repair of the induced DNA damage.

..



Estudios volatolómicos en suero y orina para la identificación de biomarcadores de diagnóstico de cáncer de páncreas y el seguimiento de la evolución de la enfermedad

María Teresa Tena Vázquez de la Torre, María Pilar Martínez-Moral, Alfonso Martín Carnicero, Alfredo Martínez Ramirez.

Universidad de La Rioja, Facultad de Ciencia y Tecnología, Departamento de Química, c/ Madre de Dios 53, 26006, Logroño, maria-teresa.tena@unirioja.es

El adenocarcinoma de páncreas (PAC) es uno de los tumores con peor pronóstico. Su detección suele ser tardía debido a la ausencia de síntomas en las primeras etapas de esta patología y a la falta de técnicas de diagnóstico específicas. Para su diagnóstico se usan pruebas de imagen y biomarcadores tumorales generales como el antígeno carbohidrato 19-9 (CA 19-9) o el antígeno carcinoembrionario (CEA), ninguno de los dos específicos para el PAC. Dado que la única posibilidad real de curación pasa por la cirugía, el diagnóstico precoz es uno de los objetivos primordiales en la investigación biomédica actual. Desgraciadamente, en el momento actual no existen biomarcadores que permitan realizar una adecuada estrategia de cribado.

En los fluidos corporales se pueden detectar compuestos orgánicos volátiles (VOC) que son productos derivados del metabolismo celular que reflejan los cambios metabólicos generados en situaciones fisiológicas y patológicas. Para la determinación de los VOC en este tipo de muestras se ha elegido la microextracción en fase sólida del espacio de cabeza y la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Esta técnica permite el procesado directo de las muestras sin ningún tipo de tratamiento de muestra previo. Para la identificación tentativa de los compuestos se ha utilizado la librería NIST. En un estudio control-caso previo [1] se pudo establecer un perfil volatolómico en muestras de suero que permitía discriminar a una persona sana de otra afectada por PAC con excelentes resultados predictivos (AUC 0.86).

En esta comunicación se presentan los resultados preliminares de un estudio volatolómico con muestras de orina que también ha permitido discriminar entre individuos sanos y pacientes con PAC. Los 5 VOC candidatos a biomarcadores de diagnóstico proporcionaron curvas ROC con valores de AUC entre 0.840 y 1.000. Además, se discuten las diferencias entre los perfiles volatolómicos de las muestras de suero y orina.

Por último, se presentan los resultados de la evolución de estos VOC candidatos a biomarcadores de diagnóstico en muestras de suero de enfermos de PAC a lo largo del tratamiento de quimioterapia.

A. Hontañón. Actualidad Analítica. 67 (2019) 20., ,



Determinación simultánea de los biomarcadores de estrés oxidativo 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina y malondialdehído en muestras de suero. Aplicación a un estudio de estrés oxidativo inducido en ratones

María Teresa Tena Vázquez de la Torre, Pilar Martínez-Moral, Roberto Martínez Fernández, Miriam Bobadilla, Josune García-Sanmartín, Alfonso Martín-Carnicero, Alfredo Martínez Ramírez.

Universidad de La Rioja, Facultad de Ciencia y Tecnología, Departamento de Química, c/ Madre de Dios 53, 26006, Logroño, maria-teresa.tena@unirioja.es

La determinación de biomarcadores de estrés oxidativo (OSB) ha mostrado ser de gran utilidad para la evaluación del estado de salud y progreso de enfermedades en humanos, entre ellas las enfermedades neurodegenerativas [1] y el cáncer [2]. Hasta la fecha, la mayoría de los métodos existentes se centran en un solo biomarcador, y en ocasiones la selectividad de algunos de estos métodos no está garantizada. Recientemente, Martínez-Moral y Kannan [3] han propuesto un método basado en la cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) para la determinación simultánea en orina de 19 biomarcadores de daño oxidativo y nitrativo en lípidos, proteínas y ADN.

En esta comunicación se presentan los resultados del desarrollo y la validación de un método que permite la determinación simultánea de dos compuestos: el malondialdehído (MDA) y la 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG) en muestras de suero. Estos compuestos son biomarcadores del daño producido por estrés oxidativo a los ácidos grasos poliinsaturados y al ADN, respectivamente. El objetivo inicial de este desarrollo es su implementación para evaluar el nivel de estrés oxidativo. Se ha considerado el uso de la mínima cantidad de suero posible con el objeto de poder aplicarlo en estudios con modelo animal, donde la cantidad de muestra es una importante limitación.

La determinación de MDA y 8-OHdG se realiza mediante UPLC-MS, después de un tratamiento de las muestras, minuciosamente optimizado, que consta de tres pasos. En primer lugar, una etapa de desproteínización del suero, que no era necesaria en las muestras de orina. A continuación, la derivatización del MDA con 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) para mejorar su detección dada su baja masa molecular y, por último, una etapa de extracción en fase sólida para eliminar componentes del suero y del medio de derivatización que puede afectar negativamente a la ionización de los analitos. El método desarrollado ha sido validado en términos de exactitud, precisión y sensibilidad, y finalmente aplicado a las muestras de un estudio animal de estrés oxidativo inducido.

A. Singh. Neurodegenerative Diseases Biomarkers. Neuromethods, vol 173. Cap. 6, Springer Nature, 2022., V. Aggarwal. Biomolecules 9 (2019) 735., M.P. Martínez-Moral. Anal. Bioanal. Chem. 414 (2022) 2103.



NOVEL BIM-RIV HYBRIDS AS PROMISING MULTITARGET COMPOUNDS FOR THE POTENTIAL TREATMENT OF ALZHEIMER'S DISEASE

David Vicente-Zurdo^{1,2}, Noelia Rosales-Conrado², María Eugenia León-González², Sílvia Chaves¹, M. Amélia Santos¹, Yolanda Madrid²

¹Universidade de Lisboa, Centro de Química Estrutural, Institute of Molecular Sciences, Instituto Superior Técnico, Av. Rovisco Pais 1, 1049-001, Lisboa, Portugal, davidvic@ucm.es

²Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Avenida Complutense, s/n, 28040 Madrid, davidvic@ucm.es.

Alzheimer's disease (AD) is the most prevalent neurodegenerative disorder, affecting around 50 million people nowadays [1]. Since its aetiology is very diverse, recent strategies to find drugs for the AD treatment have been mainly focused on the development of multitarget compounds [2]. While rivastigmine is a good inhibitor of cholinesterases [3], the hydroxyphenylbenzimidazole moiety has both antioxidant and metal chelation properties, as well as good inhibitory capacity of amyloid aggregation.

Pursuing the multitarget approach based on anti-AD drugs [2], neuroprotective properties of seven novel hybrids namely 4a, 4b, 4c, 4d, 5a, 5b and 5d, conjugating a hydroxyphenylbenzimidazole unit and the rivastigmine active moiety (BIM-RIV) were studied. Molecular modelling was performed to estimate their suitability as cholinesterase inhibitors. Pharmacokinetic parameters of these compounds were predicted *in silico* to estimate their drug-like properties. Bioanalytical properties were experimentally evaluated, including: acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BuChE) inhibition, radical scavenging activity, thorough the DPPH method, and inhibition of beta-amyloid protein (A β 42) aggregation in presence and absence of Cu(II), by ThT fluorescence and Transmission Electron Microscopy (TEM) assays.

While all compounds were better inhibitors of AChE ($EC_{50} < 30 \mu M$) than rivastigmine ($EC_{50} = 32.1 \mu M$), compounds 5a, 5b and 5d also demonstrated to be quite good inhibitors of BuChE ($EC_{50} < 0.9 \mu M$). Furthermore, the selectivity index ($SI = EC_{50}\text{-AChE}/EC_{50}\text{-BuChE}$) was high for all the evaluated compounds, compound 5b being more selective than rivastigmine ($SI(5b) > 100$, $SI(RIV) = 82$). Compounds 5a, 5b and 5d also showed good amyloid inhibition of self- (42.1-58.7%) and Cu(II)-induced (40.3-60.8%) aggregation, as well as more narrow (> 20%) amyloid fibrils for compounds 5b and 5d.

Therefore, the conjugation of RIV and BIM moieties in a unique molecular structure seems to donate the compounds with variable multi-target ability, thus contributing for further search on alternative therapies for AD.

Acknowledgements:

This work was supported by the Portuguese Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) (UID/UI/00100/2013, UID/UI/00100/2019), the Spanish Ministry of Science and Innovation (PID2020-114714RB-I00) and the Community of Madrid and European funding from FSE and FEDER programs for financial support (S2018/BAA-4393, AVANSECAL-II-CM). Authors acknowledge the Portuguese Mass Spectrometry Networks (Node IST-CTN), the Portuguese NMR (IST-UL Center) and the Spanish National Center of Electronic Microscopy (CNME) for the use of their services. D.V.Z. acknowledges the Spanish Ministry of Science, Innovation and Universities for funding through a pre-doctoral grant (FPU18/00573) and to the Erasmus+ program for the international fellowship

[1] A. Wilmo, M. Guerchet, G.C. Ali, Y.T. Wu, A.M. Prina, B. Winblad, et al. *Alzheimer's and Dementia* 13 (2017) 1.

[2] S. Chaves, K. Varnagy, M.A. Santos, *Curr. Med. Chem.* 28 (2021) 7247.

[3] J. M. Long, D. M. Holtzman. *Cell* 179 (2019) 312. 186



Estudio comparativo del comportamiento de un nuevo prototipo de nebulizador. Uso para análisis de ICP-MS en múltiples condiciones.

Mario Corte Rodríguez¹, Braulio Gañán Riesco², Jörg Bettmer¹, Marcos Barrera Pinilla², María Montes Bayón¹

¹Universidad de Oviedo. Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA), Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica Analítica, Av. Julián Clavería 8, 33006 Oviedo, cortemario.uo@uniovi.es.

²Ingeniatrics, P.I. Parque Plata, C/Camino Mozárabe 41, 41900 Camas, Sevilla, marcos.barrera@ingeniatrics.com.

Si hay una parte olvidada en la optimización de los equipos de ICP-MS son los sistemas de introducción de muestras. En este sentido, en los últimos años han aparecido en el mercado algunos de estos sistemas dedicados al análisis de células y/o partículas individuales. Sin embargo, todos ellos y, especialmente, los nebulizadores, se basan en diseños de vidrio cuyas características se evalúan una vez han sido fabricados. Además, los rangos de trabajo óptimos de los nebulizadores tradicionales vienen, generalmente, definidos por su diseño, y alejarse mucho de ellos lleva, en general, a un empeoramiento de la calidad del aerosol y, por lo tanto, de la medida. Esto es especialmente crítico en aplicaciones para análisis de partículas y células individuales, donde parámetros como la eficiencia de transporte se vuelven muy relevantes para el éxito de este tipo de medidas. Pero la importancia de producir un aerosol formado por gotas pequeñas y monodispersas afecta también a la sensibilidad de las medidas de iones en disolución, ya que una mayor eficiencia de transporte en las condiciones de trabajo significará, generalmente, una mayor porción de la muestra que es analizada y, por lo tanto, una mayor sensibilidad.

En este trabajo se muestra la caracterización de un nuevo prototipo de nebulizador de teflón diseñado a partir de estudios previos de dinámica de fluidos *in silico* para, así, optimizar el tamaño y la dispersidad de las gotas que se generan durante la nebulización. Esto permite obtener gotas más pequeñas y uniformes, lo que, a su vez, mejora la respuesta del equipo de ICP-MS. Frente a los nebulizadores de vidrio convencionales, el nebulizador diseñado permite un amplio rango de condiciones de trabajo, en términos de caudal de la muestra (se ha demostrado su eficacia desde 10 $\mu\text{L min}^{-1}$ hasta 0.4 mL min^{-1}), como de gas de nebulización. Esto permite la utilización de un mismo nebulizador para diversas aplicaciones, que van desde el uso del ICP-MS como detector cromatográfico, hasta su uso para análisis de tipo single particle o single cell. Además, es un nebulizador robusto, irrompible en condiciones de trabajo normales, con bajos efectos de memoria y compatible con cámaras de nebulización convencionales y de single-cell.

Para la caracterización del nuevo nebulizador, se comparará su rendimiento en términos de sensibilidad y eficiencia de transporte con los rendimientos de sistemas convencionales que utilizan condiciones de trabajo similares. Esta comparación se llevará a cabo utilizando, por un lado, análisis convencional de iones en disolución y, por otro, mediante análisis de células y partículas individuales mediante single-cell-ICP-MS y single-particle-ICP-MS.



Understanding the desorption step in dielectric-barrier discharge (DBD)-based ambient MS methods through a quantitative approach

Juan Francisco García Reyes, Odhisea Gazeli, Marcos Bouza, David Moreno-González, Charalambos Anastassiou, George E. Georgiou, Sebastian Brandt, Joachim Franzke, Antonio Molina-Diaz.

University of Jaén, Department of Physical and Analytical Chemistry, Analytical Chemistry Research Group (FQM-323), Campus Las Lagunillas, s/n, 23071, Jaén, jfgreyes@ujaen.es

Ambient mass spectrometry refers to a suite of sampling methods in mass spectrometry that allows ions to be generated from condensed phase samples under ambient conditions and then, collected and analysed by mass spectrometry. One of their key advantages rely on the ability to allow the interrogation of samples with minimal to no sample workup. The desorption step in ambient mass spectrometry, - concerted or decoupled with ionization- triggers the transfer of sample (analytes) from the condensed phase or surface to the gas-phase. Depending on the type of method, the desorption is caused due to momentum transfer, ultrasound, thermal energy, or laser pulses amongst other means. In the case of plasma-based methods, thermally-assisted desorption is the most commonly discussed route for analyte desorption, and, although often postulated, there are no clear evidence on other mechanism related to high-energy species created in the discharge.

This study addresses the assessment of a protocol to allow the absolute quantitation of desorption step during plasma-based ambient MS experiments. As a proof-of-principle, the desorption efficiency of low-temperature plasma (LTP), dielectric barrier discharge ionization (DBDI), and flexible microtube plasma (F μ TP) were measured. Model analytes such as caffeine, thiabendazole, arginine or atrazine have been selected to study the impact of the different variables on the desorption efficiency using absolute analyte amounts in the range from 50 picograms to 20 nanograms. Samples were deposited in a glass substrate and let to dry. Then, they were exposed to different plasma-based sources and conditions. After redissolving samples of the sample spot with an appropriate solvent, quantitative data was performed using a Thermo TSQ Quantiva triple quadrupole mass spectrometer. Selected preliminary experiments have been completed using pesticides, aminoacids, and other compounds of interest demonstrating the ability to quantitatively measure the amount of analyte desorbed, finding subtle changes when different variables such as probe angle, discharge gas nature, applied voltage or exposure time. The final aim of this approach is to study which are the plasma conditions using DBDs that leads to an improved desorption, and also decipher which are the actual species or phenomenon primarily involved in the desorption step of DBD-plasma based ambient ionization methods. This might be deciphered combining plasma diagnostic tools (e.g. time- and temporally resolved spectroscopic emission measurements) with the actual quantitative data from the desorption efficiency.

..



¿Es posible independizar el perfil cromatográfico del estado del cromatógrafo? Hacia la "agnostización" de señales instrumentales en cromatografía de gases

M^a Soledad Medina Vázquez, F. Ortega Gavilán, S. Martín Torres, A.M. Jiménez Carvelo, A. González Casado, M.G. Bagur González, L. Cuadros Rodríguez.

Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, C/ Fuentenueva, s/n, , Granada, solemedina@ugr.es

La transferencia de señales cromatográficas y la creación de bases de datos universales se ve limitada por la dependencia de dichas señales con el equipo de medida, con el laboratorio y con el momento en que fueron obtenidas. Este hecho supone una problemática cuando se desea comparar cromatogramas de una misma muestra, ya que estos pueden presentar diferencias evidentes. La solución sería estandarizar las señales de modo que fueran independientes del instrumento o del estado del mismo. Por ello, sería bienvenida entre la comunidad analítica una metodología que permita lograr una armonización de señales cromatográficas.

En esta comunicación se presenta una propuesta, centrada en cromatografía de gases. Para disminuir la influencia del cromatógrafo, se propone el uso de estándares químicos, constituidos por una mezcla de patrones internos y externos que son analizados en la misma tanda cromatográfica junto con las muestras en estudio. Cada tipo de estándar se utiliza para normalizar una característica de la señal: la intensidad y los tiempos de retención.

La normalización de la intensidad (o escalado de la señal) se lleva a cabo dividiendo cada uno de los valores de intensidad entre el valor de intensidad máxima de la señal de referencia para corregir fluctuaciones ocasionales del detector durante el análisis. Aunque habitualmente se emplea un único patrón interno, se recomiendan el uso de al menos dos patrones suficientemente distanciados en tiempo y así abarcar un amplio intervalo de tiempos del cromatograma. Una vez normalizada dicha intensidad, todos los valores quedan comprendidos entre 0-1.

La normalización de la retención (o alineamiento de la señal) se basa en la verificación de las desviaciones de los valores experimentales de los tiempos de retención de un conjunto de estándares químicos con respecto a ciertos valores previamente asignados, para transferir el mismo comportamiento al resto de señales adquiridas en la misma tanda cromatográfica. Para ello se emplea un patrón externo constituido por una mezcla de compuestos químicos convenientemente seleccionados, analizados al principio y al final de cada tanda cromatográfica. Es aconsejable que esté compuesta por una serie homóloga funcional de compuestos químicos bien identificados y suficientemente puros.

Como ejemplo de la metodología propuesta, se analizaron dos fracciones significativas de aceite de oliva virgen (compuestos volátiles y triacilgliceroleos) mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Los resultados se mostrarán en la correspondiente comunicación.

L. Cuadros Rodríguez, F. Ortega Gavilán, S. Martín Torres, S. Medina Rodríguez, A.M. Jiménez Carvelo, A. González Casado & M.G. Bagur González, J. Chromatogr. A. 1641 (2021) 461983., ,



Synthesis and characterization of controlled size starch nanoparticles modified with Octenyl Succinic Anhydride (OSA)

Diana Morán Tuya, Gemma Gutiérrez, Marilyn Rayner, Ali Marefati, Maria del Carmen Blanco, María Matos.

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente, Avenida Julián Clavería, 8, 33006, Oviedo, morandiana@uniovi.es

Starch nanoparticles (SNPs) have attracted lots of attention in recent years due to their unique properties as a sustainable alternative to common nanomaterials since the starch is a natural polymer, abundant in nature, whose production has a low cost, and it is also biodegradable and biocompatible with the environment [1].

SNPs are obtained from starch granules through different synthesis methods that involve both physical and chemical processes, as a combination of both. Two of the most used techniques for the SNPs synthesis are nanoprecipitation [2] and microemulsion methods [3]. These two processes offer numerous advantages as they are gentle chemical techniques in where large amounts of toxic solvents or external power sources are not required [2]. Also, these methods allow to easily control the final shape, size and monodispersity of the SNPs because of the synthesis method and operation conditions influence the required physical properties for their final applications.

The aim of this work was to develop effective and sustainable formulations based on size-controlled modified SNPs through the nanoprecipitation method and their characterization through different analysis techniques.

SNPs were synthesized using starches from different botanical source (rice, quinoa and amaranth) chemically modified with OSA with different degrees of substitution (0, 0.6, 1.2, 1.8, 2.4 and 3%) in order to optimise the final size, surface charge and shape. The SNPs were characterised in terms of size, morphology, monodispersity, zeta potential and crystallinity. Size and charge were determined by DLS (Malvern Nanozetasizer), shape by SEM and the predominant crystallinity of both starch granules and SNPs was characterised by XRPD. SNPs with range of sizes between 37 nm to 54 nm were obtained when quinoa starch was used, between 44 nm to 59 nm when rice starch and between 56 nm to 116 nm when amaranth starch was used. For all starches higher zeta potential was obtained at higher degree of modification, varying from -2 mV to -30 mV. Also, FTIR was used in order to determine if the synthesis method affected the OSA modification.

D. Morán, G. Gutiérrez, M. Rayner, M.C. Blanco-López and M. Matos, Appl. Sci. 2021, 11, 4547, S.F. Chin, S.C. Pang and S.H. Tay, Carbohydr. Polym. 86 (2011) 1817- 1819, S.F. Chin, A. Azman and S.C. Pang, Carbohydr. Polym. 86 (2011) 1817-1819



Desarrollo de nuevas fases estacionarias basadas en impresión 3D para la determinación de ácidos perfluoroalquílicos de cadena corta

Carlos Pagan-Galbarro, Enrique Javier Carrasco-Correa, Manuel Miró-LLadó.

Universitat de les Illes Balears, Ciencias, Química Analítica, Cra. de Valldemossa, km 7.5, 07122, Palma de Mallorca, carlos.pagan@uib.es

Debido al incremento industrial y a la persistencia de los ácidos perfluoroalquílicos (PFAs) en los últimos años, estos han pasado a ser considerados contaminantes emergentes. El método más habitual para la determinación de estos compuestos independientemente de la matriz es la combinación de una extracción en fase sólida (SPE) seguida de una cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS). Sin embargo, esta metodología solo es aplicada a ácidos perfluoroalquílicos de cadena larga [1]. En este trabajo se han estudiado PFAs de cadena corta (3, 4 y también 8 carbonos) adaptando la extracción en fase sólida a un nuevo formato que utiliza dispositivos impresos en 3D acoplados a un sistema de análisis por inyección secuencial (SIA). Dichos dispositivos contienen un monolito, basado en glicidil metacrilato y etilenglicol dimetacrilato, que es anclado in-situ covalentemente a las paredes del mismo [2]. Además, la capacidad de funcionalizar el polímero con una gran variedad de grupos funcionales permite la posibilidad de obtener fases estacionarias específicas para los PFAs. En este trabajo, los dispositivos impresos 3D se han funcionalizado con grupos que otorgan dos tipos de interacciones intermoleculares: iónicas como pueden ser el amoniaco o dietilamina y Van der Waals, como por ejemplo cadenas alifáticas de 4 carbonos (butilo) o 16 carbonos (hexadecilo). Para la cuantificación de los analitos se ha usado cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con un detector de fluorescencia. Sin embargo, los PFAs no presentan fluorescencia intrínseca por lo que se han derivatizado a posteriori de la extracción con 3-bromoacetilcumarina [3]. Los resultados experimentales indican un incremento de la capacidad extractiva de los dispositivos fluidicos impresos en 3D cuando presentan grupos amino en la estructura de la fase estacionaria y un ligero descenso cuando se añaden grupos con interacciones de Van der Waals. Estos resultados muestran como los grupos alifáticos impiden una adecuada interacción entre los PFAs y el grupo amino del monolito funcionalizado. Por otra parte, es importante destacar que el polímero derivatizado con aminas secundarias presenta mejores eficacias de extracción que el equivalente, pero con amina primarias.

Agradecimientos: Carlos Pagán-Galbarro, Enrique Javier Carrasco-Correa y Manuel Miró agradecen a la Agencia Española de Investigación (AEI) y al Ministerio de Ciencia e Innovación (MICINN) por el proyecto PID2020-117686EB-C33/10.13039/50110011033. Los autores también extienden a la Spanish Network of Excellence in Sample Preparation (RED2018-102522-T) concedida por MICINN.

[1] N. Yamashita, K. Kannan, S. Taniyasu, Y. Horii, T. Okazawa, G. Petrick, T. Gamo, *Environmental Science & Technology*, 38 (2004) 5522-5528., [2] E.J. Carrasco-Correa, D.J. Cocovi-Solberg, J.M. Herrero-Martínez, E.F. Simó-Alfonso, M. Miró, *Anal. Chim. Acta*, 1111 (2020) 40-8., [3] E. Pobozy, E. Król, L. Wójcik, M. Wachowicz, M. Trojanowicz, (2011). *Microchimica Acta*, 172 (2011) 409-417



Assessment of the water adsorption capacity of HILIC columns

Lidia Redón, Xavier Subirats, Martí Rosés

Universitat de Barcelona, Facultat de Química, Departament d'Enginyeria Química i Química Analítica, Martí i Franquès, 1-11, 08028 Barcelona, lidiaredon@ub.edu.

Over the last years, Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography (HILIC) has become increasingly popular for the separation of polar and ionizable compounds. HILIC employs mixtures of water-miscible organic solvents and aqueous buffers as mobile phase in combination with a polar bonded phase (or even bare silica). Some water from the eluent is adsorbed on the chromatographic support and the polar bonded phase creating an immobilized water layer, followed by several semi-adsorbed water-rich transition layers towards the bulk mobile phase.

The retention mechanism involved in HILIC is complex and still understudy but is commonly believed that is based on the solutes partition between the bulk mobile phase and the water-rich transition layers which actually act as the real stationary phase in HILIC. The volume and composition of these water-rich layers depends on the particular conditions employed, such as functionalization and support (silica or polymer), percentage of water (or buffer) in the eluent, type of organic solvent, etc. The aim of the present work is to propose a methodology to evaluate the water adsorption capacity of HILIC columns.

Several HILIC columns, all with silica support but different functionalization, were characterized: ZIC-HILIC (zwitterionic sulfobetaine), ZIC-cHILIC (zwitterionic phosphorylcholine), Luna NH2 (aminopropyl), Kinetex F5 (pentafluorophenyl), YMC-Pack PVA-Sil (polyvinyl alcohol), and YMC-Triart Diol-HILIC (1,2-dihydroxypropyl). Several hydroorganic mixtures of different composition containing acetonitrile or methanol as organic modifiers were employed as mobile phase [1].

The total solvent volume inside the column (flowing and adsorbed) was pycnometrically measured using as eluents pure solvents of sufficiently different densities since the solvent weight can be related to its volume and composition.

The mobile phase volume (hold-up volume) was obtained from a homologous series approach derived from the Abraham's solvation parameter model [2]. In addition, the retention of the homologous series, involving n-alkyl benzenes, n-alkyl phenones, and n-alkyl ketones, offers an insight into the main retention mode of a HILIC column. The water content in the eluent establishes the change from HILIC to RPLC mode: HILIC in mobile phases with a low content of water and RPLC in water-rich mobile phases. Even a dual HILIC-RPLC behavior is observed at intermediate mobile phase compositions.

Finally, from the difference between the total solvent volume (pycnometry) and the mobile phase volume (homologous series), together with the column weight, the volume and the mean composition of the water-rich transition layers for the different columns and mobile phases were estimated [3].

[1] L. Redón, X. Subirats, M. Rosés, *J. Chromatogr. A* 2656 (2021) 462543.

[2] X. Subirats, A. Justicia, M. Rosés, *J. Chromatogr. A* 1571 (2018) 176-184.

[3] L. Redón, X. Subirats, M. Rosés, *Anal. Chim. Acta* 1130 (2020) 39-48.



Characterization of HILIC systems: modelling retention and selectivity in an underivatized silica column

Xavier Subirats, Sílvia Cortés, Martí Rosés

Universitat de Barcelona, Facultat de Química, Departament d'Enginyeria Química i Química Analítica, MARTÍ I FRANQUES 1-11, 08028 BARCELONA, Xavier.subirats@ub.edu.

Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) is a modern mode of liquid chromatography complementary to reversed-phase liquid chromatography (RPLC), due to its ability to separate polar compounds. The retention mechanism in HILIC is more complex than in RPLC: the polar stationary phase adsorbs water from the mobile phase and several water-rich layers of graduated variable composition and mobility are formed between the column stationary phase surface and the bulk mobile phase. These water-rich layers are the main stationary phase.

The Abraham linear free energy relationship (LFER) model has been used to characterize a hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) silica column with acetonitrile/water and methanol/water mobile phases. Analysis by the model for acetonitrile/water mobile phases points to solute volume and hydrogen bond basicity as the main properties affecting retention, whereas solute hydrogen bond acidity, dipolarity and polarizability practically do not affect it. Formation of a cavity is easier in acetonitrile-rich mobile phases than in the aqueous stationary phases, and hence increase of solute volume decreases retention. Conversely, hydrogen bond acidity is stronger in the aqueous stationary phase than in the acetonitrile-rich mobile phase and thus an increase of solute hydrogen bond acidity increases retention. Results are similar for methanol/water mobile phases with the difference that solute hydrogen bond acidity is significant too. Increase in hydrogen bond acidity of the solute decreases retention showing that methanol mobile phases must be better hydrogen bond acceptors than acetonitrile ones, and even than water-rich stationary phases.

The results are similar to the ones obtained in zwitterionic HILIC columns bonded to silica or polymer supports for acetonitrile/water mobile phases, but different for solute hydrogen bond acidity for a polymer bonded zwitterionic column with methanol/water mobile phases, indicating that bonding support plays an important role in HILIC retention.

Comparison to RPLC characterized systems confirms the complementarity of HILIC systems to RPLC ones because the main properties affecting retention are the same but with reversed coefficients. The least retained solutes in RPLC are the most retained in HILIC.

Jandera, P., Janás, P.: Recent advances in stationary phases and understanding of retention in hydrophilic interaction chromatography. A review. *Anal. Chim. Acta.* 967, 12–32 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.01.060>

Poole, C.F.: Solvation parameter model: Tutorial on its application to separation systems for neutral compounds. *J. Chromatogr. A.* 1645, 462108 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462108>

Redón, L., Subirats, X., Rosés, M.: Volume and composition of semi-adsorbed stationary phases in hydrophilic interaction liquid chromatography. Comparison of water adsorption in common stationary phases and eluents. *J. Chromatogr. A.* 1656, 462543 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462543>



Reversed-phase liquid chromatography with micellar mobile phases of sodium dodecyl sulphate and ionic liquid

María José Ruiz Ángel, Marika Janczuk, Carlos Josué Tereba Mamani, Juan José Baeza Baeza, María Celia García Alvarez-Coque.

Universitat de València, Facultat de Química, Departamento de Química Analítica, c/Dr. Moliner 50, 46100, Burjassot, mjruiz@uv.es

Micellar liquid chromatography (MLC) was proposed as a “green” chromatographic mode, using mobile phases of water and surfactant without organic solvent [1]. However, in most reported procedures, which frequently employ sodium dodecyl sulphate (SDS) as surfactant, a small amount of organic solvent (which acts as co-surfactant) is required to decrease the retention of analytes to adequate values. Moreover, in the separation of basic compounds, the attraction of the cationic species to the stationary phase modified with the anionic surfactant demands the addition of a relatively high amount of propanol or acetonitrile, or even a more hydrophobic alcohol to increase the elution strength of the mobile phase. Recently, Peng et al. [2], proposed the use of ionic liquids in the formation of a microemulsion for liquid chromatographic, instead of the typical oil (as octane), with SDS and 1-butanol as surfactant and co-surfactant, respectively. These authors applied these new mobile phases to the analysis of acidic phenolic compounds.

We have applied recently an ionic liquid-based microemulsion to the analysis of basic compounds (β adrenoceptor antagonists), which are cationic, but the results were not satisfactory [3]. Also, the role of the co surfactant seemed irrelevant to get stable and clear mixtures. According to these results, we have suggested the use of methylimidazolium ionic liquids with either ethyl, butyl and hexyl cations combined with chloride and SDS to form micelles. The big advantage of these ionic liquid/surfactant mixtures is that no organic solvent is needed to modulate the retention of the cationic solutes. Meanwhile, the modulation is carried out due to adsorption on the stationary phase of both reagents (the cationic ionic liquid and the anionic surfactant that repels and attract, respectively, the cationic basic compounds).

An extensive study was performed with several basic compounds and a C18 stationary phase, by changing the concentration of both ionic liquid and surfactant, and their ratio in the mobile phase. The chromatographic performance was evaluated by determining the changes in retention, resolution and peak shape (width and symmetry). These results were also compared with those obtained using micellar mobile phases containing SDS and acetonitrile or propanol. This work revealed that ionic liquids are a serious alternative to obtain promising results in MLC without the need of organic solvents.

[1] A. Berthod, M.C. García-Alvarez-Coque, *Micellar Liquid Chromatography*, Marcel Dekker, New York, 2000., [2] Li-Qing Peng, Jun Cao, Li-jing Du, Qi-Dong Zhang, Yu-Tin Shi, Jing Jing Xu, *Analysis of phenolic acids by ionic liquid-in-water microemulsion liquid chromatography coupled with ultraviolet and electrochemical detector*, *J. Chromatogr. A* 1499 (2017) 132-139., [3] N. Pankajkumar-Patel, E. Peris-García, M.J. Ruiz-Angel, M.C. García-Alvarez-Coque, *Interactions of basic compounds with ionic liquids used as oils in microemulsion liquid chromatography*, *J. Chromatogr. A*, in press.



Characterization of HILIC systems: pH and buffer capacity in acetonitrile-rich mobile phases

Xavier Subirats, Laura Casanovas, Martí Rosés.

University of Barcelona, Faculty of Chemistry, Department of Chemical Engineering and Analytical Chemistry, Martí i Franquès 1-11, 08028, Barcelona, xavier.subirats@ub.edu

Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography (HILIC) is a separation technique especially suitable for the determination of hydrophilic polar analytes that are poorly retained in reversed-phase or scarcely soluble in the organic eluents used in normal-phase. The main retention mechanism in HILIC is based on the partition of solutes between an organic solvent-rich mobile phase and a (partially) immobilized water-rich stationary phase sorbed on the bonded phase and chromatographic support (typically silica particles).

Since the retention of analytes with acid/base properties retention depends on their ionization degree, affecting thus the chromatographic selectivity and reproducibility, it is necessary to use buffered mobile phases. However, the pH measurement in acetonitrile-rich solutions is not straightforward (there are three different possible pH scales providing different pH values), and the pKa variation of buffering species with the content of organic solvent must be taken into account to in order to prepare mobile phases with a reasonable buffer capacity.

In this work, the acidity constants of the most common buffers used in HILIC (acetic acid/acetate, formic acid/formate and ammonium/ammonia) and also pyrrolidine were examined in the range from 0 to 90% acetonitrile (in volume) and potentiometrically determined at 25 oC when necessary. This allowed the modelling of the pH variation taking place when acetonitrile is added to the aqueous buffers to prepare the mobile phase, which in a binary or quaternary pump is commonly automatically performed by the instrument. For neutral acids (acetic and formic) the pKa is shifted to higher values with the acetonitrile content, and thus the pH range of reasonable buffer capacity is correspondingly displaced. The reversed trend is observed for the cationic acid (ammonium). Consequently, buffers prepared from salts consisting of a neutral acid and a neutral base (ammonium acetate) show a strengthened buffer capacity at intermediate pH values in acetonitrile-rich solutions, due to the shortening of the distance between their pKa values with the addition of the organic modifier. Finally, the solubility of ammonium acetate at 90% acetonitrile was conductimetrically assessed at 25 oC.

X. Subirats, M. Rosés, E. Bosch. *Sep. Purif. Rev.*, 36 (2007) 231-255., X. Subirats, M. Rosés, E. Bosch. *Cromatografía y Técnicas Afines*, 30 (2009) 15-30., T. Alvarez-Segura, X. Subirats, M. Rosés. *Anal. Chim. Acta* 1050 (2019) 176e184.



Modelling the retention behavior in the transition from reversed-phase liquid chromatography to submicellar and micellar liquid chromatography

Carlos Josué Tereba Mamani, María José Ruiz Angel, Juan José Baeza Baeza, María Celia García Álvarez-Coque.

Universitat de València, Facultad de Química, Departamento de Química Analítica, c/Dr. Moliner 50, 46100, Burjassot, cartema@alumni.uv.es

Micellar liquid chromatography (MLC) is a reversed-phase liquid chromatography mode (RPLC) which uses a surfactant in the aqueous mobile phase above its critical micelle concentration (CMC), with significant changes in retention, selectivity and peak profile (width and symmetry), due to the existence of micelles and surfactant adsorbed on the surface of the stationary phase. Most reports on MLC make use of the anionic surfactant sodium dodecyl sulfate (SDS), but this requires the addition of an organic solvent, which acts as co-surfactant (such as short-chained alcohols or acetonitrile), to reduce the retention times and increase the efficiency, especially for the analysis of basic compounds.

In this work, the chromatographic performance of solutes of different nature, using mobile phases containing SDS at concentrations below and above its CMC was explored, in the presence and absence of acetonitrile. The selected solutes were three nucleosides, five diuretics and four sulfonamides, all of biomedical and pharmaceutical interest, and with different acid-base character. The evolution of retention and peak shape with the experimental conditions was examined in the transition from reversed-phase to submicellar and micellar liquid chromatography, for each solute. The solute-stationary phase and solute-micelle association constants were also estimated. A mathematical model based on the Langmuir isotherm allowed the prediction of retention in the whole explored experimental domain, and evidenced the processes that take place inside the chromatographic system in the presence of the surfactant, under submicellar and micellar conditions.

The research carried out in this work also shows that it is possible to elute compounds of high polarity with SDS mobile phases, in the absence of organic solvent or containing a low concentration. To separate compounds of this type, hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC), is the most widely used chromatographic mode, which is characterized by the use of high concentrations of organic solvent (usually more than 70%). Therefore, the use of submicellar or micellar mobile phases significantly reduces the consumption of organic solvent, resulting in a less polluting technique.

[1] A. Berthod, M.C. García-Alvarez-Coque, *Micellar Liquid Chromatography*, Marcel Dekker, New York, 2000., [2] M.J. Ruiz-Angel, J.R. Torres-Lapasíó, M.C. García-Alvarez-Coque, S. Carda-Broch, Retention mechanisms for basic drugs in submicellar and micellar reversed-phase liquid chromatographic modes, *Anal. Chem.* 80 (2008) 9705-9713., [3] M.J. den Uijl, P.J. Schoenmakers, B.W.J. Pirok, M.R. van Bommel, Recent applications of retention modelling in liquid chromatography, *J. Sep. Sci.* 44 (2021) 88-114.



Cerámicas, un carcelero que nos ayuda a contar las costumbres del ser humano. Productos de consumo identificados en recipientes del neolítico y la edad del Bronce de las cuevas redil de El Mirador (Sierra de Atapuerca, Burgos) y Vallone Inferno (Scillato, Sicilia)

Nora Unceta Zaballa, Tatiana Couceiro-Couto, Gaia Santori-Rosa, Ane Gorostizu-Orkaiztegi, Vincenza Forgia, Josep Maria Vergès, Amaia Alday-Izaguirre, Ainhoa Elejaga-Jimeno, M. Carmen Sampedro, Alicia Sánchez-Ortega, Asier Vallejo, Ramón J. Barrio.

Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Facultad de Farmacia, Química Analítica, Paseo de la Universidad 7, 01006, Vitoria-Gasteiz, nora.unceta@ehu.es

Desde los inicios del neolítico los recipientes cerámicos han formado parte de la cultura material de los grupos humanos, siendo reflejo de su economía, su dieta, su cocina y sus costumbres y prácticas sociales.

La capacidad de absorber y retener compuestos químicos, durante centenares o miles de años, que les confiere su porosidad y su estabilidad estructural, hace que sean un magnífico contenedor donde buscar biomarcadores que nos informen sobre los productos que han almacenado, o los alimentos que se han cocinado en ellos. Eso sí, siempre con un grado de cautela, debido a la posibilidad de contaminación durante la excavación, transporte y análisis, o a la transformación de los compuestos por el transcurso del tiempo (Blanco-Zubiaguirre et al., 2018; Hammann and Cramp, 2018; Whelton et al., 2021)

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos del estudio de restos cerámicos procedentes de los niveles neolíticos y de la edad del bronce de dos cuevas redil de cronología y contexto sedimentario similares, pero alejadas geográficamente: la cueva de El Mirador, situada en el complejo arqueológico de la Sierra de Atapuerca, en Burgos, y el abrigo de Vallone Inferno, ubicado en el parque natural de Le Madonie, en la provincia de Palermo, Sicilia.

Se han buscado biomarcadores de vino, leche, grasas animales (carne o pescado) y vegetales, ceras, resinas y cocción en 22 muestras, mediante la extracción e hidrólisis conjunta con energía de ultrasonidos y el análisis mediante cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas, utilizando una librería propia.

L. Blanco-Zubiaguirre, E. Ribechini, I. Degano, J. La Nasa, J.A. Carrero, J. Iñañez, M. Olivares, K. Castro, *Microchem. J.* 137 (2018) 190–203. doi:10.1016/j.microc.2017.10.017, H.L. Whelton, S. Hammann, L.J.E. Cramp, J. Dunne, M. Roffet-Salque, R.P. Evershed, *J. Archaeol. Sci.* 132 (2021) 105397. doi:10.1016/j.jas.2021.105397, S. Hammann, L.J.E. Cramp, *J. Archaeol. Sci.* 93 (2018) 74–81. doi:10.1016/j.jas.2018.02.017



Aplicación del concepto de entropía a la evaluación de modelos de clase con más de 2 clases

Olga Valencia García, M^a. Cruz Ortiz Fernández, M^a. Sagrario Sánchez Pastor, Luis Antonio Sarabia Peinador

Universidad de Burgos, Facultad de Ciencias, Departamento de Matemáticas y Computación. Área de Estadística e IO, Pza. Misael Bañuelos s/n, 09001 Burgos, oval@ubu.es.

Los problemas de clasificación supervisada, donde los objetos de un conjunto han de ser asignados a una de K clases previamente definidas, se plantean en multitud de disciplinas entre las que se encuentra la Quimiometría, especialmente en autenticación de productos. La asignación de los objetos (o muestras) a las clases requiere una regla de decisión, basada en un modelo estadístico que predice la clase a partir de variables descriptoras de las muestras.

La aproximación a estos problemas desde el enfoque del modelado de clases supone la construcción de K subconjuntos o 'modelos de clase', que no han de ser necesariamente disjuntos y cuya unión no ha de coincidir necesariamente con todo el espacio de entrada. Por ello, un objeto o muestra nueva puede estar dentro de uno o varios modelos de clase o incluso fuera de todos ellos.

Independientemente de la técnica de modelado utilizada, es necesario evaluar el funcionamiento del modelo de K -clases obtenido en términos de sensibilidad y especificidad. Esto implica medir la capacidad de cada uno de los K modelos de clase, tanto para reconocer sus propios objetos como para rechazar los objetos ajenos. La investigación sobre criterios de evaluación de clasificadores (tanto modelos de clase como discriminantes) es extensa (hasta 22 índices encontrados) y muestra la dificultad de resumir dicho funcionamiento en un único valor [1].

Este trabajo propone un criterio global único, DMCEN (diagonal modified confusion entropy), basado en el concepto de entropía: un modelo de K -clases reduce la 'desorganización' del conjunto de objetos. DMCEN permite evaluar modelos de clase calculados conjuntamente ($K > 2$), es versátil en cuanto a sensibilidad versus especificidad y a la ponderación de clases [2]. Sus características se ilustran en comparación con índices similares publicados, como la Eficiencia Total (TEFF), mostrándose más sensible a variaciones en los modelos de clase. La propuesta incluye un valor de referencia o benchmark de DMCEN en función de K , obtenido con un modelado aleatorio de K clases. La aplicación del índice se muestra con datos simulados y mediante datos experimentales, Thyroid Disease Data Set [3], de 2800 pacientes distribuidos en cuatro clases a partir de cinco variables predictoras: hormona estimulante de la tiroides, triyodotironina, L-tiroxina total, absorción de tiroxina e índice de tiroxina libre. Los diferentes valores de DMCEN, en modelos de clase en los que otros criterios habituales permanecen constantes, indican una mejora de la capacidad del índice propuesto.

Agradecimientos: apoyo financiero JCYL (proyecto BU052P20)

[1] C. Ferri, J. Hernández-Orallo, R. Modroui, An experimental comparison of performance measures for classification, *Pattern Recogn. Lett.* 30 (2009) 27–38 <https://doi.org/10.1016/j.patrec.2008.08.010>.

[2] O. Valencia, M. C. Ortiz, M. S. Sánchez, L. A. Sarabia, A modified entropy-based performance criterion for class-modelling with multiple classes. *Chemometr. Intell. Lab. Syst.* 217 (2021) <https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2021.104423>

[3] D. Dua, C. Graff, UCI Machine Learning Repository in University of California, School of Information and Computer Science, Irvine, CA (2019). Last visit: 04-09-2021 <http://archive.ics.uci.edu/ml>.



Soft multivariate calibration models based on relative errors

Olga Valencia García, M^a. Cruz Ortiz Fernández, Luis Antonio Sarabia Peinador

Universidad de Burgos, Facultad de Ciencias, Departamento de Matemáticas y Computación. Área de Estadística e IO, Pza. Misael Bañuelos s/n, 09001 Burgos, oval@ubu.es

Multivariate calibration models are traditionally based on a Least Squares criterion, which aims to minimize the overall sum of squared residuals, without taking into account the way residuals are distributed, that is, the size and location of the individual residuals.

However, as this kind of models predict the concentration of an analyte, the importance of a given residual depends on whether it occurs in a large or small concentration, so predictions are usually interpreted and assessed not in terms of errors but of relative errors. Therefore, models with good overall performance but poor predictions in relative terms, particularly in low concentration samples, might not be suitable for calibration.

To overcome this problem, a new criterion with relative errors embedded in the target function should be used. Now, as it can be proved, the minimization of the Sum of Squared relative errors (SSre) turns into a weighted least squares optimization, with specific weights.

This work suggests a calibration model by means of a weighted Principal Component Regression, wPCR, where high correlated variables are replaced with uncorrelated Principal Components, which fits well for this context with typically more variables than samples [1]. The model has been built under this new criterion and its coefficients can be computed from matrix X of predictors (instrumental signals), vector y of responses (concentrations), matrix P of loadings coming from the Principal Component Analysis of X, and a diagonal matrix W with the specific weights above-mentioned [2]. The model has been validated through an external test set as well as the accuracy line together with the Joint Confidence Region for its parameters [3].

To compare the performance of the suggested wPCR with that of a regular PCR, both models have been applied to a series of datasets, including 10 multivariate calibrations of analytes in complex mixtures based on multivariate signals obtained with different instrumental techniques (UV-vis absorbance spectroscopy, fluorescence spectroscopy, polarography).

Considering the relative errors, wPCR improves the results of PCR, both in adjustment and prediction, especially for the smallest responses (lowest concentrations). In all cases, it decreases both the average value of the absolute relative errors (ranging from 3.3 to 43.2%) and their variability. In addition, the joint confidence regions for the independent term and the slope of the accuracy line show that wPCR does not introduce bias, neither constant nor proportional, nor a systematic alteration of achievable accuracy.

Authors thank financial support from JCyL (BU052P20)

[1] T. Naes, T. Isaksson, T. Fearn, T. Davies. A User-Friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification. NIR Publications (2002)

[2] O. Valencia, M.C. Ortiz, L.A. Sarabia, Principal component regression that minimizes the sum of the squares of the relative errors: Application in multivariate calibration models *Journal of Chemometrics* 35.6 (2021): e3341.

[3] M.C. Ortiz, M.S. Sánchez, L.A. Sarabia. Quality of analytical measurements: univariate regression. In: Brown SD, Tauler R, Walczak B, eds. *Comprehensive Chemometrics. Chemical and Biochemical Data Analysis*. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier (2020).



DETERMINATION OF PARABENS IN COSMETIC PRODUCTS BY HPLC WITH AMPEROMETRIC DETECTION USING DISPOSABLE SCREEN-PRINTED CARBON-BASED ELECTRODES

Lucía Abad-Gil, M. Jesús Gismera, M. Teresa Sevilla, J.R. Procopio.

Universidad Autónoma de Madrid, Facultad de ciencias, Departamento de Química Analítica y Análisis Instrumental, Avda. Francisco Tomás y Valiente 7, 28049, Madrid, lucia.abad@uam.es

The concern about endocrine disrupting chemicals has increased in last years due to their potential risks on human health. Parabens, esters of p-hydroxybenzoic acid, are classified as endocrine disrupting chemical, being the most common methylparaben (MP), ethylparaben (EP), propylparaben (PP), isopropylparaben (iPP), butylparaben (BP) isobutylparaben (iBP) and benzylparaben (BzP). Parabens are widely used as preservatives in cosmetics due to their good properties (e.g. low cost, broad-spectrum antimicrobial activity and chemical stability) [1]. Cosmetics are daily used by the population and for this reason these products are the main source of human exposure to parabens. Recent studies have demonstrated that these compounds can cause different adverse effects on humans as reproductive dysfunctions, carcinogenic effects and allergic contact dermatitis [2]. Hence, to ensure the safety of the consumers, the European Union has regulated the content of parabens in cosmetic products, being 0.4 % the maximum concentration for single paraben and 0.8% for mixtures of parabens [3]. Thus, the development of analytical methods to determine these substances is a relevant and interesting topic in human health protection.

Previous works have demonstrated the electrochemical behaviour of parabens on different electrodes. Thus, in this work, we present a HPLC method with electrochemical detection for the simultaneous determination of MP, EP, iPP, PP, BP and BzP in cosmetics.

The chromatographic separation was carried out on a C18 column using as mobile phase a mixture of 0.010 mol L⁻¹ phosphate at pH 6 solution containing 35% of acetonitrile at a flow rate of 1.5 mL min⁻¹ in isocratic mode. The electrochemical behaviour of MP, EP, iPP, PP, BP and BzP was evaluated on different commercial disposable screen-printed electrodes (SPE) with working electrodes of different carbon materials such as, carbon, ordered mesoporous carbon or graphene. The electrochemical detection was carried out in amperometric mode at a potential of +1.0 V (vs. Ag). Under the optimal chromatographic and detection conditions, instrumental limits of detection between 20 and 115 µg L⁻¹ were obtained. A fast ultrasound assisted extraction method was optimized for the simultaneous extraction of the six parabens from a wide variety of cosmetics. The proposed HPLC method was successfully applied to determine parabens in different commercial products. The use of the electrochemical detector allows getting greater selectivity and sensitivity in these analyses.

[1] A.F. Fransway, P.J. Fransway, D.V. Belsito, E.M. Warshaw, D. Sasseville, J.F. Fowler, J.G. DeKoven, M.D. Pratt, H.I. Maibach, J.S. Taylor, J.G. Marks, C.G.T. Mathias, V.A. DeLeo, J.M. Zirwas, K.A. Zug, A.R. Atwater, J. Silverberg, M.J. Reeder, *Dermatitis* 30 (2019) 3-31., [2] F. Wei, M. Mortimer, H. Cheng, N. Sang, L.H. Guo, *Sci. Total Environ.* 778 (2021) 14615., [3] (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products. <http://data.europa.eu/eli/reg/2009/1223/2019-08-13> (accessed April 2022)



Trace determination of tetrahydrocannabinol (THC) in cosmetic products by stir bar sorptive dispersive microextraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry

Cristian Azorín, Juan L. Benedé, Alberto Chisvert, Amparo Salvador

University of Valencia, GICAPC Research Group, Department of Analytical Chemistry, Burjassot, Valencia, Spain., cristian.azorin@uv.es.

Δ -9-tetrahydrocannabinol (THC) is a widely known psychoactive substance coming from hemp plant (*Cannabis Sativa* L.), whose use in cosmetic products is prohibited according to the EU Regulation [1]. However, traces of THC might be present in personal care products either by contamination during the treatment of the raw material (e.g., *Cannabis Sativa* seed oil) or by isomerization of cannabidiol CBD [2], which have been extensively used as cosmetic ingredients in the last years. To this regard, an analytical method for the determination of THC at trace level in cosmetics is presented for the analytical control of these products. Due to the low concentrations expected, a sensible and selective method is necessary. In this sense, the presented method is based on stir bar sorptive dispersive microextraction (SBSDME) [3] followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). In this work, a magnetic composite made of CoFe₂O₄ magnetic nanoparticles embedded in a commercial reverse-phase polymer (StrataTM-X-RP) was employed as magnetic sorbent material taking advantage of its affinity to the target analyte. Under the optimized conditions, the method was validated and showed good analytical features in terms of linearity (at least up to 10 ng mL⁻¹), limits of detection and quantification (2.2 and 7.2 ng g⁻¹, respectively), repeatability (RSD < 10%), and relative recoveries between 99 and 109%, showing matrix effects were negligible. This new approach was successfully applied to ten real cosmetic samples of different matrix, thus showing its suitability for the analytical control of THC in cosmetic products. The proposed methodology overcomes some of the drawbacks of the previous works with the same purpose, such as the higher limits of detection, time-consuming procedures, and consumption of large volumes of organic solvents.

Acknowledgements

Financial support from the Generalitat Valenciana (AICO/2020/045) is gratefully acknowledged. Authors also thank the Spanish Ministry of Universities for the predoctoral grant of C.A. (FPU19/04239).

[1] Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 november 2009 on cosmetic products. Available from: <http://data.europa.eu/eli/reg/2009/1223/oj>

[2] R. Mechoulam, L. Hanus, *Chem Phys. Lipids* 121 (2002) 35

[3] V. Vázquez-Gomis, J. Grau, J.L. Benedé, D.L. Giokas, A. Chisvert, A. Salvador, *Anal. Chim. Acta* 1153 (2021) 338271



DATA FUSION OF OPTICAL AND CHROMATOGRAPHIC FINGERPRINTS FOR THE AUTHENTICATION OF HERBAL MEDICINES

José Manuel Díaz Cruz, Clara Pérez-Ràfols, Núria Serrano.

Universitat de Barcelona, Faculty of Chemistry, Department of Chemical Engineering and Analytical Chemistry, Martí i Franquès 1-11, 08028, Barcelona, josemanuel.diaz@ub.edu

The consumption of herbal medicines as an alternative natural remedy to pharmaceutical products has increased significantly in recent years. However, its natural origin does not guarantee a beneficial and safe effect on human health or that the product is free of fraud. Thus, the characterization, identification and authentication of herbal medicines is an issue of utmost importance in terms of security and quality control. In this context, both World Health Organization (WHO) and Food and Drug Administration (FDA) recognize chromatographic fingerprints as a strategy for evaluating the quality and preparation of herbal medicines. However, the acquirement of suitable chromatographic fingerprints for characterization, identification and authentication requires a long analysis time and significant data pre-treatment (peak alignment, baseline removal...). This is why several authors have proposed the analysis of alternative profiles, typically based on optical techniques such as ultraviolet-visible (UV-vis), infrared (IR) or Raman. These studies rely on the fact that samples with equivalent chemical and pharmaceutical properties provide comparable spectra. Both analytical techniques supply information of a different nature that can be used for data fusion, an approach that combines complementary data from different sources to improve the information obtained by each of them individually.

Thus, this work studies the suitability of chromatographic profiles and UV-vis spectra for the identification of herbal medicines with relaxing properties (valerian, lavender, chamomile and passionflower), considering different formulation varieties (infusion, pill, capsule, drops, etc.). Both optic and chromatographic fingerprints have been evaluated individually and jointly, initially using unsupervised chemometric techniques (principal component analysis, PCA). The results obtained show a greater ability to discriminate between types of herbs by merging chromatographic and spectrophotometric data compared to each type of individual profile. Additionally, data fusion has allowed building a classification model based on partial least squares regression discriminant analysis (PLS-DA), obtaining excellent results with high sensitivity and specificity, and low global classification error.

WHO guidelines for selecting marker substances of herbal origin for quality control of herbal medicines - TRS 1003 - Annex 1. Annex 1, WHO Technical Series 2017;1003., M. Goodarzi, P. J. Russell, Y. Vander Heyden, Anal. Chim. Acta 804 (2013) 16.,



ANALYTICAL STRATEGY FOR THE DOUBLE CONFIRMATION OF NEW PSYCHOACTIVE SUBSTANCES IN SEIZED MATERIAL

Francesc A. Esteve-Turrillas, Silvia Carriazo-Altalaguerri, Daniel Gallart-Mateu, Sergio Armenta.

Universitat de València, Faculty of Chemistry, Department of Analytical Chemistry, 50th Dr. Moliner st., 46100, Burjassot, Valencia, francesc.a.esteve@uv.es

In recent years, over 1000 new psychoactive substances (NPS) have been reported by the United Nations Office on Drugs and Crime [1]. The NPS market shows a highly dynamic nature, being a challenging circumstance for analytical chemists that require the development of fast tools for the timely identification of substances found in street samples. The proposed strategy is based on the double identification of new psychoactive substances in seized material by means of attenuated total reflectance Fourier-transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR) and ion mobility spectrometry (IMS). Seized materials were provided by the laboratory of the Laboratorio de Control de Drogas de Valencia (Spain). A first identification was carried out by ATR-FTIR using a NPS spectral library from the Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs [2], updated with home-made spectra of adulterants and other psychoactive substances. Powders and pills were directly measured by ATR-FTIR. While, herbal products that mainly contained synthetic cannabinoids were quickly extracted with 2-propanol, to avoid the extraction of herb matrix constituents, and measured by dry film over the ATR crystal [3]. Double confirmation of the substance was carried out by IMS, comparing the obtained reduced mobility constant WITH THOSE of a database of NPS standards. The proposed strategy allowed the identification of NPS from different seized materials, being identified compounds such as: synthetic cannabinoids, synthetic cathinones, arylcyclohexylamines, and tryptamines, among others, which were confirmed by using reference methodologies such as: gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. The proposed strategy allows a simple, fast, and portable identification of NPS that can be carried out for non-experienced personnel for in-field monitoring of substances, such as law enforcement bodies controls, customs, and risk reduction organizations.

Acknowledgements

Authors acknowledge the financial support of PID2019-110788GB-I00 project funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033.

[1] United Nations Organizations Drug and Crime Office, Global Synthetic Drugs Assessment, 2020., [2] Scientific Working Group for the Analysis of Seized Drugs (SWGDRUG), Website Searchable Infrared Library Version 2.1., [3] V. de la Asunción-Nadal, S. Armenta, S. Garrigues, M. de la Guardia, Talanta 167 (2017) 344-351.



DOUBLE CONFIRMATION OF NEW PSYCHOACTIVE SUBSTANCES IN SEIZED BLOTTERS

Daniel Gallart-Mateu, Jaume Grimalt, Francesc A. Esteve-Turrillas, Sergio Armenta, Salvador Garrigues, Miguel de la Guardia.

Universitat de València, Facultat de Química, Departamento de Química Analítica, Dr. Moliner, 50, 46100, Burjassot (Valencia), daniel.gallart@uv.es

A new analytical strategy has been developed for the double confirmation of new psychoactive substances (NPS) in blotter samples based on the sequential use of attenuated total reflection-infrared spectroscopy (ATR-IR) and ion mobility spectrometry (IMS). The strategy implies a first identification of NPS by direct measurement of ATR-FTIR spectra on blotters followed by spectral subtraction of the cellulose matrix contribution. Resulting spectra is compared with those of a library containing around 1000 spectra of drugs and related compounds. A criterium of 60 % minimum match, coincidence between sample and reference spectra, has been considered for positive identification. The limit of identification of the proposed ATR-IR procedure, established as the minimum amount of NPS deposited on the blotter sample which provide an IR spectrum with a coincidence match higher than the pre-established value of 60 % was 100 µg NPS per standard blotter (i.e. 6 x 6 mm).

A second NPS identity confirmation was made by IMS analysis of methanol extracts of blotter samples and comparing measured reduced mobility constant of analyte with those from a database of NPS standards containing more than 300 substances. The limit of detection for IMS procedure varies from 5 to 80 ng NPS per blotter (6 x 6 mm), depending of NPS.

The validity of proposed double confirmation strategy was evaluated with 11 blotter samples that contained DOC, 25I-NBOH, 25E-NBOH, DOM, and LSD, providing the same identity that high-resolution mass spectrometry (HRMS) employed as reference methodology. Although, it should be highlighted that in the case of blotters containing very low doses of psychoactive substances, only a single identification by IMS was possible due to the lack of sensitivity of ATR-IR.

Moreover, IMS determination allowed the quantification of NPS in blotter extracts with results statistically comparable to those obtained by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS).

ATR-IR together with IMS allows a simple and fast identification and quantification of NPS in seized blotters useful for screening purposes and adequate for field analysis using portable instruments.

Acknowledgements: Authors gratefully acknowledge the financial support of the project PID2019-110788GB-I00 funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033. Authors also acknowledge the Laboratorio de Control de Drogas de Valencia (Spain) and the risk reduction organization "Consumo ConCiencia" (Zaragoza, Spain), for providing blotter samples.



Fast discrimination of recreational and non-recreational marijuana by near infrared spectroscopy and chemometrics (PLS-DA-NIR)

Salvador Garrigues Mateo, Eva Caudé, Victoria Talón, Daniel Gallart-Mateu, Miguel de la Guardia.

Universitat de València (EG), Facultad de Química, Departamento Química Analítica, Edificio Jeroni Muñoz. Calle Doctor Moliner 50, 46100, Burjassot (Valencia), salvador.garrigues@uv.es

The increasing use of marijuana derivatives in pharmacy and cosmetics created a challenge for regulatory agencies to discriminate the so-called therapeutic marijuana from recreative one. The main difference between both types lays on their THC and CBD concentrations. Traditionally, the characterization of this type of samples has always relied on chromatography techniques. However, its use involve time-consuming rearguard methodologies. In this sense, the importance of search for different non-destructive, fast and low cost methods to discriminate these samples is nowadays important from the drug control and the Green Analytical Chemistry point of view.

A new procedure has been developed for the discrimination of non-recreational and recreational marijuana samples based on diffuse reflectance NIR measurements and chemometrics. A set of 21 marijuana bud samples, including therapeutic and non-therapeutic samples, obtained from the laboratory of the Laboratorio de Control de Drogas de Valencia (Spain) were used. Several models were built through the evaluation of the wavenumber range, data pre-processing and election of appropriate number of latent variables, using this samples as a calibration set to develop PLS-DA model.

From leave one out validation, a PLS-DA model, using first derivative pretreatment (FD) followed the multiplicative scattering correction (MSC) for six selected wavenumber regions included in the 8500-4000 cm^{-1} spectral range (4 latent variables) was selected to discriminate the two types. 100% for non-recreational and 93.8% for the recreational class values were obtained for specificity. The developed PLS-DA method allows a clearly discrimination between non-recreational and recreational marijuana samples with cross validation errors in the classification of 3%.

The prediction capability of proposed method, for a set of 32 marijuana blind samples (24 non-recreational and 8 recreational marijuana buds) provided a 100% match values in the classification of new samples. So, it can be concluded that the method developed can offer a green and fast alternative to chromatography available methodologies for distinguishing high CBD samples from classical THC containing samples.

Acknowledgements: Authors gratefully acknowledge the financial support of the project PID2019-110788GB-I00 funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033. Authors also acknowledge the Laboratorio de Control de Drogas de Valencia (Spain) for providing marijuana samples.

..



INVESTIGACIÓN DE CO-FORMULANTES EN DIFERENTES TIPOS DE FORMULADOS DE PRODUCTOS FITOSANITARIOS MEDIANTE ANÁLISIS NO DIRIGIDO USANDO LC-HRMS

MARIA ELENA HERGUETA CASTILLO, ROSALÍA LÓPEZ RUIZ, ANTONIA GARRIDO FRENICH Y ROBERTO ROMERO GONZÁLEZ

Universidad de Almería, Facultad de Química, Departamento de Química Analítica, Carretera Sacramento s/n 04120 La Cañada de San Urbano, Almería (España), 04120 Almería, mh048@ual.es.

Los productos fitosanitarios, ampliamente usados para el control de cultivos, están compuestos por un plaguicida (principio activo) y otros ingredientes como los co-formulantes [1]. Los co-formulantes tienen distintas funciones específicas en los formulados, como disolventes, tensoactivos, conservantes o anticongelantes. Además, los productos fitosanitarios se pueden encontrar en diferentes tipos de formulados que contienen diversas cantidades de sustancias activas y de otros ingredientes [2,3].

En el presente estudio se han caracterizado seis productos fitosanitarios evaluando distintos tipos de formulados, como concentrado emulsionable (EC), emulsión en agua (EW), suspensión concentrada (SC) y granulado dispersable en agua (WG), identificando los co-formulantes presentes en ellos. Para ello se ha empleado cromatografía de líquidos de ultra alta resolución (UHPLC) acoplada a espectrometría de masas, usando cuadrupolo (Q)-Orbitrap como analizador. Los productos fitosanitarios objeto de estudio (FLINT® MAX, MASSOCUR 12.5 EC, IMPACT® EVO, TOPAS®, LATINO e IMPALA® STAR) presentan actividad antifúngica y contienen uno de los siguientes compuestos triazólicos como principio activo: tebuconazol, penconazol, miclobutanil, flutriafol, o fenbuconazol. El enfoque no dirigido, combinando el análisis de sospechosos, mediante una base de datos creada en el software de Compound Discoverer™ con 105 compuestos, y de desconocidos, utilizando las bases de datos ChemSpider en Compound Discoverer™ con un "modo de análisis desconocido", ha permitido identificar tentativamente 10 compuestos como co-formulantes, de los cuales 6, monoestearato de glicerilo, 1-monopalmitin, dimetilsulfóxido, N, N-dimetildecanamida, hexaetilenglicol y 1,2,-bencisotiazol, fueron confirmados mediante la inyección de patrones analíticos, al comparar los espectros y los tiempos de retención. Finalmente, dichos compuestos fueron cuantificados, mediante rectas de calibrado, en los productos fitosanitarios, detectándose en un amplio rango de concentraciones, entre 0,04 (dimetilsulfóxido) y 19,00 g L⁻¹ (monoestearato de glicerilo). Asimismo, se hallaron diferencias entre los distintos tipos de formulados, detectándose en EC y EW el mayor número de co-formulantes (4 de los 6 compuestos detectados).

El estudio demostró que la metodología propuesta es robusta para identificar, confirmar y cuantificar co-formulantes en diferentes tipos de formulados de productos fitosanitarios.

Esta información es relevante para los consumidores y medioambiente, ya que 5 de los co-formulantes detectados presentan cierta toxicidad, destacando 1,2,-bencisotiazol y monoestearato de glicerilo.

Los autores agradecen a la Junta de Andalucía y FEDER por el apoyo financiero (referencia del proyecto: P18-RT-2329). RLR agradece a la Consejería de Transformación Económica, Industria, Conocimiento y Universidades la financiación obtenida ("Ayudas para Captación, Incorporación y Movilidad de Capital Humano de I+D+i (PAIDI 2020)").

1 G. Li, W. Yu, Z. Xiao, M. Long, L. Tong, and Y. Qiu, A modified QuEChERS/GC–MS for simultaneous determination of 16 pesticide adjuvant residues in fruits and vegetables. *SN Appl Sci.* 2 (2020) 1-11.

2 D. Bloch, P. Marx-Stoelting and S. Martin. Towards a tiered test strategy for plant protection products to address mixture toxicity by alternative approaches in human health assessment. *Pest Manag Sci.* 76 (2020) 3326-3332.

3 M. Karaca, B.C. Fischer, C.T. Willenbockel, T. Tralau, P. Marx-Stoelting, and D. Bloch. Effects of co-formulants on the absorption and secretion of active substances in plant protection products in vitro. *Arch Toxicol.* 95 (2021) 3205-3221.



DETERMINACIÓN DE AMINOGLUCOSIDOS EN FORMULACIONES FARMACEUTICAS Y EN SUERO MEDIANTE CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE PARES IONICOS

Eliseo Herrero Hernández, Diego García Gómez, Encarnación Rodríguez Gonzalo.

Universidad de Salamanca, Facultad de Ciencias Químicas, Química Analítica Nutrición y Bromatología, Plaza de los Caídos s/n, 37008, Salamanca, elihh@usal.es

Los antibióticos aminoglucósidos (AmGs) son un grupo de fármacos con un amplio abanico de aplicaciones terapéuticas, especialmente para el tratamiento de bacterias Gram-negativas, usados tanto en terapia humana como en tratamiento veterinario. A pesar de su alta eficiencia antimicrobiana, son también clasificados como sustancias tóxicas con bajos índices terapéuticos, por lo que su dosificación debe estar estrictamente controlada. Debido a su bajo coste, existe el peligro de un uso excesivo, llegando a encontrar cantidades significativas de estos en aguas residuales, suelos y tejidos animales.

Los AmGs son compuestos con una alta polaridad e hidrofiliidad, muy solubles en agua, con comportamiento de bases débiles al contener varios grupos glucósido modificados con grupos amino. Debido a su alta polaridad, el carácter policationico y la falta de cromóforos, el análisis de AmGs es una tarea difícil, presentando un comportamiento poco satisfactorio en la técnica más frecuentemente utilizada en la industria farmacéutica, la cromatografía líquida en fase inversa (RPLC) con columnas de C18 y detección UV. Los AmGs muestran poca retención en RPLC; el uso de la cromatografía líquida de pares de iones (IP-RPLC) o de interacciones hidrofílicas (HILIC) parecen mejorar este problema. La falta de cromóforo podría resolverse con una derivatización antes o después de la columna para introducir un grupo cromóforo.

En bibliografía se ha descrito un método para aumentar la sensibilidad en el detector UV para Kanamicina A, que no requiere procesos de derivatización ni instrumentación sofisticada. El método se basa en la adición de borato a la fase móvil a un pH adecuado, los iones borato forman complejos con los AmGs, lo que permite la detección UV directa.

Este trabajo da un paso más en el uso de iones borato en la fase móvil para la determinación UV directa de AmGs junto con IP-RPLC-UV. Presenta principalmente dos avances: el método propuesto es multicomponente, lo que permite la determinación conjunta de Estreptomina, Dihidroestreptomina, Neomicina, Kanamicina y Espectinomicina y, en consecuencia, el control de calidad de formulaciones con dos o más componentes como es el caso del fármaco Sulfintestin®, que contiene Dichidroestreptomina y Neomicina. Además, se demuestra por primera vez que esta metodología es adecuada no solo para el control de calidad de formulaciones farmacéuticas, sino también para la monitorización terapéutica de fármacos, fundamental para los AmGs con un rango terapéutico de aproximadamente el 50%.



Metal-organic frameworks as solid-phase sorbents for the isolation of third-generation synthetic cannabinoids in oral fluids using HPLC with fluorescence detection

Jose Manuel Herrero-Martinez, Héctor Martínez-Pérez-Cejuela, Mónica Conejero, Ernesto Francisco Simó-Alfonso, Sergio Armenta.

Valencia, Química, Química Analítica, C/Dr. Moliner, 50, 46100, Burjassot, jmherrer@uv.es

Synthetic cannabinoids are new psychoactive substances (NPS) chemically designed to mimic psychotropics effects from the natural cannabis. At the same time that their popularity has raised since their discover in 2004, the side effects from the consumption of these compounds have been growing including distorted perception of time, paranoia and so on [1]. The most common separation techniques to detect these analytes are sophisticated techniques with highly cost detectors (e.g. mass spectrometry) due to their metabolization in the body and the low concentration at trace levels. However, the use of oral fluids together with appropriate sample pretreatment process can lead to a correct identification of parent compounds without mass detectors. In this regard, the use of metal-organic frameworks (MOFs) has been widely explored in analytical chemistry with sample pretreatment purposes [2] due to their fascinating properties such as large surface area and porosity, high stability, etc. [3]. However, no reports about the direct use of MOFs to develop a simple and cost-effective method for the synthetic cannabinoids screening is reported. Therefore, we have studied the use of UiO-66 family as solid-phase sorbents to isolate several synthetic cannabinoids (3rd generation) from oral fluid samples followed by their determination by HPLC with fluorescence detection. After a preliminary study, the best MOF (NH₂-UiO-66) has been characterized through FT-IR, scanning/transmission electron microscopies, among others. Then, the extraction method was optimized in terms of elution solvent composition and volume. The analytical parameters were also evaluated, showing a satisfactory linear range comprised between 2-200 µg L⁻¹, limits of detection (LOD) as low as 0.6-0.8 µg L⁻¹ and good intra- and inter-batch precision (with RSD values <11%). Additionally, the amino derived MOF showed good reusability (up to 15 reuses with recoveries >70%). Finally, the method was applied to different oral fluid samples from healthy volunteers and its suitability to detect trace levels of these analytes was verified (recoveries 70-110%).

Acknowledgements. Authors gratefully acknowledge the financial support of the projects (PID2019-110788GB-I00 and RTI2018-095536-B-I00) funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033 and by "ERDF A way of making Europe" by the European Union.

1. Lamy, F.R. *Inter. J. Drug Policy*, 44 (2017) 121-129., 2. Wang, Y. J. *Sep. Sci.* 41 (2018) 180-194., 3. Zhou, H.C. *Chem. Rev.* 112 (2012) 673-674



DEVELOPMENT OF PAPER-BASED MOLECULARLY IMPRINTED POLYMERS BY LASER POINTER ACTIVATION FOR METHAMPHETAMINE EXTRACTION

Miguel Muñoz Bartual, Sergio Armenta, Francesc Albert Esteve Turrillas, Jose Manuel Herrero Martínez.

Universitat de València, Química, Química Analítica, c/ Doctor Moliner nº 50, 46100, Burjassot, mimubar@alumni.uv.es

Molecularly imprinted polymers (MIP) are synthetic elements of recognition capable of interacting with a target analyte to obtain selective binding. Nowadays, MIPs are increasingly used due to their high selectivity to the template molecule as well as their versatility, stability and robustness, being a good alternative to biomolecules for the selective recognition of analytes [1, 2].

MIPs are frequently used as selective sorbents in solid-phase extraction (SPE) cartridges. Moreover, the use of paper-based MIPs has increased in the last years because of their sensitivity, easy use, low cost and their compatibility with detection systems [3]. In this study, a quick, simple, cheap and versatile strategy, with a reduced reagent consumption, has been proposed for the synthesis of paper-based MIPs by bulk polymerization over a piece of nitrocellulose using methamphetamine, as target molecule, and a mixture of methacrylic acid, ethylene glycol dimethacrylate, porogen, and a radical initiator, as polymerization solution. A portable laser pointer was employed to carry out the photoactivation of the polymerization in 10 min irradiation time. Different parameters, such as piece size of nitrocellulose, type of polymerization porogen (acetonitrile, acetone, chloroform, tetrahydrofuran, N,N-dimethylformamide, dimethyl sulfoxide...), porogen volume, and irradiation times were evaluated in order to achieve an homogeneous and reproducible layer onto the nitrocellulose paper.

The extraction efficiency of imprinted and non-imprinted paper-based polymers was investigated using water samples containing methamphetamine by the evaluation of several parameters such as sample pH, extraction and desorption time, and desorption solvent. Methamphetamine determination was carried out by ion mobility spectrometry giving a limit of detection of 15 $\mu\text{g L}^{-1}$ and a linear range from 50 to 700 $\mu\text{g L}^{-1}$. The proposed paper-based device allows the simple identification of methamphetamine intake with a high portability and reduced costs.

Acknowledgements

Authors gratefully acknowledge the financial support of the projects (PID2019-110788GB-I00 and RTI2018-095536-B-I00) funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033 and by "ERDF A way of making Europe" by the European Union.

[1] G. De Middelée, P. Dubruel, S. De Saeger, TRAC-Trend. Anal. Chem. 76 (2016) 71-85., [2] G. Vasapollo, R.D. Sole, L. Mergola, Int. J. Mol. Sci. 12 (2011) 5908-5945., [3] W. Li, X. Zhang, T. Li, Y. Ji, R. Li, Anal. Chim. Acta 1148 (2021) 238196.



Validación de un método VALLME y PTV-GC-MS/MS para la estimación de la fracción bioaccesible inhalatoria de compuestos orgánicos presentes en el material particulado atmosférico (PM2.5).

Natalia Novo-Quiza, Joel Sánchez-Piñero, Cristina Pernas-Castaño, Jorge Moreda-Piñero, Soledad Muniategui-Lorenzo y Purificación López-Mahía

University of A Coruña, Faculty of Sciences, Grupo Química Analítica Aplicada (QANAP), University Institute of Research in Environmental Studies (IUMA), Department of Chemistry, Campus de A Coruña, s/n, 15071 A Coruña, Spain, natalia.novo@udc.es.

Numerosos estudios epidemiológicos han relacionado afecciones respiratorias y cardiovasculares con la exposición a material particulado atmosférico, debido a su entrada en el organismo tras ser inhalado [1]. La composición química y el tamaño de partícula son los responsables de estos efectos en la salud. En los últimos años, cobra interés la denominada fracción bioaccesible inhalatoria de contaminantes asociados a la materia particulada en lugar de su contenido total, al aportar una información más realista para entender su efecto nocivo en la salud [2].

Los contaminantes objeto de estudio han sido seleccionados por su toxicidad y persistencia en el medio ambiente: hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs), ftalatos (PAEs), retardantes de llama organofosforados (OPRFs), compuestos de almizcle sintéticos (SMCs) y bisfenoles. Se presenta un método analítico novedoso para evaluar la bioaccesibilidad inhalatoria de contaminantes presentes en el material particulado de un tamaño aerodinámico inferior a 2,5 μm (PM2.5). La fracción bioaccesible inhalatoria (contaminantes asociados al PM que se pueden disolver en los fluidos pulmonares) se obtiene mediante una extracción fisiológica usando un fluido simulado pulmonar: fluido lisosomal artificial (ALF). Seguida de una microextracción líquido-líquido asistida por vórtex (VALLME) y análisis mediante cromatografía de gases con inyector de temperatura programada acoplado a un espectrómetro de masas (PTV-GC-MS/MS) [3].

La validación del método incluye un estudio de linealidad, límites de detección (LODs) y cuantificación (LOQs), recuperaciones analíticas a tres niveles de sobrecarga diferentes, así como un estudio de la precisión. Se emplea el modo SRM (selected reaction monitoring) en el detector de masas, la calibración con patrones con matriz (matrix-matched) y el uso de patrones surrogados. Los resultados obtenidos son considerados satisfactorios para la mayoría de los compuestos, teniendo en cuenta las concentraciones a nivel traza presentes en las muestras y la matriz compleja debido a su elevada concentración de sales.

Agradecimientos:

Se obtuvo financiación del MCIU-AEI-FEDER (RTI 2018-101116-B-I00), la Xunta de Galicia (ED431C 2017/28 y ED431C 2021/56) y FEDER-MINECO (UNLC15-DE-3097). NNQ agradece al MCIU y a la UE (FSE) por la concesión una beca predoctoral (PRE2019-088744). JSP agradece a la Xunta de Galicia y a la UE (FSE) por la concesión de una beca predoctoral (ED481A-2018/164). Se agradece al LMAG-Xunta de Galicia por facilitar las muestras de PM2,5.

[1] A. Tobias, Environmental International, 111 (2018), 144–15

[2] F. Kastury, Science of the total environment, 574 (2017) 1054-1074

[3] J. Sánchez-Piñero, Talanta Open 4 (2021) 100057



Métodos analíticos simples y rápidos para la determinación de vitaminas en productos cosméticos mediante cromatografía de líquidos con detección ultravioleta

Guillem Peris-Pastor, Víctor Vález-Gomis, Cristian Azorín, Juan L. Benedé, Alberto Chisvert, Amparo Salvador.

Universidad de Valencia, Facultad de Química, GICAPC grupo de investigación, Departamento de Química Analítica, Doctor Moliner 50, 46100, Burjassot, guillem.peris@uv.es

Las vitaminas son compuestos orgánicos esenciales en pequeñas cantidades para la vida y el bienestar de los animales y humanos. Estas se clasifican en dos grandes grupos: hidrosolubles (B y C) y liposolubles (A, D, E y K). Una importante característica que presentan estos compuestos es que no pueden ser sintetizados por el cuerpo, por lo que deben adquirirse mediante otras fuentes. Una de estas fuentes es mediante la aplicación de productos cosméticos que incluyan vitaminas en su formulación, a los que se añaden por presentar propiedades beneficiosas para el cuidado de la piel y es por ello que se consideran ingredientes de valor añadido. Por este motivo, es necesario realizar controles analíticos de los productos cosméticos que contienen vitaminas en su formulación para garantizar la eficacia del producto final [1].

En esta comunicación se presentan dos métodos analíticos desarrollados por nuestro grupo de investigación para la determinación de diferentes vitaminas en productos cosméticos. En el primero se lleva a cabo la determinación simultánea de las 8 vitaminas del grupo B [2], y en el segundo la determinación simultánea de la vitamina A (retinol) y cuatro de sus derivados (retinal, retinil acetato, retinil propionato y retinil palmitato) [3]. Para ambos grupos de compuestos, se han encontrado en la literatura científica métodos que determinan alguno de los compuestos, pero en ningún caso determinan la totalidad de forma simultánea.

Los métodos analíticos desarrollados se basan en la lixiviación de los analitos desde la matriz cosmética, empleando agua para las vitaminas B, y etanol para la vitamina A y sus derivados, y su posterior determinación mediante cromatografía de líquidos con detección ultravioleta (LC-UV). Los parámetros analíticos de ambos métodos han sido evaluados, mostrando una buena linealidad, unos límites de detección en el rango bajo de $\mu\text{g mL}^{-1}$, valores de RSD que muestran una buena repetibilidad, y coeficientes de recuperación cuantitativos, confirmando así la ausencia de efecto matriz.

Se evaluó la concordancia de los métodos con los principios de la “Química Analítica Verde”, mediante diferentes herramientas métricas. Los resultados muestran que ambos métodos se encuentran en concordancia con la “Química Analítica Verde”.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Generalitat Valenciana y al Fondo Social Europeo por la beca predoctoral de V.V-G. (ACIF/2020/107); y al Ministerio de Universidades por la beca predoctoral de C.A. (FPU19/04239).

[1] A. Salvador, A. Chisvert, Analysis of Cosmetic Products, second ed., Elsevier, Amsterdam, 2018., [2] V. Vález-Gomis, G. Peris-Pastor, J.L. Benedé, A. Chisvert, A. Salvador, J. Pharm. Biomed. Anal. 205 (2021) 114308., [3] V. Vález-Gomis, S. Carchano-Olcina, C. Azorín, J.L. Benedé, A. Chisvert, A. Salvador, Separations 9 (2022) 40.



SÍNTESIS Y CONTROL ANALÍTICO DE NANO-FORMULACIONES DE COENZIMA Q10

Ángel Ríos Castro, Ángel Ríos Castro, Mohammed Zougagh Zariouh, Fernando de Andrés Segura, Claudia López Sánchez

Universidad de Castilla – La Mancha, Facultad de Ciencia y Tecnología Químicas, Departamento de Química Analítica y Tecnología de los Alimentos, Av. Camilo José Cela, 10, 13071 Ciudad Real, angel.rios@uclm.es.

Actualmente, mejorar la solubilidad y estabilidad de compuestos farmacéuticos o alimentarios representan aspectos fundamentales en la industria farmacéutica, alimentaria y sectores relacionados. Es el caso de la coenzima Q10 (CoQ10), una sustancia endógena existente en las membranas celulares, con función antioxidante [1], y que se usa ampliamente para el tratamiento de diversas enfermedades [2]. Sin embargo, posee baja hidrosolubilidad, alta permeabilidad y su absorción oral es ampliamente variable. En cambio, las nanomicelas poliméricas (NM) son nanoportadores de polímeros anfifílicos dispuestos en forma de núcleo hidrofóbico y capa hidrófila que en medios acuosos y por encima de la concentración crítica micelar se autoensamblan, mejorando la solubilidad acuosa de compuestos hidrofóbicos, inhibiendo la descomposición química de los mismos, y permitiendo el acceso de estos a sitios específicos requeridos inaccesibles a otros sistemas.

En esta comunicación se describe una estrategia analítica para el screening de nanomicelas de CoQ10 en diversas muestras y con diversos agentes solubilizantes. En primer lugar, se han sintetizado y caracterizado nanomicelas para la encapsulación de CoQ10, con el objetivo de mejorar la solubilidad y la estabilidad de la coenzima. Posteriormente se ha desarrollado un procedimiento analítico basado en el acoplamiento CE-DART-QTOF-MS para lograr discriminar, caracterizar y cuantificar el nanoportador y CoQ10, aplicándose a muestras de alimentos y farmacéuticas. En la síntesis se utilizaron como agentes solubilizadores polysorbate 80 (T80) y Kolliphor HS-15® [3]. Los análisis de distribución del tamaño de las NMs-CoQ10 mediante dispersión de luz láser dinámica (DLS) mostraron para HS15®-CoQ10 un diámetro de $19,9 \pm 2,3$ nm, con un promedio Z de $36,9 \pm 6,9$ nm, e índice de polidispersidad (PDI) de $0,357 \pm 0,042$; mientras que con T80 se obtuvieron NMs (T80-CoQ10) de mayor diámetro ($258,7 \pm 1,42$ nm y Z-average = $294,5 \pm 2,36$ nm), pero menor PDI ($0,023 \pm 0,015$).

[1] M.J. Acosta, L. Vázquez-Fonseca, M.A. Desbats et al., *Biochim. Biophys. Acta* 187 (2016) 1079.

[2] P.R. Nepal, H.K. Han, H.K. Choi, *Int. J. Pharm.* 383 (2010) 147.

[3] L. Liu, K. Mao, W. Wang et al., *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 17 (2016) 757.



Stir bar sorptive-dispersive microextraction by a poly(methacrylic acid-co-ethylene glycol dimethacrylate)-based magnetic sorbent for the determination of tricyclic antidepressants and their main active metabolites in human urine

Víctor Vázquez-Gomis, Sara Exojo-Trujillo, Juan L. Benedé, Alberto Chisvert, Amparo Salvador.

University of Valencia, Faculty of Chemistry, GICAPC Research Group, Department of Analytical Chemistry, 50 Doctor Moliner St., 46100, Burjassot, Valencia, Spain, victor.vazquez@uv.es

Tricyclic antidepressants (TCAs) are a group of psychoactive drugs which are used for the treatment of depression and other mental disorders. They are prescribed for the treatment of anxiety, eating disorders and attention deficit hyperactivity disorder, among others. As a result of the narrow safety window of TCAs, the development of sensitive and selective analytical methods for their determination at trace levels in biological samples is needed to ensure the safety of users. In this work, five TCAs and their active metabolites were determined in human urine samples [1]. For this purpose, the stir bar sorptive dispersive microextraction (SBSDME) technique [2] was employed as clean-up and preconcentration technique prior to liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) analysis. In this case, the extraction was carried out using a composite made of CoFe₂O₄ magnetic nanoparticles coated with poly(methacrylic acid-co-ethylene glycol methacrylate) copolymer (CoFe₂O₄@SiO₂@MPS@MAA-co-EGDMA), which presents an excellent interaction with the target analytes. The main parameters involved in the extraction (i.e., amount of sorbent, extraction time, pH and ionic strength) and desorption (i.e., solvent and desorption time) steps were optimized. Under the optimized conditions, the proposed method was properly validated showing good analytical features in terms of linearity, enrichment factors, limits of detection, and repeatability. Matrix effects were observed for the direct analysis of the urine samples, but they were negligible when a 1:1 v/v dilution with deionized water was performed. Finally, the method was successfully applied to human urine samples from three volunteers, one of them consuming a prescribed drug for depression that tested positive for clomipramine and its main active metabolite. Quantitative relative recoveries were obtained in all the cases by external calibration.

Acknowledgements

Financial support from the Spanish Ministry of Science and Innovation (PID2020-118924RB-I00) is gratefully acknowledged. Authors also thank the Generalitat Valenciana and the European Social Fund for the predoctoral grant of V.V-G (ACIF/2020/107).

[1] V. Vázquez-Gomis, S. Exojo-Trujillo, J.L. Benedé, A. Chisvert, A. Salvador, *Microchim. Acta* 189 (2022) 52, [2] V. Vázquez-Gomis, J. Grau, J.L. Benedé, D.L. Giokas, A. Chisvert, A. Salvador, *Anal. Chim. Acta* 1153 (2021) 338271,



Trapping of volatile covalent hydrides onto cellulose/silver nanocomposites for ICP-MS determination

Carlos Bendicho Hernández, Inmaculada de la Calle; Andrea Lourido-Grovas; Isela Lavilla.

Vigo, Química, Química Analítica y Alimentaria, As Lagoas-Marcosende s/n, 36310, Vigo, bendicho@uvigo.es

Generation of volatile metal species using sodium tetrahydroborate as reductant is an efficient and well-established approach for the determination of a variety of elements such as As, Sb, Se, Ge, Te, Bi, Sn, Cd, Pb and Hg by atomic and mass spectrometric techniques [1]. Volatile metal species can be preconcentrated prior to detection on graphite atomizers, quartz tubes, tungsten coil traps, noble metal microdrops, needles, cryogenic traps and gold amalgamators allowing low backgrounds, reduced matrix effects and analyte enrichment [2].

A new preconcentration method was developed for As, Sb, Bi, Se and Te following volatile hydride generation and trapping onto cellulose-based platforms modified with silver nanoparticles (AgNPs), desorption and further determination by inductively-coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) [3]. For this purpose, cellulose/silver nanocomposites were integrated in a gas-liquid separation unit and a gaseous stream (Ar) containing hydrides was passed through them so as to catalytically decompose AsH₃, SbH₃, BiH₃, SeH₂ and TeH₂ resulting in the binding of the corresponding elements to the AgNPs. Characterization of cellulose substrates modified with AgNPs was performed by scanning electron microscopy (SEM) in backscattered electron (BSE) mode or combined with energy dispersive X-ray spectrometry (EDS) showing aggregation of AgNPs after preconcentration. Experiments with SeH₂ and TeH₂ showed that inefficient desorption from the cellulose substrate occurred as a result of their strong binding to AgNPs, which hinders their application. Elution of As, Sb and Bi trapped onto AgNPs with 0.1 M HNO₃ (As, Sb) or 1 M HNO₃ (Bi) was successfully performed and metal content in the eluates was measured by ICP-MS. After 10 min of operation, enrichment factors of 16, 9 and 26 for As, Sb and Bi were attained, respectively. These enrichment factor values can be increased when needed by a factor of three on applying a preconcentration time of 30 min. Detection limits of 15, 2 and 1 ng/L for As, Sb and Bi were obtained, respectively. Precision, evaluated as repeatability and expressed as relative standard deviation (%), was in the range of 1-3 %. Spiked simulated water matrices mimicking the major composition of freshwater, seawater, wastewater, groundwater and saliva were analyzed and recoveries in the range of 80-106 % were obtained. Additional studies were performed to assess the stability of trapped As, Sb and Bi showing that the metal binding to AgNPs remained unaltered for at least 60 days, which allows field sampling and preservation of analytes.

[1] A. D'Ulivo, J. Dědina, Z. Mester, R.E. Sturgeon, Q. Wang, B. Welz. *Pure Appl. Chem.*, 83 (2011) 1283., [2] P. Pohl, P. Jamroz, M. Weina, A. Szymczycha-Madeja, K. Greda. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 59 (2014), 144., [3] I. de la Calle, A. Lourido-Grovas, I. Lavilla, C. Bendicho, *Spectrochim. Acta Part B* 189 (2022) 106373.



Diseño de fases estacionarias para la separación de nanopartículas de plata mediante cromatografía hidrodinámica y detección por ICP-MS

Pilar Bermejo Barrera, Iván Lozano González, Álvaro Gil, Francisco Guitián, Antonio Moreda Piñeiro.

Universidad de Santiago de Compostela, Facultad de Química, Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Avenida de las Ciencias s/n, 15782, Santiago de Compostela, pilar.bermejo@usc.es

Durante las últimas décadas, la industria de las nanopartículas inorgánicas (NPs) no ha hecho más que crecer año tras año, y con este aumento de producción, cabe destacar la necesidad de investigar si éstas pueden llegar a producir algún tipo de adversidad tanto al medio ambiente como finalmente a la propia salud humana.

Las NPs han encontrado múltiples aplicaciones, empleándose así en medicina (distribución de medicamentos de forma localizada, terapia antitumoral, terapia antibiótica), en la industria de fabricación de materiales (informática, productos cotidianos, sensores químicos y biosensores, lubricantes y adhesivos), en aplicaciones medioambientales (interacción de contaminantes con las nanopartículas para facilitar su eliminación del medio), en la electrónica, y en la generación de energía (generación por fotoelectroquímica y división electroquímica del agua) [1].

En el presente estudio se ha fabricado una fase estacionaria a base de óxido de sílice para la separación de nanopartículas de Ag (Ag NPs) por cromatografía hidrodinámica y detección por espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS). La separación de las Ag NPs (rango de tamaños de 20 a 60 nm) y de la plata disuelta (iónica) se ha conseguido empleado agua ultrapura como fase móvil (flujos entre 0.90 y 1.0 mL min⁻¹), siendo suficiente un tiempo separación de 5.0 min. El procedimiento de separación se aplicó con éxito a hidrolizados enzimáticos de pescados y moluscos, consiguiendo recuperaciones analíticas de Ag NPs en el rango de 96-111% en ensayos intradía, y entre 97-103% para ensayos interdía. El límite de detección conseguido con el procedimiento fue de 31,7 ng L⁻¹ (1,37 ng g⁻¹).

Agradecimientos

Los autores agradecen la financiación recibida por parte del Ministerio de Economía y Competitividad (proyecto INNOVANANO, RT2018-099222-B-100), y de la Xunta de Galicia (Grupo de Referencia Competitiva, proyecto ED431C2018/19).

Khan, Ibrahim; Saeed, Khalid; Khan, Idrees, Arabian Journal of Chemistry 12 (2019)908, ,



Optimization of a slurry sampling method for the fast determination of trace, minor, and mayor elements in construction materials by High Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry

Beatriz Gómez-Nieto, María Jesús Gismera, María Teresa Sevilla, esús R. Procopio.

Universidad Autónoma de Madrid, Ciencias, Química Analítica y Análisis Instrumental, Francisco Tomás y Valiente, 7, 28049, Madrid, beatriz.gomez@uam.es

Solid wastes from different industrial activities as construction and demolition waste or ashes from energy production installations have suitable characteristics to be used in the cement industry as alternative raw materials allowing their valorization in the context of Circular Economy Principles. The element content in these wastes determine their properties. However, the content of toxic metals must meet the requirements established by the legislation [1]. Methods based on Atomic Absorption Spectrometry (AAS) are among the most used for metal quantification. In general, wet digestion of solid samples with toxic and corrosive chemicals is required before the AAS measurement. Slurry sampling methods are considered attractive alternatives for analysis of solid samples by AAS because they are simpler, increase the speed of analysis, and minimize the use of chemicals which is in accordance with Green Analytical Chemistry principles [2].

In this work, a slurry sampling method for the fast determination of Pb, Ni, Fe, and Mn in different construction materials has been developed using a high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometer (HR-CS GFAAS). Different procedures to prepare slurries were evaluated to get suspensions with adequate stability. For this purpose, parameters that can influence on suspension stability such as dispersant medium, mass sample-to- dispersant volume ratio or suspension system were optimized. Stable enough slurries to carry out GFAAS measurement were obtained by dispersing 10 mg of ground sample in 10.0 mL of a 1%(v/v) Triton X-100 and 1% v/v HNO₃ solution in the ultrasonic bath for 1.0 min. The secondary analytical lines of Pb at 283.306 nm (42%) and Mn at 403.080 nm (6.7%) were selected to determine these elements. The main analytical line of Ni at 232.003 nm and the adjacent secondary line of Fe at 232.036 nm (1.4%) were used to simultaneously determine both elements in the same run. These absorption lines were chosen considering the expected analyte contents in the slurries to perform the determination of the four analytes in only three measurement runs and using a unique sample suspension. GFAAS measurement conditions (pyrolysis and atomization temperatures and the use of chemical modifiers) were optimized using both slurries and aqueous standards. At the optimal conditions, the calibration can be performed using aqueous standards. The figures of merit were estimated, and the method was validated by analyzing slurries of a fly ash certified reference material. The proposed slurry sampling method was successful applied to analyze different construction materials.

, [1] Z. Huang, K. Liu, J. Duan, Q. Wang, A review of waste-containing building materials: Characterization of the heavy metal, *Constr. Build. Mater.* 309 (2021) 125107., [2] R. C. Machado, D. F. Andrade, D. V. Babos, J. P. Castro, V. C. Costa, M. Aurelio Sperança, J. Augusto Garcia, R. R. Gamela, E. R. Pereira-Filho, Solid sampling: advantages and challenges for chemical element determination—a critical review, *J. Anal. At. Spectrom.* 35 (2020) 54–77.



Sonochemical synthesis of Fe₃O₄-PbS nanocomposites and simultaneous extraction of Pb(II) in water samples followed by electrothermal atomic absorption spectrometry determination

Isela Lavilla, Raquel Sanmartín, Vanesa Romero, Carlos Bendicho.

Vigo, Química, Química Analítica y Alimentaria, Campus de Vigo, Lagoas-Marcosende, 36310, Vigo, isela@uvigo.es

The control of metal pollutants in natural waters is extremely important to ensure the quality of ecosystems, as well as to avoid human health issues and ecotoxicity problems. Heavy metals are recognized as nonbiodegradable pollutants, which tend to bioaccumulate along the food chain giving rise to toxic effects. Among them, Pb is one of the most harmful metals due to its carcinogenic and teratogenic effects. The Environmental Protection Agency (EPA) establishes an action level of 15 µg/L for Pb in drinking water. Besides, the World Health Organization (WHO) establishes a guideline value of 10 µg/L for Pb in water. Considering the low permissible levels, the development of novel analytical procedures, which allow the rapid and accurate analysis of Pb at trace or ultra-trace level is of high interest.

Although atomic and mass spectrometric techniques show high sensitivity, a preconcentration step is usually needed before determination to improve the detection limits. With this aim different nanomaterials have been applied as powerful sorbents for trace metal preconcentration. Magnetic nanomaterials have received increased attention due to their superparamagnetic properties and low toxicity. Sulphur-containing groups can be employed to modify the magnetic surface increasing its sorption ability to retain sulphophile heavy metals. Some metal sulphides (MS) show very low solubility, thus precursors of sulphide anion would be very promising as surface modifiers for sorption of trace heavy metals onto magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles.

Herein, a novel solid-phase extraction approach based on the in situ sonochemical synthesis of Fe₃O₄@MS nanocomposites is developed for ultrasensitive determination of Pb by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). The extraction procedure consists of two steps: i) ultrasound-assisted synthesis of bare Fe₃O₄ NPs; ii) ultrasound-assisted decomposition of L-cysteine in alkaline medium in the presence of the sample containing Pb(II) to yield PbS, which is anchored onto the Fe₃O₄ NPs. The Fe₃O₄@PbS composite can be easily separated from the sample solution with an external magnetic field, thus avoiding time-consuming filtration or centrifugation steps. The collected magnetic phase can be directly analysed by ETAAS without needing an elution step. Under optimal conditions, the method showed a detection limit of 0.02 µg/L and a quantification limit of 0.07 µg/L for Pb. Repeatability, expressed as relative standard deviation was 2% (0.6 µg/L, n=3). An experimental enrichment factor of 79 and an extraction efficiency of 95% were obtained. Finally, the method was applied for the analysis of water samples, showing quantitative recoveries in the range 95–100%.

S. Wasi, S. Tabrez, M. Ahmad, Environ. Monit. Assess. 185 (2013) 2585-2593., H. Li, L. Liu, Z. Wang, X. Zheng, S. Meng, S. Chen, X. Fu, RSC Adv. 8 (2018) 11489-11497., R. Sanmartín, V. Romero, I. Lavilla, C. Bendicho, Spectrochim. Acta, Part B 188 (2022) 106349.



Potentials and limits of Electrical Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation with a multi-detector array platform for the characterization of metallic nanoparticles

Rosa Carmen Rodríguez Martín-Doimeadios, Sergio Fernández Trujillo, Armando Sánchez Cachero, Nuria Rodríguez Fariñas, Francisco Javier Guzmán Bernardo, María Jiménez Moreno.

Universidad de Castilla-La Mancha, Facultad de Ciencias Ambientales y Bioquímica, Departamento de Química Analítica y Tecnología de Alimentos, Avenida Carlos III, s/n, 45071, Toledo, rosacarmen.rodriguez@uclm.es

In recent years, the applications of metallic nanoparticles (NPs) in our daily life have exponentially grown due to their unique biological, optical, magnetic, electronic, and catalytic properties, which are generally related to their size, shape, and composition. In addition, its surface charge can influence the aggregation/agglomeration processes that they may undergo. The increasing interest and concern about NPs' behavior and toxic effects implies the need of comprehensive studies of their characteristics and transformations. For this purpose, Electrical Asymmetrical Flow Field-Flow Fractionation (EAF4) is a worthwhile and emerging analytical technique for the characterization of metallic NPs with the potential to provide information about size and surface charge very relevant to study and predict their behavior in biological systems. In this approach an electrical field is applied in addition to the regular crossflow, both perpendicularly to the direction of separation across the flow channel, so the fractionation is influenced by diffusion and surface charge of the NP. However, this tool is still in its infancy and the literature is scarce at present, so more research is needed for its robust implementation.

In the present work, an EAF4 system combined with different detectors, ultraviolet-visible (UV-vis), multi-angle light scattering (MALS), and inductively coupled plasma with triple quadrupole mass spectrometer (ICP-TQ-MS), has been used for the characterization of size and electrical parameters, such as electrophoretic mobility and zeta potential (ζ), of gold, silver, and platinum NPs (AuNPs, AgNP, and PtNPs) both citrate- and phosphate-coated. Carriers with different composition, pH, and ionic strength have been studied since these are critical parameters both to achieve a reduced loss of particulate material, and reliable measurement of electrical parameters. The behavior of NPs has been evaluated both in terms of retention time and signal intensity under different electrical current (positive and negative) with distinct results depending on the coating. Nevertheless, further studies should be carried out, especially in the field of NPs because of the increasing social demand of information about these new materials.



Interaction of metals with microplastics derived from biopolymers in marine environment

Javier Terán Baamonde, Alatzne Carlosena Zubieta, Rosa María Soto Ferreiro, Elia Alonso Rodríguez and Soledad Muniategui Lorenzo.

University of A Coruña, Grupo Química Analítica Aplicada (QANAP), University Institute of Research in Environmental Studies (IUMA), Department of Chemistry. Faculty of Sciences., Campus de A Coruña s/n, 15071, A Coruña, javier.teran.baamonde@udc.es

In the last years, the European Union is developing initiatives to reduce the impact of plastic waste on the environment by promoting the circular economy. One of the pillars is the use of biopolymers, as this not only reduces the consumption of fossil resources but it also provides benefits for the environment. However, they must be presented as a truly sustainable alternative and the potential environmental risk associated with their use should be assessed [1].

This work evaluates the metal-microplastic interaction in the marine environment for two biopolymers, namely, polylactic acid (PLA) and poly-hydroxy butyrate (PHB), being both renewable and biodegradable.

Microplastics (MPs) were kept at sea for different time periods (0, 30, 60 and 90 days) and changes in metal content were determined. Also, adsorption and lixiviation assays were accomplished in laboratory conditions. MPs were exposed to different metal concentrations (50-500 µg/L) in marine water. Metal lixiviation was carried out with 0.1 mol/L HCl, microwave acid digestion was performed for total content and metals (Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Sb and Sn) were determined by ICP-MS.

In open environment, some metals increased their contents in PLA-MPs (Fe, Hg and Mn, 10-, 1- and 2-fold, respectively). For PHB-MPs, the same behavior was registered for Fe (4-fold) and Mn (2-fold). However, Sn content decreased over time (16 %) for PLA; and Hg (25 %), Cr, Ni, Sn (40-50 %) and Cu, Pb (100 %) for PHB.

In laboratory conditions, all metals were adsorbed in these biopolymers in some extend, as a function of the metal concentration assayed. These fractions absorbed, were desorbed in acidic conditions assayed.

These results confirm the ability of MPs from biopolymers to adsorb and desorb metals when interacting with the surrounding medium such as the ocean, representing a potential source of toxic metals. Therefore, this issue needs to be studied extensively.

Acknowledgements

J. Terán-Baamonde acknowledges Xunta de Galicia for the postdoctoral grant (ED481B-2021-090). This work was supported by the Ministerio de Ciencia e Innovación (Ref: PID2019-108857RB-C31), Xunta de Galicia (Ref: ED431C 2021/56), and MicroplastiX project (Ref. PCI2020-112145) funded by JPI Oceans program.

[1] G. Atiweh, A. Mikhael, C.C. Parrish, J. Banoub and T.T Le, Heliyon 7 (2021) e07918., ,



VARIABLE SELECTION AND SUPPORT VECTORS MACHINE TO IDENTIFY POLYMER POLLUTION

José Manuel Andrade Garda, Borja Ferreiro, Purificación López-Mahía, Soledad Muniategui.

Universidade da Coruña, FAcultad de Ciencias, Química (Area de Química Analítica), Campus da Zapateira, s/n., 15071, A Coruña, andrade@udc.es

Polymer pollution is an increasing concern both scientifically and socially. The steady appearance of plastic particles of varying sizes and morphologies worldwide, in particular in oceans (PlasticEurope 2021) urged the search for reliable characterization methods to identify the different types of polymers that constitute the (micro)plastics. Such a method would help mitigating this kind of contamination.

Infrared spectroscopy is the workhorse characterization method of plastic particles, as it can identify every kind of polymer using a very small sample amount, and not destructing the sample. However, (micro)plastic field samples suffer a plethora of different degradation processes (known collectively as weathering) that modify their spectra, like changes in the hydrocarbon skeleton, changes in crystallinity, physical erosion that alters the surface, biofouling, and others. Unfortunately, handling these effects spectroscopically is highly cumbersome, mostly when tinny particles have to be studied, (if possible at all).

A new alternative to get rid of the weathering effects of (micro)plastics is explored in this work. It is based on the working hypothesis is that some spectral variables would remain almost unchanged during weathering and, so, that they would still be useful to identify a weathered polymer. This would ameliorate the (here, undesired) effects of the other variables, that contain information related to adsorbed species and weathering.

In this work, principal components analysis is applied first to select a reduced the number of variables that will be used as inputs to several chemometric tools intended to group (unsupervised clustering) or classify the different polymer samples. Here we report the results obtained using a powerful classification technique (Belousov et al., 2002), Support Vectors Machines (SVM). The models were validated with several types of samples and results show that this novel identification methodology appears as a reliable way to identify the most common weathered polymers in the environment.

A.I. Belousov, S.A. Verzakov, J. Von Frese, J Chemom 16(8-10) (2002) 482-489., PlasticsEurope. "Plastics - the Facts 2021: An Analysis of European Plastics Production, Demand and Waste Data". Plastics Europe (Brussels, Belgium), 2021.,



How to explore a ternary mixture diagram to optimize the gradient profile for the separation of four primary aromatic amines by means of HPLC-FLD

M.M. Arce, D. Castro, L.A. Sarabia, M.C. Ortiz, S. Sanllorenzo.

Universidad de Burgos, Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Plaza Misael Bañuelos s/n, 09001, Burgos, Spain, mdaanton@ubu.es

The purpose of this work is the development of a tool in order to look for a gradient profile with ternary mixtures in liquid chromatography, that can provide well resolved chromatograms in the lowest time for multianalyte analysis. This approach is exclusively based on experimental data and does not require retention time models of the compounds to be separated [1]. The procedure has been applied to the quantification of four primary aromatic amines (PAAs): aniline (ANL), 2,4-diaminotoluene (TDA), 4,4'-methylenedianiline (MDA) and 2-aminobiphenyl (ABP), some of which are carcinogenic agents [2].

For the optimization of the separation, a gradient profile is defined by the initial and the final composition of the ternary mixture of the mobile phase (water:methanol:acetonitrile) and 11 isocratic segments during the respective times t_i ($i = 1, \dots, 11$) [3]. The procedure for searching the optimal gradient consist on two stages:

1) The domain of possible gradients is covered by performing 30 initial experiments, and from each of these chromatograms the four considered quality attributes (resolution between contiguous peaks and the final time) are obtained. A partial least squares (PLS) model is fitted for each of the four chromatogram characteristics, taking into account the composition of the mobile phase and the time of each isocratic segment of the gradient (33 predictor variables). These models are applied to new candidate gradients, 45 in this case. From the obtained predictions, only the profiles that lead to chromatograms with resolutions above 1.5, in absolute value, and final time lower than 20 min are considered. In this case, only seven profiles fulfil the imposed conditions.

2) Those seven candidate gradient profiles are experimentally verified, and out of them, the one that leads to the best resolutions in the lowest time of analysis is chosen.

Acknowledgements. The authors thank the Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León for financial support through project BU052P20, co-financed with Regional European Development Fund. M.M. Arce thanks JCYL for her postdoctoral contract through project BU052P20.

[1] R. Cela et al., *Chemometr. Intell. Lab.* 69 (2003) 137-156., [2] Commission Regulation (EU) 2020/1245, Off. J. Eur. Union L 288 (2020) 1-17., [3] L.A. Sarabia et al. (2022). <https://github.com/lsarabiapainador/MEG>



Combination of a HPLC-FLD method with PARAFAC2 decomposition for the determination of four primary aromatic amines in paper napkins

M.M. Arce, D. Castro, L.A. Sarabia, M.C. Ortiz, S. Sanllorente.

Universidad de Burgos, Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Plaza Misael Bañuelos s/n, 09001, Burgos, Spain, mdaanton@ubu.es

Primary aromatic amines (PAAs) are chemical compounds used in different production processes such as the manufacture of pesticides, dyes, polymers, drugs, cosmetics, and textiles. Moreover, they can be employed in the manufacture of food contact materials (FCM), being possible their migration to food, and consequently, being ingested by humans.

The intake of PAAs supposes a health risk because of the carcinogenicity of some of them. For instance, 4,4'-methylenedianiline (MDA) or 2,4-diaminotoluene (TDA) are classified as possibly carcinogenic (group 2B), aniline (ANL) as probably carcinogenic (group 2A), while 2-aminobiphenyl (ABP) is not included in any of the groups established by the International Agency for Research on Cancer (IARC) [1]. For this reason, European regulations limit the migration of PAAs from FCM. For paper and cardboard materials, the migration of any PAA should not be above the detection limit of 0.01 mg kg⁻¹ [2], besides, when the material is obtained from recycled fibres the migration limit is 0.1 mg kg⁻¹ [3].

In this work, the determination of ANL, TDA, MDA and ABP in extracts from three different paper napkins (one of them made of recycled paper) were carried out. The extract from each one was obtained following the European standard UNE-EN 647:1994 for the preparation of a hot water extract from paper and board intended to come into contact with foodstuffs. Extracts were analysed through a HPLC-FLD method which consists of 10 µL injection volume, methanol:water as mobile phase, gradient elution, 0.5 mL min⁻¹ flow rate and 40 °C column temperature. Software was programmed to record the whole emission spectra between 290 and 430 nm (each 1 nm) at a fixed excitation wavelength of 225 nm for each elution time of the entire analysis. Due to the complexity of the matrix of the extracts, the application of the chemometric tool PARAFAC2 was needed to the unequivocal identification and quantification of the four PAAs in the napkins. Only two amines were detected, ANL, in quantities between 33.52 y 619.3 µg L⁻¹ in the three napkins, and TDA in concentrations of 725.9 y 1908 µg L⁻¹ in two out of three napkins, in every case, concentrations above the migration limits established in European regulation.

Acknowledgements. The authors thank the Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León for financial support through project BU052P20, co-financed with Regional European Development Fund. M.M. Arce thanks JCYL for her postdoctoral contract (project BU052P20).

[1] International Agency for Research on Cancer (2022). <https://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc/>, [2] European Committee for Food Contact Materials and Articles (2021). https://www.dgav.pt/wp-content/uploads/2021/06/Paper-and-board-used-in-FCM_EDQM.pdf, [3] C. Simoneau et al., EUR 28357 EN (2016). <https://doi.org/10.2788/234276>



Método analítico para la determinación enantioselectiva de fármacos y metabolitos quirales en matrices ambientales sólidas mediante LC-MS/MS

Marina Arenas Molina, Julia Martín Bueno, Juan Luis Santos Morcillo, Irene Aparicio Gómez, Esteban Alonso Álvarez.

Universidad de Sevilla, Escuela Politécnica Superior, Química Analítica, C/Virgen de África 7, 41011, Sevilla, mamolina@us.es

La quiralidad de muchos contaminantes ambientales, como los fármacos, es un tema de creciente interés ya que, aunque los enantiómeros son isómeros ópticos con las mismas propiedades fisicoquímicas, pueden sufrir diferentes transformaciones en el medio ambiente o tener distintos efectos en los organismos [A]. La mayoría de fármacos quirales se comercializan como mezcla racémica, pero la fracción enantiomérica puede alterarse durante procesos biológicos, como los que ocurren en las plantas de tratamiento de aguas residuales. El lodo digerido resultante se composta y se emplea como abono en suelos agrícolas, lo que puede suponer un riesgo para la salud debido a la presencia de fármacos, entre otros contaminantes. Para hacer una adecuada estimación del riesgo es necesario tener datos sobre la presencia de cada enantiómero [B], por lo que en este trabajo se desarrolla un método para la determinación enantioselectiva de fármacos y metabolitos quirales en matrices ambientales sólidas. Los fármacos estudiados pertenecen a dos grupos terapéuticos: betabloqueantes y antidepresivos. El método de extracción de las muestras fue optimizado y se basa en extracción asistida por ultrasonidos seguida de un clean-up mediante extracción en fase sólida dispersiva. La determinación se lleva a cabo mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem, empleando una columna quiral Chirobiotic V. El método fue validado en suelo y lodo compostado, con resoluciones enantioméricas entre 0.8 y 17 conseguidas en 35 minutos. Las recuperaciones de la mayoría de los compuestos estuvieron entre el 33-89% y la precisión, expresada como desviación estándar relativa, fue menor del 20% en todos los casos. Los límites de detección para casi todos los analitos son inferiores a 3 ng/g y los límites de cuantificación inferiores a 10 ng/g.

[A]. R. Ma, H. Qu, B. Wang, F. Wang, G. Yu, Environ. Int. 138 (2020) 105657., [B]. M. Arenas, J. Martín, J.L. Santos, I. Aparicio, E. Alonso, Crit Rev Environ Sci Technol. (2021) 1900764.,



Identificación de metabolitos de carbamazepina en plantas silvestres sometidas a ensayos de exposición

Sofía Barreales-Suárez¹, Stéphane Azoulay², Miguel Ángel Bello-López¹, Rut Fernández-Torres¹

¹Universidad de Sevilla, Facultad de Química, Departamento de Química Analítica.

²Université Côte d'Azur, CNRS, Institut de Chimie de Nice, France.

Se discuten las vías de metabolismo de carbamazepina, en plantas sometidas a ensayos de exposición. Se evaluaron los resultados obtenidos en cuanto a acumulación y metabolismo en tres variedades de plantas silvestres del Parque Nacional de Doñana (Andalucía, España) y con distinta demanda de agua para su ciclo vital: *Lavandula dentata* (planta leñosa, que necesita poca agua y se encuentra en casi todos los hábitats terrestres del parque), *Salicornia europaea* (propia de la zona costera del parque) y *Juncus* sp (que vive en las zonas inundadas de agua dulce, donde se encuentran las lagunas y los lucios del parque). Esto permitió estudiar tres escenarios distintos representativos de los diversos ecosistemas que conforman el Parque.

Los especímenes fueron regados con disoluciones de carbamazepina de $10 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, $700 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ y $10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ y, periódicamente (a los 7, 14 y 21 días) y se analizaron tallos y hojas (en su caso). Las raíces fueron analizadas al final del ensayo. Los resultados indican una clara dependencia del tipo y parte de la planta, de la concentración de la disolución de riego y del tiempo de ensayo.

Para la identificación de los metabolitos y su posterior confirmación, se llevó a cabo un análisis cromatográfico, utilizando como detector un espectrómetro de masas de cuadrupolo-tiempo de vuelo (Q-TOF). Se registraron los espectros de masas simultáneos de baja y alta fragmentación (40 espectros/seg) para su posterior procesamiento computacional utilizando el software Metabolynx®, que relaciona las probables rutas metabólicas de posibles metabolitos "esperados" e "inesperados" según sus patrones de fragmentación, proporcionando la posible fórmula empírica del metabolito. Se han identificado varios posibles metabolitos de carbamazepina correspondientes a diversas vías metabólicas y, cuando fue posible, se analizó su abundancia relativa. La confirmación se llevó a cabo mediante el análisis de los espectros de alta energía obtenidos en el tiempo de retención característico y teniendo en cuenta los patrones de fragmentación posible para la molécula padre. Entre los metabolitos encontrados de forma más recurrente se encontraron: acridina-9-carbaldehído, iminostilbeno, 10,11-dihidro-carbamazepina, 10,11-epoxi-carbamazepina, 2-hidroxi-carbamazepina, 3-hidroxi-carbamazepina y 9-acridina (raíces).

En cuanto al metabolismo de carbamazepina en las plantas ensayadas, se han encontrado comportamientos claramente diferenciados para cada planta y condiciones de riego, así como en las distintas partes de las mismas. Asimismo, durante los ensayos también se puso de manifiesto la influencia de la salud de estas en su fisiología, que se refleja en los procesos metabólicos implicados (y detectados) en cada caso.

Agradecimientos: Los autores agradecen la financiación para el desarrollo del proyecto a través de los proyectos PGC2018-096608-B-C22 de FEDER/Ministerio de Ciencia e Innovación – Agencia Estatal de Investigación



Comprehensive analysis of polar and multiresidue-type pesticides using 2D-LCMS

Irene Caño-Carrillo, Ana B. Martínez-Piernas, Juan F. García-Reyes, Bienvenida Gilbert-López, Antonio Molina-Díaz

Universidad de Jaén, Facultad de Ciencias Experimentales, Departamento de Química Física y Analítica, Campus Las Lagunillas, 23071 Jaén, icano@ujaen.es.

The presence of pesticides in foodstuffs has become a growing concern worldwide. The development of multi-residue methods covering a wide array of analytes with different physicochemical properties is a challenging task since there are certain highly polar pesticides that are not amenable to be analysed with conventional multi-residue methods. [1]. Previous studies have attempted to overcome this difficulty by proposing a multi-residue analysis of pesticides in a single run using a parallel configuration of hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) and reversed-phase chromatography (RP) [2]. Nevertheless, despite the significant achievement obtained in this study, one drawback is the need to prepare two sample aliquots, each one with the appropriate solvent composition for HILIC and RPLC separation. Consequently, the present work proposes the development of an online two-dimensional liquid chromatography method based on the heart-cutting methodology for the simultaneous analysis of polar and non-polar pesticides, using a HILIC column in the first dimension (1D) and a RPLC column in the second dimension (2D). The aim of this study was to transfer in a single cut the void volume from the HILIC separation (consisting of the non-polar pesticides) to the 2D for analysis under RPLC conditions, achieving a simultaneous visualization of the 1D and 2D contents in a single analysis. The coupling between 1D and 2D was achieved by a multiple heart-cutting (MHC) interface equipped with an ASM (Active Solvent Modulation) valve in order to minimise solvent strength mismatch between both dimensions as well as to improve the focusing of the transferred analytes on the 2D column head. The main limitation of this MHC system is that only the compounds that are transferred to the 2D are analysed, while the rest of the information from the 1D effluent is lost. This occurs due to the algorithm that controls the MHC system, which is unable to delay the 2D analysis until all of the 1D effluent has been analysed [3]. The strategy proposed in this study is the coupling of a column selection valve to the MHC system, thus avoiding the loss of information and achieving the visualisation of both dimensions in a single run. Therefore, the proposed method can be applied for the simultaneous analysis of pesticides covering a wide range of polarity with the advantage of acquiring the two dimensions in a single file without resorting to sophisticated instrumentation (only a column selection valve) and without the need for additional software.

[1] M. Anastasiades, D.I. Kolberg, E. Eichorn, A. Benkestein, S. Lukacevic, D. Mack, C. Wildgrube, I. Sigalova, D. Dörk, A. Barth, Quick Method for the Analysis of Residues of Numerous Highly Polar Pesticides in Foods of Plant Origin Involving Simultaneous Extraction with Methanol and LC-MS/MS Determination (QuPPe-Method). Version 12, 2021. <http://www.quppe.eu/>

[2] J. Robles-Molina, B. Gilbert-López, J.F. García-Reyes, A. Molina-Díaz, Simultaneous liquid chromatography/mass spectrometry determination of both polar and "multiresidue" pesticides in food using parallel hydrophilic interaction/reversed-phase liquid chromatography and a hybrid sample preparation approach, *J. Chromatogr. A* 1517 (2017) 108–116.

[3] R.D. Brynish, J. Alex, D. Subham, T.A. Angel, Multiple heart-cutting two-dimensional liquid chromatography: recent developments and applications, *Curr. Anal. Chem.* 17 (2021) 339–354.



3D printed immunoaffinity sorptive optosensor for determination of microcystin-LR in seawater

Enrique Javier Carrasco-Correa, Julia Aguirre-Camacho, Ernesto Francisco Simó-Alfonso, José Manuel Herrero-Martínez, Manuel Miró.

Universitat de València, Facultat de Química, Departamento de Química Analítica, C/ Doctor Moliner, 50, 46100, Burjassot, Valencia, enrique.carrasco@uv.es

Microcystins (MCs) are monocyclic heptapeptides toxins produced by fresh and seawater cyanobacteria, such as *Microcystis*, *Anabaena*, *Nostoc* and *Oscillatoria* species. The occurrence of MCs in water is usually caused along the bloom senescence of cyanobacteria. Microcystin-LR (MC-LR) is the most toxic, and the most frequent among nearly 250 microcystins that have been identified to date. These molecules act as inhibitors of protein phosphatases and some of them has been proved that can play a role in the initiation and promotion of tumors. There is a quest for the development of novel low-cost analytical platforms for these toxins, especially for MC-LR. For this purpose, the use of 3D printing, an additive manufacturing technique, in combination with antibodies for the development of optosensors could be an interesting approach.

In this work, a 3D-printed portable sample preparation device (so-called 3D fluorescence cuvette stirrer) was designed, printed and covalently modified with an antibody for the selective extraction of MC-LR in seawater. The particularity of this device is the possibility to be used in conventional molecular fluorescence instruments to perform solid-phase fluorescence measurements after sorptive preconcentration of MC-LR. The modified 3D-printed device was morphologically characterized by scanning electron microscopy and energy dispersive analysis X-ray. The amount of attached antibody and the cross-selectivity with MCs other than MC-LR were also studied. Also, analytical parameters, such as loading capacity, breakthrough volume, reproducibility, and limit of detection were established. Finally, the device was applied to the analysis of MC-LR in seawater samples. This work demonstrates the capability of 3D printing to develop immunoaffinity microextraction optosensors with enhanced characteristics and with very low expenditures.

Acknowledgement. Enrique Javier Carrasco-Correa, Ernesto Francisco-Simó and José Manuel Herrero acknowledges financial support from the Spanish State Research Agency (AEI) and the Spanish Ministry of Science and Innovation (MICINN) through project RTI2018-095536-B-I00. Enrique Javier Carrasco-Correa and Manuel Miró also acknowledge AEI and MICINN through project PID2020-117686RB-C33/10.13039/501100011033. The authors extend their appreciation to MICINN for granting the Spanish Network of Excellence in Sample preparation (RED2018-102522-T). This communication is based upon work from the Sample Preparation Study Group and Network, supported by the Division of Analytical Chemistry of the European Chemical Society.

..



Estimation of the concentrations of semi-volatile compounds in indoor air through analysis of water condensates

Miguel Cobo Golpe, María Ramil Criado, Rafael Cela Torrijos, Isaac Rodríguez Pereiro.

Universidade de Santiago de Compostela, Facultad de Química, Departamento de química analítica, Constantino Candeira sn, 15782, Santiago de Compostela, miguel.cobo.golpe@usc.es

Air from indoor environments contains a range of volatile and semi-volatile compounds, which are related to activities developed in these areas, household products, furniture, and building materials. Humans are exposed to this burden of compounds through inhalation, ingestion and dermal contact. The increasing incidence of respiratory diseases and allergies has been correlated with this exposure. Mass spectrometry (MS), following a gas chromatographic separation step, is the ideal technique for the characterization of volatile and semi-volatile compounds in these environments.

Sampling is a critical step in the determination of volatile and semi-volatile species in indoor air. Active sampling protocols consider the use of sorbents where compounds are trapped before solvent, or thermal, desorption. Depending on the sampled air volume and the sampling flowrate, these devices might be noisy and disturbing for people developing their activities in the investigated areas. Passive devices provide average concentration data; however, they need a calibration step, and do not provide data corresponding to punctual concentration. Analysis of condensed water samples, either obtained from air conditioning facilities or from portable water dehumidifiers [1], has been described as an indirect method to identify the presence of semi-volatile compounds existing in confined atmospheres.

Herein, we assess the possibility to quantify the air concentrations of a series of model semi-volatile compounds from levels noticed in condensed water samples obtained using a portable dehumidifier. To this end, active sampling experiments were carried out simultaneously to condensed water samples collection in different areas. Compounds were desorbed from the trapping sorbent and quantified using GC-MS, based on a time-of-flight MS instrument. Water samples were concentrated by SPE and extracts were analyzed using the same technique. Performance of the active sampling process and SPE of condensed water aliquots were validated and distribution constants between air and water phases calculate. These constants were further employed to predict air concentrations of target compounds in a second series of assays through analysis of water condensates, comparing predicted levels with those obtained using active sampling.

Acknowledgments

This study was supported through grants PGC2018-094613-B-I00 and ED431C 2021/06, funded by Spanish Government and Xunta de Galicia, respectively. Both projects are co-funded by the EU FEDER program. M.C.G. thanks a FPI fellowship to the Ministry of Science and Education (Spain).

M. Cobo-Golpe, M. Ramil, R. Cela, I. Rodríguez, *Chemosphere* 251 (2020) 126346. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126346>, ,



Determinación de subproductos de desinfección en agua tratada por ozonización mediante microextracción en fase líquida de fibra hueca y cromatografía de gases acoplada a detector de captura de electrones

Rafael de Fátima Vélez-Pérez, Rafael de Fátima Vélez-Pérez, Antonio Domínguez-Tello, Tamara García Barrera.

Huelva, Facultad de Ciencias Experimentales, Departamento de Química, Avda. Fuerzas Armadas S/N, 21007, Huelva, rafael.velez@dqcm.uhu.es

Los subproductos de la desinfección (DBPs) pueden generarse por la reacción de sus compuestos orgánicos precursores contenidos en el agua cruda con los productos oxidantes, especialmente el cloro, utilizados durante los procesos de oxidación química y desinfección en las plantas de tratamiento de agua potable [1]. El ozono, que se puede utilizar para eliminar la turbidez, el color, el sabor y el olor, es el oxidante más potente para la desinfección, la oxidación del hierro y el manganeso, y el control de trihalometanos (THMs). La pre-ozonización es capaz de descomponer compuestos precursores orgánicos en moléculas más biodegradables. Sin embargo, es necesario optimizar la dosis de ozono para evitar la formación de otros subproductos de oxidación derivados de estas reacciones de descomposición, como bromatos, ácidos carboxílicos, aldehídos y cetonas.

En colaboración con la empresa pública de abastecimiento de agua de Huelva (GIAHSA), estamos desarrollando un proyecto para el desarrollo y la aplicación de una nueva herramienta de gestión de procesos por control remoto. Esta nueva herramienta de control de procesos, que se aplica a escala real en la Planta de Tratamiento de Agua de Lepe, se basa en la ejecución de un modelo predictivo de concentración de DBPs que calcula la dosis óptima de Ozono a partir de las señales de las variables medidas en planta, especialmente la absorción espectral. Coeficiente a 254 nm (SAC), pH, temperatura, cloro residual y tiempo de contacto. La formación de DBP en el agua tratada se evaluó mediante el análisis de 19 DBP multiclasa que incluyen: (i) regulados: trihalometanos y ácidos haloacéticos (HAAs) y (ii) emergentes: yodo-trihalometanos, halonitrometanos, haloacetoneitrilos, halocetonas y HAAs. Analizamos 80 muestras de agua cruda, filtrada y tratada de cinco puntos de muestreo diferentes del entorno de Huelva. Para ello, se extrajeron los DBPs de las muestras mediante microextracción en fase líquida de fibra hueca (HF-LPME) y análisis mediante cromatografía de gases con detector de captura de electrones (GC-ECD). Se llevó a cabo un paso de derivatización tras la extracción líquido-líquido para el análisis de HAAs. Los resultados mostraron que casi todos los DBPs se detectaron en muestras de agua tratada en el rango de 0,5-20,4 y hasta 31,1 µg/L en el caso de los HAAs.

[1] WHO. Guidelines for drinking-water quality, 4th edition. External World Health Organization, Geneva. 2011. Agradecimientos: Los autores agradecen a GIAHSA por la financiación privada y a FEDER (Comunidad Europea) por el apoyo financiero, Grant UNHU13-1E-1611., ,



¿Es efectivo el CO₂ como atmosfera protectora de cebos proteicos para el control de la especie invasora *Vespa velutina*?

Omaira de la Hera Fernández, Mariluz Alonso, Rosa Maria Alonso.

Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Facultad de Ciencia y Tecnología, Grupo FARMARTEM, Departamento de Química Analítica, Barrio Sarriena s/n, 48940, Leioa, omaira.delahera@ehu.eus

La especie exótica *Vespa velutina* (Lepelletier 1836), originaría del continente asiático, fue introducida por error en Francia en 2004 mediante mercancías provenientes de China, expandiéndose rápidamente por todo el país.

En agosto de 2010 se realizó el primer avistamiento en la península ibérica de una adulta obrera en Navarra, y en pocos años ha llegado a asentarse a lo largo de todo el norte peninsular.

La presencia de esta especie fuera de su hábitat natural está ocasionando una gran amenaza a nivel medioambiental, económico y de salud, ya que se trata de un depredador de fruta e insectos autóctonos, entre los que se encuentran las abejas de la miel (*Apis mellifera*), a las cuales caza para alimentar a sus larvas, llegando a destruir colmenares enteros.

Una de las herramientas para combatir estos ataques es la utilización de cebos proteicos con biocida en los colmenares de abejas. La futura comercialización de estos cebos hace necesario llevar a cabo un estudio de su estabilidad. Para ello, se sintetizaron 4 cebos proteicos (CB, CP+, CR+ y CS+) en atmósfera protectora de CO₂ y se almacenaron en bolsas de plástico termoselladas, que contenían dicho gas. Para establecer la efectividad del uso de la atmosfera protectora como conservante, se estudió la estabilidad de un cebo proteico (CA) sintetizado con el mismo procedimiento y tipo de proteína que el CB, pero en ausencia de CO₂.

Las variables tiempo y tipo de almacenamiento se fijaron para los 5 cebos estudiados, 21 días en nevera y temperatura ambiente. Los análisis se realizaron a tiempo cero (t₀), 2, 5, 7, 14 y 21 días. Se utilizó un método de HS-SPME-GC/MS desarrollado para la obtención del perfil de compuestos volátiles de los cebos proteicos. Una vez identificados los compuestos volátiles, con una coincidencia con la librería NIST superior al 70 %, se realizaron diferentes tratamientos de los datos obtenidos: evolución de los compuestos existentes en los cebos en base al tipo y tiempo de almacenamiento, análisis multivariante y selección de marcadores de deterioro.

De los resultados obtenidos se puede concluir que la utilización de CO₂ es efectiva para la conservación de cebos proteicos ya que retrasa la aparición de compuestos volátiles indicadores de deterioro. Así mismo, se han identificado el Metanetiol, Dimetil sulfuro y Dimetil disulfuro como marcadores de deterioro comunes en los 5 cebos estudiados.

K. Monceau, O. Bonnard, D. Thiéry, *Vespa velutina*: a new invasive predator of honeybees in Europe. *Journal of Pest Science* 87 (2013) 1-16., B. Nosedá, Md. T. Islam, M. Eriksson, M. Heyndrickx, K. De Reu, H. Van Langenhove, F. Devlieghere, *Microbiological spoilage of vacuum and modified atmosphere packaged Vietnamese Pangasius hypophthalmus filets*. *Food Microbiology* 30 (2012) 408-419, T. Miyasaki, M. Hamaguchi, S. Yokoyama, *Change of Volatile Compounds in Fresh Meat during Ice Storage* 76 (2011) 1319-1325



Determinación de contaminantes orgánicos persistentes y sus metabolitos mayoritarios en líneas celulares y larvas de pez cebra para estudios de metabolización

Paloma de Oro Carretero, Jon Sanz Landaluze.

Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Av. Complutense s/n, 28040 Madrid, pdoro@ucm.es

La metabolización juega un papel crucial en la regulación de la toxicidad de los compuestos químicos, no solo por los procesos endógenos de detoxificación, sino también porque se ha encontrado que algunos metabolitos presentan toxicidades y factores de acumulación superiores a los compuestos parentales [1]. No obstante, el conocimiento de los metabolitos y sus mecanismos de formación es bastante limitado, añadido a que, actualmente, no existe ninguna regulación ni guía oficial para medir la biotransformación. En nuestros estudios recientes [2], se ha demostrado la viabilidad de un método alternativo in vivo con larvas de pez cebra para estudios de metabolización, desarrollado previamente en el grupo de investigación [3]. Sin embargo, aunque el pez cebra se está utilizando de forma exitosa como biomodelo, los análisis in vitro con líneas celulares de este organismo han recibido menos atención. La combinación de estudios en larvas de pez cebra con estudios utilizando sus líneas celulares (ZF4, ZFL...) es una plataforma adecuada para avanzar en la dilucidación de algunas de las principales rutas metabólicas y la evaluación del riesgo de estos productos.

En este estudio, se evalúa la biotransformación de PAHs (Fluoreno y Fenantreno) y PBDEs (BDE-47), conocidos contaminantes orgánicos persistentes con poder cancerígeno y disrupción endocrina respectivamente, en sus metabolitos mayoritarios (OH-PAHs, OH-BDEs y MeO-BDEs). La dificultad de estas determinaciones radica en las diferentes características físico-químicas de los analitos, ya que presentan diferentes grupos funcionales, en la baja concentración en que se encuentran y el pequeño tamaño de las muestras.

El protocolo analítico desarrollado combina una extracción miniaturizada asistida con sonda de ultrasonidos, seguida de una etapa de limpieza basada en d-SPE. Los PAHs se determinan mediante LC-FL y el BDE-47 por GC-MS- μ ECD debido a la sensibilidad que aportan dichas técnicas analíticas para cada tipo de compuestos. Los metabolitos se determinan en ambos casos por GC-MS- μ ECD, siendo necesaria una derivatización previa en los metabolitos hidroxilados (OH-PAHs y OH-BDEs). Para ello, se han optimizado las variables más importantes del método tales como disolventes de extracción, adsorbentes y reactivos, tiempos y temperaturas de derivatización; así como las variables cromatográficas. Las metodologías desarrolladas han sido aplicadas a la determinación de los compuestos parentales y los metabolitos tanto en larvas de pez cebra y líneas celulares como en sus medios de exposición.

Este trabajo está financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación [PID2020-114714RB-100] y por el programa Comunidad de Madrid PB2018/BAA-4393- AVANSECAL II-CM.

[1] C.Y. Usenko, D.C. Hopkins, S.J. Trumble, E.D. Bruce, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 262 (2012). [2] N. Molina-Fernández, S. Rainieri, R. Muñoz-Olivas, P. De Oro-Carretero, J. Sanz-Landaluze, *Anal. Bioanal. Chem.* 413 (2021). [3] J. Sanz-Landaluze, M. Pena-Abaurrea, R. Muñoz-Olivas, C. Cámara, and L. Ramos, *Environ. Sci. Technol.* 49 (2015).



Microextracción con disolventes supramoleculares (SUPRAS) contenidos en sondas de vidrio para la detección ultrarrápida de bisfenoles mediante espectrometría de masas ambiental

María Jesús Dueñas Mas, Ana María Ballesteros-Gómez, Soledad Rubio-Bravo.

Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias, Química Analítica, Edificio Anexo Marie Curie, Campus de Rabanales, 14071, Córdoba, q22dumam@uco.es

En este estudio, se investiga el empleo de sondas de microextracción con disolventes supramoleculares (SUPRAS) para el desarrollo de tratamientos rápidos y genéricos de muestra previos a análisis cualitativo mediante espectrometría de masas ambiental basada en ASAP (atmospheric solids analysis probe).

La espectrometría de masas ambiental consiste en la introducción directa de la muestra en el analizador. La técnica ASAP consiste en colocar la muestra en un capilar de vidrio que es introducido directamente en la fuente APCI, donde los analitos son desorbidos por temperatura e ionizados por la corona de descarga. El número de estudios acerca de estrategias de preparación de muestras acopladas a la espectrometría de masas ambiental está aumentando rápidamente con el objetivo de mejorar la reproducibilidad, selectividad y sensibilidad de estas técnicas.

Los SUPRAS son líquidos nanoestructurados formados por el autoensamblaje de agregados anfílicos con múltiples sitios de unión y microambientes de diferente polaridad, lo que los convierte en excelentes extractantes.

Con el fin de proponer una etapa de tratamiento de muestra simple y rápida, los SUPRAS fueron cargados en sondas de vidrio de ASAP (1,1–2 μ L) y se pusieron en contacto con las muestras durante 10 s antes del análisis. Se evaluaron diferentes tipos de SUPRAS de agregados inversos preparados con agua, distintos disolventes orgánicos y distintos anfílicos (ácidos carboxílicos, alcoholes y dioles, C6-C10). El método se aplicó al cribado de bisfenol A y análogos en papel térmico. Los resultados óptimos se lograron con SUPRAS de 1-decanol en mezclas de etanol:agua. Los picos de señal de AMS (ancho: 0,2–0,5 min) se integraron y normalizaron fácilmente con estándares internos (RSD: 2–25 %). Por el contrario, el análisis directo de sólidos generó una señal de MS continua y contaminación cruzada en la fuente debido a la liberación de partículas. Se analizaron 62 muestras (tickets de supermercados, tiendas, gasolineras, etc.). El BPA y el BPS fueron los más utilizados, lo que pone de manifiesto la progresiva sustitución industrial del BPA por el BPS. El uso de otras alternativas (TGSA, Pergafast 201, D-8, etc.) es aún limitado.



Automated determination of multiclass micropollutants in surface water samples by liquid chromatography tandem mass spectrometry on-line combined with solid-phase extraction

Victoria Fernandez Fernandez, Alberto M. Rodríguez de Blas, María Ramil, Rafael Cela e Isaac Rodríguez.

Universidade de Santiago de Compostela, Research Institute on Chemical and Biological Analysis (IAQBUS), Department of Analytical Chemistry, Nutrition and Food Sciences, Calle Constantino Cadeira SN Campus Sur, 15782, Santiago de Compostela, victoriafernandez.fernandez@usc.es

The impact of anthropogenic activities in the quality of environmental water samples has been widely recognized. Particularly, chemical pollution associated to urban, industrial and agriculture activities has been investigated through the analysis of several groups of organic micropollutants in different types of water samples, from urban sewage to surface, groundwater and even drinking water. Currently, a suite of pharmaceuticals, personal care products, industrial additives and, even drugs of abuse, have been identified as poorly biodegradable compounds, during treatment of urban wastewater samples, with a chance to pollute surface and even ground water samples. Application of pesticides to crops might also lead to contamination of water resources due to migration of compounds from soil to groundwater, and/or transport from the upper soil layer through wind and run off erosion to surface water reservoirs.

In this presentation, we show the features of an automated analytical method for ultratrace analysis of a suite of 80 organic micropollutants in surface water samples obtained from rivers and streams, either affected by urban activities and/or diffuse contamination of pesticides employed in agriculture activities. The selection of target compounds was made attending to (1) occurrence in urban wastewater and limited biodegradability at sewage treatment plants (STPs), (2) previous detection in foodstuff samples produced in the investigated areas and/or (3) inclusion in the European Watch list of species to be controlled in the aquatic environment. Samples were obtained in different campaigns performed during 2021 and 2022, in 3 fluvial systems in Galicia (Northwest Spain). Compounds are determined in water by solid-phase extraction on-line combined with liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)

Overall, half of investigated compounds (above 40 micropollutants) were found in at least one sampling site above method LOQs. Several pharmaceuticals, such as pain relief compounds, cardiovascular drugs and psychiatric use compounds were ubiquitous in the investigated surface water samples. Moreover, several pesticides were detected at significant concentrations in water courses from agriculture activity areas. Also, some compounds, with significant groundwater ubiquity score (GUS), were systematically found in streams draining agriculture fields, even during winter time when they are not applied to permanent crops.

Acknowledgments

This study was supported through grants PGC2018-094613-B-I00 and ED431C 2021/06, funded by Spanish Government and Xunta de Galicia, respectively.



Dielectric barrier discharge ionization mechanisms: polycyclic aromatic hydrocarbons as case of study

Juan Francisco García Reyes, Marcos Bouza, Julio García-Martínez, Bienvenida Gilbert-López, Sebastian Brandt, Joachim Franzke, Antonio Molina-Díaz.

University of Jaén, Department of Physical and Analytical Chemistry, Analytical Chemistry Research Group (FQM-323), Campus Las Lagunillas, Edif. B3, 23071, Jaén, jfgreyes@ujaen.es

Dielectric barrier discharge ionization (DBDI) is a versatile tool used in hundreds of applications coupled to mass spectrometry. However, the plasma ionization mechanisms were assumed as similar to those occurring in atmospheric pressure chemical ionization (APCI) and the research related with the topic is scarce. In the present work, the ionization mechanisms of DBDI were evaluated for vaporized liquid samples using mass spectrometry. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) were used as model compounds to assess the dominant ionization mechanisms, protonation or radicalization. Protonation was the prevailing mechanism for corona discharge, used as reference ion source, meanwhile charge exchange ruled in DBDI, showing uneven trends for a common ionization mechanism. Corona discharge is an open plasma that creates a cascade of reactions based in the surrounding atmosphere (nitrogen, oxygen, carbon dioxide) and the electrons generated in the discharge. On the other hand, DBDI is a two-step plasma: the metastable atoms of the discharge gas and the gas contaminants promote a series of molecules, atoms and ions inside of the capillary, which reach the plasma jet and favors different gas-phase chemistry. Dopants were added in the gas-phase to facilitate charge exchange reactions and form $[M]^+$ PAHs ion species. Although the dopants switched the ionization mechanism, just anisole showed a prominent boost during PAH radical ion species formation. In addition, the "low" ionization potential (IE) of anisole, close to the IE of PAHs, revealed a greater efficiency of charge exchange ionization if the IE are similar or slightly higher. Two discharge gases, helium (He) and argon-propane (Ar-Prop), were used to evaluate the influence of the discharge gases metastables energy during charge exchange reactions in the plasma jet region. High energy He metastables (19.80 eV) did not show any outperformed behavior forming PAH radical, despite the high energy; most of the reactions involving discharge gas metastables occurred inside of the capillary. In the plasma jet region, other species, such as $N_2 B^3\Pi_g$ excited molecules, were responsible for PAH Penning ionization.

..



Aplicación de GC-Q-Exactive ORBITRAP en la identificación y cuantificación de coformulantes en hojas de planta de tomate y suelo

Mireya Granados Povedano, Francisco Javier Arrebola Liebanas, Irene Domínguez Pérez, Francisco Javier Egea González, Antonia Garrido-Frenich.

Almería, Ciencias experimentales, Química y Física, Carr. Sacramento, s/n, 04120, La Cañada, Almería, mgp794@ual.es

En general, la(s) sustancia(s) activa(s) (uno o varios plaguicidas) de un producto fitosanitario (Plant Protection Product, PPP) suele representar menos de la mitad del porcentaje total de la composición del mismo. Una parte importante del producto comercial está constituida por disolventes, adyuvantes, estabilizantes, etc. Son sustancias denominadas coformulantes y cuya finalidad es estabilizar y/o potenciar la acción del principio activo. Existe muy poca información sobre dichos coformulantes ya que la legislación no exige su identificación en el producto comercial, sólo la de la sustancia activa.¹ Sin embargo, aunque los estudios previos son escasos, estos productos pueden ser adversos para los ecosistemas o la salud humana por lo que es de gran importancia llevar a cabo un estudio de los mismos.²

En este trabajo se ha optimizado y validado un método analítico completamente automatizado basado en el uso de microextracción en fase sólida (Solid-Phase Microextraction, SPME) de espacio de cabeza junto a la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (Gas Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry, GC-HRMS), para la detección de coformulantes en hojas de plantas y suelo. Para ello, se seleccionaron 22 sustancias apolares típicamente presentes en los PPP, como, por ejemplo, tolueno o pentametilbenzeno. Los estudios demostraron que la mejor fibra para la extracción fue de 100 µm de polidimetilsiloxano (polydimethylsiloxane, PDMS). El método se aplicó al análisis de muestras de hojas y suelo tras aplicar un producto fitosanitario, Ceremonia (conteniendo difenoconazol al 25% p/p), en un cultivo de tomate en invernadero (Almería, España). El uso de la HRMS con analizador Q-Exactive Orbitrap resultó de gran ayuda para la determinación de compuestos en modo de análisis dirigido y no dirigido. Sustancias como naftaleno o bifenilo fueron encontradas en diversas concentraciones en suelo y hojas. Se realizó un seguimiento del comportamiento de los coformulantes durante 53 días en el estudio de campo, lo que permitió conocer su patrón de disipación en ambas matrices estudiadas.

La metodología propuesta resultó rápida, sencilla y fiable para la identificación y seguimiento de los coformulantes en suelo y hojas, y demostró que estas sustancias tóxicas deben ser estudiadas con más profundidad a fin de garantizar la seguridad ambiental y del consumidor.

Loa autores agradecen la Ministerio de Ciencia e Innovación y FEDER-EU (proyecto ref. PID2019-106201RB-I00) por el apoyo financiero.

CTGB. Regulation on Plant Protection Products. 2011, 553-556., Maldonado-Reina, A. J.; López-Ruiz, R.; Garrido Frenich, A.; Arrebola, F. J.; Romero-González, R. Talanta 2021, 234, 122641,



Búsqueda de coformulantes mediante HS-SPME-GC-HRMS en hoja de tomate de cultivo hidropónico y agua del sistema de fertirriego

Mireya Granados-Povedano, Mireya Granados-Povedano, Francisco Javier Arrebola, Irene Domínguez, Francisco Javier Egea González, Antonia Garrido French.

Almería, Ciencias Experimentales, Química y Física, Ctra. Sacramento s/n, 04120, Almería, garrido@ual.es

Los coformulantes son sustancias complementarias presentes en los fitosanitarios (Plant Protection Product, PPP) para optimizar la acción del principio activo. Al igual que el plaguicida al que acompañan, estos compuestos pueden llegar a ser tóxicos tanto para el ecosistema como para la salud humana.¹ No obstante, son compuestos poco estudiados y ni siquiera figuran en el etiquetado. Los cultivos hidropónicos han adquirido gran relevancia sustituyendo al suelo por una solución acuosa o un material inerte como la fibra de coco. Suelen ser sustratos reutilizables y puede haber acumulación de contaminantes como los plaguicidas o coformulantes. Por tanto, es de gran importancia conocer la distribución de estos compuestos en estos nuevos sistemas de cultivo.²

En este trabajo se ha realizado un estudio de campo a fin de evaluar la potencial contaminación por coformulantes en hojas de tomate cultivadas en un sistema hidropónico de invernadero y en el agua procedente del sistema de fertirriego. Las plantas fueron tratadas con el PPP Topas que contiene penconazol en un 19,4% p/p como sustancia activa y una serie de coformulantes no declarados por el fabricante. Para su estudio, se ha empleado un método analítico totalmente automatizado que ha eliminado la manipulación de la muestra gracias a la microextracción en fase sólida (SPME) de espacio de cabeza con cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (GC-HRMS). El método resultó válido tanto para muestras sólidas como líquidas demostrando su polivalencia.

Inicialmente, se llevó a cabo una búsqueda dirigida de 22 coformulantes altamente empleados en PPPs y de los que se disponía de patrones analíticos. En una segunda etapa, se amplió el rango de búsqueda mediante la estrategia de análisis no dirigido gracias a las características de la HRMS empleada. Se detectaron diversos compuestos y se realizó un seguimiento de los mismos durante 2 meses hasta la finalización del periodo de cosecha. Se observaron diferencias entre las dos matrices de estudio seleccionadas, observándose un mayor número de coformulantes en las hojas que en el agua de fertirrigación, aspectos que pueden resultar claves a la hora de reutilizar dichas aguas en los sistemas hidropónicos, muy útil para la economía circular.

Los autores agradecen al Ministerio de Ciencia e Innovación de España y FEDER-EU (proyecto ref. PID2019-106201RB-I00) por el apoyo financiero.

Referencias

- (1) Straw, E. A.; Brown, M. J. F. Co-Formulant in a Commercial Fungicide Product Causes Lethal and Sub-Lethal Effects in Bumble Bees. *Sci. Reports* 111 (2021) 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00919-x>.
- (2) Cagri Tolga, A.; Basar, M. The Assessment of a Smart System in Hydroponic Vertical Farming via Fuzzy MCDM Methods. *J. Intell. Fuzzy Syst.* 42 (2022) 2-12. <https://doi.org/10.3233/JIFS-219170>.



Colorimetric μ TPAD for cyanide determination

María Amparo Hernández García, Miguel M Erenas, Ignacio de Orbe Payá, Gerhard J. Mohr, Luis Fermín Capitán Vallvey,.

Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Química Analítica, Avenida de Fuentenueva S/N, 18071, Granada, mariaamparo@ugr.es

The cyanide anions are widely-known because of its acutely toxicity to mammals, affecting mainly to the cardiovascular, respiratory and nervous systems. However, it is industrially synthesized and used in large quantities in mining, plastics, productions of organics chemicals, electroplating and metallurgy. Consequently, there exists accidental cyanide contamination in waste water and different water sources (rivers, lakes, oceans and sewage water) [1]. Therefore, there is a necessity of develop sensitive devices with low Limit of Detection (LOD) since the concentration of cyanide in waters allowed by local, national and international guidelines and regulations encompass a range of 50 - 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ [1].

In this study, it is proposed a colorimetric μ TPAD (Microfluidic Thread and Paper Analytical Device) for the determination of cyanide. The μ TPAD is composed of a sampling area, microfluidic channel, sensing area and passive pump. Hence, the main goal of this project is enhance the sensitivity of the device applying preconcentration techniques in order to the determine cyanide within the regulations. The detection and quantification of cyanide is performed in the sensing area, that is made of Whatman grade 1 paper with covalently immobilized chromoeactand GJM-530 [2].

The GJM-530 reacts with the cyanide ions changing its color from orange to pink. The analytical parameter used is the H coordinate of the HSV color space extracted from a photograph of the device. As the signal obtained depends on the pH, it is adjusted by depositing 0.1 M pH 7 phosphate buffer on the microfluidic channel. Finally, due to the low concentration of cyanide in the sample, a very low detection limit is required. The strategy followed is to use a high volume of sample together with a passive pump at the end of the μ TPAD, avoiding saturation of the device and, consequently, stopping the flow. Thanks to this strategy, it is possible to use sample volumes from 100 μL , improving the detection limit of the device in the 10⁻⁵ M range.

[1] J. Ma, Puenendu K. Dasgupta. Recent development in cyanide detection: A review. *Anal. Chim. Acta.* 673, 117-125 (2010)., [2] M. Arroyo , I. de Orbe-Payá, M. Ortega-Muñoz, J. Vilar Tenorio, D. Gallego, G. Mohr, L.F. Capitán-Vallvey, M.M. Erenas. Capillary microfluidic platform for sulfite determination in wines. *Sensors and Actuators B: Chemical.* 359 (2022) 131549,



Preliminary assessment of pharmaceuticals occurrence in urban wastewaters and surface waters from Peru: proposals for future monitoring and environmental risk assessment

Félix Hernández Hernández, Ana Maria Botero Coy, David Fabregat Safont, Ricardo A. Torres Palma, Jessica I. Nieto Juárez.

Universidad Jaume I, Escuela Superior de Tecnología y Ciencias Experimentales, Instituto Universitario de Plaguicidas y Aguas (IUPA), Avda Sos Baynat s/n, 12006, Castellon, felix.hernandez@uji.es

Pharmaceuticals are emerging contaminants frequently found in the aquatic environment. One of the main sources of pharmaceuticals is urban wastewater, due to their incomplete removal in wastewater treatment plants (WWTP). Monitoring pharmaceuticals (both parent compounds and metabolites/transformation products) in different water bodies is a priority at present, and is essential for performing risk assessment studies and evaluate water quality. Few studies have been made in Latin America, and there is an urgent need to provide realistic data in these countries. In this work, a first study was performed in Peru, monitoring wastewater from four WWTPs (Lima, Cusco, Puno, Juliaca) and surface water from Torococha River (Juliaca), collected along 2019. An advanced analytical approach was applied consisting on combining a target LC-MS/MS method for quantification of 38 compounds, including 17 antibiotics, with a wide-scope LC-IMS-QTOF MS screening for identification of additional PhACs and metabolites/TPs.

Acetaminophen was found at the highest concentrations, and it was present in all the treated wastewater samples reaching average values above 100 µg/L in Puno. The anti-epileptic drug gabapentin (up to 11.85 µg/L in WWTP Lima) and the antibiotics clarithromycin, trimethoprim, ciprofloxacin, sulfamethoxazole and azithromycin (1.86 to 4.47 µg/L in WWTP Lima) were also found at moderate concentrations in the treated wastewater. In surface water, the highest concentration corresponded to acetaminophen (28.70 µg/L) followed by sulfamethoxazole (4.36 µg/L). In addition, a wide-scope screening by LC-QTOF MS with ion mobility separation was applied to selected samples, including a target approach, for identification of around 300 pharmaceuticals, whose standards were available, and a suspect approach for the tentative identification of more than 630 additional pharmaceuticals and metabolites. More than 50 PhACs were detected, highlighting the high number of compounds in the confluence of Torococha and Coata rivers, a surface water body affected by the discharge of Juliaca WWTP. The use of ion mobility increased confidence on (tentative) identifications, by the use of collision cross section (CCS) and drift-aligned fragmentation spectra. Most of the detected compounds were antibiotics and antihypertensives, as well as anti-inflammatory drugs and painkillers. It is worth highlighting the detection of 22 metabolites, 18 of them detected in the Coata river, which mouth is in the Lake Titicaca. Based on data obtained in this work, a proposal for future monitoring in surface waters from Peru is made, including a list of relevant compounds to be included in target methods.

J.L. Wilkinson, A.B.A. Boxall, D.W. Kolpin, et al. Proc. Natl. Acad. Sci. 119 (2022) 1-10, J.I. Nieto-Juárez, R.A. Torres-Palma, A.M. Botero-Coy, F. Hernández. Environ. Int. 155 (2021), D. Fabregat-Safont, M. Ibáñez, L. Bijlsma, F. Hernández, A. V. Waichman, R. Oliveira, A. Rico. Water Res. 200 (2021) 117251



DEVELOPMENT OF A GREEN MULTIRESIDUE METHOD FOR THE ANALYSIS OF ORGANOPHOSPHORUS FLAME RETARDANT (OPFRS) IN SEAWATER

Jorge Lejo Santiago, Carmen M^a Moscoso Pérez, Purificación López Mahía, Soledad Muniategui Lorenzo.

University of A Coruña, Grupo Química Analítica Aplicada (QANAP), University Institute of Research in Environmental Studies (IUMA), Department of Chemistry. Faculty of Sciences, Campus de A Coruña, s/n, 15071, A Coruña, Spain, jorge.lsantiago@udc.es

The increase of population and industrial development have produced an increase on the presence of potentially toxic compounds in seawater. These compounds are known as contaminants of emerging concern (CEC), among them the organophosphorus flame retardants (OPFRs) are plastic additives which are highly spread [1]. In the present study, a simple miniaturized and sensitive method is developed for the determination of 12 OPFRs (Tripropyl phosphate (TPrP), Tri-iso-butyl phosphate (TiBP), Tri-n-butyl phosphate (TnBP), Tris(2-chloroethyl) phosphate (TCEP), Tris(chloropropyl) phosphate, mixture of three isomers (TCPP), Tetraethyl ethylene diphosphonate (TEEdP), Tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP), Tris(2-butoxyethyl) phosphate (TBOEP), Triphenyl phosphate (TPhP), Tris(2-ethylhexyl) phosphate (TEHP), Triphenyl phosphine oxide (TPPO) and Tri-m-cresyl phosphate (TCrP)) in seawater. The extraction consisted in vortex assisted liquid-liquid microextraction (VALLME) and the determination was conducted using programmed temperature vaporization-gas chromatography-tandem mass spectrometry (PTV-GC-MS/MS) operating in selected reaction monitoring (SRM) detection mode [2]. Control of the complete analytical procedure concerning the extraction step and chromatographic analysis was performed using isotopically labelled standards. Recoveries were calculated using relative response factors (RRFs) of surrogates with respect to internal standards. The proposed method follows the green analytical chemistry principles using only 20 mL of water and 2 mL of organic solvent. Analytical performance characteristics such as linearity, limits of detection and quantification (LODs and LOQs), analytical recoveries and intra-day and inter-day precision of the present method were tested by analysing spiked seawater at 10, 100 and 1000 µg/L. The method was successfully applied to real seawater.

Acknowledgements

This work was supported by the JPI_Oceans Program and the Spanish Ministry of Science and Innovation (MicroplastiX project, Grant PCI2020-112145) and by the Spanish Ministry of Science and Innovation; Projects 'RisBioPlas' (Grant PID2019-108857RB-C32) and 'ChemPlas' (Grant PID2019-108857RB-C31). The Program 'Consolidación e Estructuración de Unidades de Investigación Competitivas' of the Galician Government (Xunta de Galicia) is also acknowledged (Grant ED431C 2017/28)

[1] I. van der Veen, & J. de Boer, Phosphorus flame retardants: Properties, production, environmental occurrence, toxicity and analysis. *Chemosphere* 88 (2012) 1119-1153 ., [2] E. Psillakis, Vortex-assisted liquid-liquid microextraction revisited. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 113 (2019) 332-339.,



DETERMINACION RAPIDA NO ENZIMATICA DE FORMALDEHIDO MEDIANTE GENERACION DE NANOPARTICULAS DE Au CON LECTURA DE IMÁGENES DIGITALES.

Angel Lopez Molinero, ANDREA GARCIA CUBERO, CAROLINA MARTINEZ ROMAN y JAVIER GALBAN

Universidad de Zaragoza, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, C/ Pedro Cerbuna, 12, 50009 Zaragoza, anlopez@unizar.es.

El formaldehido FA reduce el Au(III) a Au(0) en medio alcalino Na(OH) apareciendo en forma de AuNPs coloreadas. La reacción anterior se ha aplicado para la puesta a punto de un método analítico eficiente y rápido de determinación FA sobre chips de reacción de papel.

En el procedimiento desarrollado se inyectan (7-8 μ l) disoluciones de Au(III) en tampón PBS pH 7.0 y disoluciones de FA en medio alcalino, en zonas separadas y enfrentadas. Tras su migración se produce en la zona de reacción la formación AuNPs de color, rojo-violeta.

En la caracterización del método se han estudiado y optimizado variables del chip como: tipo de (poro) papel, su forma y su corte-preparación. Tiempo para el máximo desarrollo del color. Y la influencia de la luz externa. Así mismo, mediante diseño de experimentos se demuestra que la variable más influyente de la reacción es la concentración de NaOH. Siendo 0.5 M de NaOH y por otra parte 7 mM Au(III), los valores óptimos.

El estudio de la cinética de la coloración deduce una Energía de activación del proceso de 212.3 kJ/mol. De modo que a T^a ambiente, sin luz externa, se consigue un tiempo óptimo de 10 min para la medida de color.

En las condiciones óptimas se capturan las imágenes cromogénicas de las tiras de papel mediante cámara de teléfonos móviles. Se obtienen los valores reflejados RGB de las manchas de reacción utilizando distintas coloraciones en el iluminante.

Las mejores prestaciones analíticas, se producen con iluminante blanco y midiendo la luz reflejada en el canal R. Para conseguir un límite de detección de 1.5 μ g/ml, un rango lineal hasta 50.0 μ g/mL y una sensibilidad de -1.47 mL/ μ g. La reproducibilidad del método, medido sobre la concentración centroeide, es 5.1 %rsd.

El procedimiento se ha aplicado a la determinación de FA en agua: i) de la red urbana (Zaragoza) y ii) de río (Aragón- Villanua, Huesca).

Los resultados sobre muestras reforzadas muestran una recuperación del FA añadido en el rango 95-105%, en ambos tipos de muestra.

Agradecimientos: Proyecto PID2019-105408GB-I00: Generación enzimática de nanomateriales: una estrategia innovadora en el desarrollo de Biosensores ópticos para el control de calidad en alimentos (GENMIAL). Los autores agradecen la Ayuda a grupos de Investigación DGA-FEDER (grupo E25_17R, N&SB).

[1] J F Gomez, A C Garcia, E B Ferreira, C Pires, V L Oliveira, G Tremiliosi, L H S Gasparotto. Phys.Chem. Chem.Phys., 17,(2015) 21683.



SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE BIO-DISOLVENTES SUPRAMOLECULARES A PARTIR DE MONOGLICÉRIDOS

María Loreto Lunar Reyes, Neda Feizi, Jesús Roldán-Peña, Noelia Caballero-Casero, Soledad Rubio.

Córdoba, Ciencias, Química Analítica, Campus de rabanales, 14014, Córdoba, qa1lurem@uco.es

El desarrollo de bio-disolventes funcionales que constituyan una alternativa real a los disolventes orgánicos convencionales en procesos de extracción analítica e industrial es un área de gran relevancia en la actualidad. Estos nuevos disolventes deberían combinar gran eficiencia de extracción, capacidad para el desarrollo de tecnologías innovadoras, y cumplimiento con los principios de la Química Verde.

Los disolventes supramoleculares (SUPRAS) presentan un gran potencial para el desarrollo de disolventes funcionales y esta capacidad se ha aprovechado para el desarrollo de tecnologías de extracción innovadoras. Un aspecto que apenas se ha explorado hasta la fecha es el desarrollo de bioSUPRAS, los cuales, además de las funcionalidades requeridas para su aplicación, deberían cumplir los 12 requisitos establecidos para bio-disolventes.

En este trabajo se describe la síntesis y caracterización de bioSUPRAS utilizando como sustancia anfífila el monoglicérido monolaurina obtenido a partir de fuentes renovables. La síntesis se produce mediante el autoensamblaje espontáneo y coacervación del monoglicérido en mezclas de 1-propanol/agua en presencia sulfato de sodio. Se han construido los correspondientes diagramas de fases y determinado la región en la que se obtienen los bioSUPRAS.

El estudio de la composición química de los mismos ha demostrado que todos los bioSUPRAS sintetizados están constituidos por mezclas ternarias de monolaurina, 1-propanol y agua y que su proporción relativa varía en función del porcentaje de agua en la disolución de síntesis. La producción de bioSUPRAS es atómicamente eficiente ya que monolaurina se incorpora cuantitativamente al disolvente. Se ha desarrollado una ecuación que predice el volumen de bioSUPRAS formado en función de la proporción relativa en la que se mezclan los ingredientes. La densidad de los bioSUPRAS, independientemente de su composición química, es 0.86 ± 0.02 g mL⁻¹. El estudio mediante espectroscopía infrarroja indica que en el bioSUPRAS existe una gran interacción entre las cadenas hidrocarbonadas de la monolaurina así como la formación de puentes de hidrógeno. Se ha demostrado mediante microscopía óptica y electrónica que el bioSUPRAS se forma a través de un proceso de coacervación y que la monolaurina se asocia formando cubosomas. Estas estructuras tienen elevada capacidad para extraer compuestos en un amplio intervalo de polaridad, lo cual unido a la inocuidad de las mismas, es interesante para su aplicación en extracciones analíticas e industriales.



Determinación de antibióticos y metabolitos por LC-MS/MS en heces de aves migratorias como herramienta para evaluar su exposición

Carmen Mejías Padilla, Julia Martín Bueno, Juan Luis Santos Morcillo, Irene Aparicio Gómez, Esteban Alonso Álvarez.

Universidad de Sevilla, Escuela Politécnica Superior, Departamento de Química Analítica, C/ Virgen de África, 7, 41011, Sevilla, cmpadilla@us.es

La presencia de antibióticos y sus metabolitos en el medio ambiente puede tener un impacto negativo en la fauna del entorno, pudiendo llegar a convertirse en reservorios ambientales, a través de la ingestión de alimentos o agua contaminada, y en vectores de bacterias resistentes a antibióticos. Esto es aún más importante en aves migratorias porque pueden promover su diseminación por los continentes (Jarma et al., 2021). En este trabajo se ha desarrollado y validado un método analítico para la determinación de antibióticos medioambientalmente relevantes de cinco grupos terapéuticos diferentes y sus metabolitos en heces de aves migratorias, como herramienta para evaluar la exposición de las aves a los analitos mencionados (Mejías et al., 2022). El tratamiento de la muestra implica extracción asistida por ultrasonidos y limpieza mediante extracción en fase sólida dispersiva. La determinación se llevó a cabo mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas. Se obtuvo buena linealidad ($R^2 > 0,994$), exactitud (41-127%), precisión (desviación estándar relativa inferior al 24%) y límites de cuantificación (< 2 ng/g, peso seco) para la mayoría de los compuestos. El método se aplicó a 27 muestras de heces de tres especies de aves migratorias (*Ciconia ciconia*, *Larus fuscus* y *Chroicocephalus ridibundus*). En las muestras se detectaron nueve antibióticos y tres metabolitos. Las fluoroquinolonas y los macrólidos fueron los antibióticos con mayor frecuencia de detección. Las concentraciones más altas correspondieron a norfloxacin (199 ng/g, peso seco).

Jarma D, Sánchez MI, Green AJ, Peralta-Sánchez JM, Hortas F, Sánchez-Melsió A, Borrego CM, Faecal microbiota and antibiotic resistance genes in migratory waterbirds with contrasting habitat use. *Sci. Total Environ.* 783 (2021) 146872. Mejías C, Martín J, Santos JL, Aparicio I, Sánchez MI, Alonso E, Development and validation of a highly effective analytical method for the evaluation of the exposure of migratory birds to antibiotics and their metabolites by faeces analysis. *Anal. Bioanal. Chem.* (2022),



Examining silver nanoparticles biosynthesis for the determination of pyrogallol in rainwater

S. Muniategui Lorenzo, M.C. Prieto-Blanco, A. Pasantes-López, A. Carlosena-Zubieta.

University of A Coruña, Grupo Química Analítica Aplicada (QANAP), University Institute of Research in Environmental Studies (IUMA), Department of Chemistry. Faculty of Sciences, Campus de A Coruña, s/n., 15071, A Coruña, Spain, soledad.muniategui@udc.es

Nanomaterials such as silver nanoparticles have been used in the development of analytical methodologies aimed to the in-situ analysis. The generation of silver nanoparticles by biogenic reduction can be a good approach for the design of environmentally-friendly methods (in the single-step, using low volume of sample, low residues generated and simple instrumentation). Phenolic compounds (which are in plants, atmospheric particulate matter, etc.) [1] can be act as reducing agents of the silver salts, under mild reaction conditions, obtaining silver nanoparticles [2].

In this work, we propose the determination of pyrogallol by reducing of silver nitrate in basic medium and the surface plasmon resonance (SPR) measurement of the generated AgNPs using UV spectrophotometry. The biosynthesis was optimized taking account the concentration of the sodium hydroxide and precursor and, the type of stabilizing agent. A cationic surfactant and cationic polymer were tested in order to stabilize the AgNPs and thus to improve the analytical signal.

The method was applied to the rainwater samples. A different behavior was observed when the synthesis was carried in real samples. Therefore, the standard addition method was used for the pyrogallol quantification. Good figures of merit were obtained. The limit of detection was ranged from 3.5 μM to 8.7 μM and, intra-day %RSD and inter-day %RSD were 4.6% and 6.6%, respectively. In some rainwater samples, the use of a cationic polymer improved the SPR band and concentration levels found were in the range from 14 to 80 μM .

, [1] M. C. Pietrogrande, D. Bacco, S. Ferrari, J. Kaipainen, I. Ricciardelli, M. Riekkola, A. Trentini, M. Visentin. *Atmos. Environ.* 122 (2015) 291., [2] K. S. Siddiqi, A. I. Husen, R. A. K. Rao, J. Nanobiotechnol. 16 (2018) 14.



DETERMINACIÓN SIMULTÁNEA DE CARBARIL Y TIABENDAZOL MEDIANTE FLUORESCENCIA EN PROYECCIÓN ANGULAR

José Antonio Murillo Pulgarín, Pablo Fernández López

Universidad de Castilla-La Mancha, Facultad de Ciencias y Tecnologías Químicas, Departamento de Química Analítica y Tecnología de Alimentos, Avda. Camilo José Cela, 10, 13004 Ciudad Real, joseantonio.murillo@uclm.es.

Para obtener la información completa de las características fluorescentes de un compuesto debemos acudir a su espectro tridimensional o de fluorescencia total. A partir de éste, se puede obtener un espectro bidimensional convencional: espectro de emisión, de excitación y sincrónico; o avanzado: sincrónico de ángulo variable (lineal y no lineal), sincrónico de ángulo constante y, sincrónico por isopotenciales de la matriz. Con cualquiera de estas trayectorias se obtiene un espectro bidimensional que se proyecta bien sobre el eje de longitudes de onda de excitación o bien, sobre el de longitudes de onda de emisión. La fluorescencia en proyección angular (FPA) permite que dicha proyección se realice alrededor de un punto que se sitúa en un eje que es combinación de los dos ejes anteriores, de manera que se obtiene un espectro cerrado recorriendo un ángulo de 360 grados alrededor de ese punto.

En este trabajo se estudia la aplicación de la FPA a la resolución de mezclas de compuestos fluorescentes sin necesidad de acudir a métodos de separación ni físicos ni químicos, utilizando metodologías quimiométricas aplicadas a este tipo de espectros. Así, en particular, se determina simultáneamente carbaril y tiabendazol, dado que es inviable la fluorescencia convencional (espectro de excitación, emisión) y sincrónica.

Después de la optimización de las variables químicas e instrumentales para conseguir el mínimo solapamiento espectral de la fluorescencia de ambos compuestos, se seleccionó la región espectral de medida del carbaril, que elimina la señal procedente del tiabendazol y viceversa, como se pone de manifiesto al aplicar el análisis de varianza para la región de calibrado conjunta con valores experimentales en dos dimensiones.

Aún así, no es posible abordar directamente la determinación simultánea, por lo que hubo que acudir a la espectrometría de derivadas para permitir la aplicación de FPA a la determinación de carbaril en tiabendazol y viceversa, mejorando la selectividad.

Con un exhaustivo estudio de la linealidad junto con la homogeneidad de varianzas y la distribución de los residuales, mediante nuestro propio software CALIBRA, han permitido concluir que la recta de regresión por mínimos cuadrados es válida y representativa del calibrado global.

Finalmente, cabe mencionar, que el método propuesto es directo, rápido, sencillo y no requiere un tratamiento previo de la muestra, lo que conllevaría numerosos inconvenientes.



Resolución de una mezcla binaria de hidrocarburos aromáticos policíclicos mediante fluorescencia molecular y métodos quimiométricos de primer orden

Mónica Palomino-Vasco, María Isabel Rodríguez-Cáceres, Nielen Mora-Díez, Elena Barrado-Prior

Universidad de Extremadura, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, Avenida de Elvas, S/N, 06006 Badajoz, monicapv@unex.es.

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) son compuestos formados por una o más estructuras de anillos estables tipo benceno. Sus derivados pueden formarse en base a tres procesos: sustitución del hidrógeno por radicales de hidrocarburos alifáticos, unión de dos o más anillos de benceno o condensación de los mismos.

Tanto los HAP como sus derivados son compuestos de importancia analítica debido a que son carcinogénicos, tóxicos y disruptores endocrinos. Además, se trata de compuestos ampliamente distribuidos en el medio ambiente y que son difícilmente eliminables, por lo que son considerados como importantes contaminantes del suelo y el agua [1, 2]. Este es el caso de los dos analitos en estudio: ácido 1-hidroxi-2-naftoico (1H2N) y ácido 2- hidroxi-1-naftoico (2H1N).

En el presente estudio se han optimizado las condiciones para determinar conjuntamente ambos analitos sin necesidad de emplear técnicas separativas, mediante el registro de sus espectros de fluorescencia y la aplicación de algoritmos quimiométricos de primer orden.

Así, tras el correspondiente estudio fotométrico y fluorimétrico de los analitos (en el que se fijó el pH de medida, se estudió la influencia de diferentes metales en el medio y se estableció el orden de adición), se registraron los espectros de excitación y emisión correspondientes a las muestras de calibración y validación, generadas a partir de un diseño de experimentos central compuesto.

Después, con objeto de resolver la mezcla binaria de ambos ácidos, se realizó un estudio comparativo de diferentes algoritmos de primer orden (en concreto, PCR, PLS-1 y PLS-2), tanto en presencia como en ausencia de aluminio. Las mejores predicciones se obtuvieron empleando los espectros de excitación en ausencia de aluminio, obteniéndose resultados similares con todos los algoritmos.

Finalmente, el método propuesto fue aplicado a muestras reales de agua de río, a las que se les adicionaron cantidades conocidas de ambos analitos. 1H2N fue determinado por exceso, lo que podría implicar una contaminación de la muestra. Por su parte, 2H1N fue determinado por defecto, lo cual se podría explicar debido a su menor intensidad de fluorescencia y a los peores parámetros de calidad obtenidos en el modelo quimiométrico.

Agradecimientos: Los autores agradecen la financiación de este trabajo al Proyecto PID2020-112996GBI00 (Agencia Estatal de Investigación) y al IB20016 (Consejería de Economía, Ciencia y Agenda Digital – Junta de Extremadura), ambos proyectos cofinanciados por los Fondos Europeos FEDER; y a la ayuda al Grupo de Investigación ANAYCO GR21048 (Junta de Extremadura).

1. K. Hanna, Water Research 46 (2012) 4457
2. C. Wei, Talanta 195 (2019) 339



Estudios mediante fluorescencia molecular de los pesticidas clotianidina y tiametoxam

María Isabel Rodríguez-Cáceres, Nielele María Mora-Díez, Pablo Masero Moreno.

Universidad de Extremadura, Facultad de Ciencias, Química Analítica, Avenida Elvas, S/N, 06006, Badajoz, maribelro@unex.es

La investigación actual se centra cada vez más en la ecotoxicidad de micro-contaminantes antropogénicos y sus productos de degradación y transformación, resultantes de procesos de tratamientos biológicos y químicos. Los neonicotinoides son una familia de insecticidas que actúan sobre el sistema nervioso central de los insectos, causándoles una parálisis que los lleva a la muerte en pocas horas (1). Recientemente el uso de compuestos de esta familia está siendo restringido en algunos países debido a una posible conexión con el trastorno del colapso en colonias de abejas (2).

En el trabajo que se presenta se estudiaron dos pesticidas neonicotinoides de la lista de vigilancia de la UE, concretamente clotianidina y tiametoxam. Estos analitos no tienen fluorescencia nativa, por ello es necesario irradiarlos con luz UV para obtener así señal de fluorescencia y poder realizar la determinación mediante fluorescencia molecular (3).

En la parte experimental de este trabajo se comenzó verificando que estos analitos no poseían fluorescencia nativa. Una vez comprobado que no aparecía señal se irradiaron ambos analitos en un fotorreactor y se fijaron las longitudes de onda tanto de emisión como de excitación. A continuación, se realizaron diferentes estudios para optimizar el método propuesto, haciendo así ensayos de tiempo de irradiación, estudios de pH, anchuras de las rendijas y voltaje de trabajo, con el objetivo de hallar las condiciones óptimas. La señal máxima de fluorescencia se obtiene a pH 3 tras 15 minutos de irradiación, en el caso del tiametoxan y un pH de entre 3 y 6 con una irradiación de 7 minutos, en el caso de la clotianidina.

Por último, se procedió a la determinación de uno de los analitos en presencia del otro encontrándose recuperaciones aceptables.

Los autores agradecen la financiación de este trabajo al Proyecto PID2020-112996GB-I00 (Agencia Estatal de Investigación) y al IB20016 (Consejería de Economía, Ciencia y Agenda Digital - Junta de Extremadura), ambos proyectos cofinanciados por los Fondos Europeos FEDER; y a la ayuda al Grupo de Investigación ANAYCO GR21048 (Junta de Extremadura).

1. Taillebois, E., Langlois, P., Cunha, T., Seraphin, D., Thany, S.H. Chem. Letters 24 (2014) 3552-3555., 2. Jactel, H., Verheggen, F., Thiéry, D., Escobar-Gutiérrez, A.J., Gachet, E., Desneux, N. Environ Int., 129 (2019) 423-429., 3. Jiménez-López, J., Ortega-Barrales, P., Ruiz-Medina, A. Talanta 149 (2016) 149-155.



Characterisation of tyre and road wear particles (TRWP), major source of microplastics, by spectroscopic methods. Application to environmental samples.

Cristina Román Zas, María Estela Del Castillo Busto, Javier Terán Baamonde, Purificación López-Mahía and Soledad Muniategui Lorenzo

University of A Coruña, Faculty of Sciences, Department of Chemistry, Grupo Química Analítica Aplicada (QANAP), University Institute of Research in Environmental Studies (IUMA), Campus da A Coruña s/n, 15071 A Coruña, Spain, cristina.roman@udc.es.

Microplastic (MP) accumulation within the environment is an area of significant concern in pollution research. Due to their physicochemical properties, particles generated by the abrasion of tyre against road surfaces, or tyre and road wear particles (TRWP), are recognised as MP. Recent studies estimate that TRWP are the largest single source of synthetic polymer particles in the microscopic size range (1 to 1000 µm) [1]. Tyre composition, which depends on the brand, consists mainly of 40-60% rubber, 20-35% filler, 12-15% softener, 2-5% vulcanization agents (sulfur and zinc oxide) and 5-10% additives as preservatives, antioxidants or plasticizers.

Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy has been widely used for MP identification [2]. However, as tyre particles contain black pigment (carbon black), the infrared light is absorbed causing a potential under-reporting of TRWP. To overcome this limitation, the attenuated total reflection (ATR) mode could be an alternative for strongly-absorbing samples.

Due to the complex chemical composition of TRWP, specific markers are needed to detect them in the environment. In this regard, several inorganic and organic tyre components have been proposed e.g., metals as Zn or organic compounds as benzothiazoles. However, the accurate quantification of TRWPZn is limited by the presence of other Zn-species and particulates in the matrix. Therefore, a density separation is required to isolate this TRWPZn fraction, considering that TRWP have higher densities than “classic” MP [3].

In this study, a chemical characterisation of TRWP is presented using spectroscopic methods. For that purpose, several used vehicle classes tyres were collected, shredded and sieved to generate a < 1 mm TRWP fraction. ATR-FTIR was used to generate an in-house TRWP spectra library for identification. Then, elemental analysis of individual TRWPs and a composite sample (TRWPMix) was conducted using ICP-MS after microwave digestion. Furthermore, salts of different densities were evaluated for the isolation of TRWPZn. Method development was carried out using a characterised soil spiked with TRWPMix, different Zn-species and MPs to mimic a solid environmental matrix.

The developed method will support the environmental monitoring of TRWP, providing a more comprehensive characterization of these particles.

Acknowledgements

This work was supported by the EU Funding for Research&Innovation (H2020-LABPLAS project, Ref. 101003954-H2020-SC5-2020-2) and by the Galician Government (Xunta de Galicia, Ref. ED431C 2021/56). M.E. del Castillo Busto also thanks the Next Generation EU and the Spanish Government for her María Zambrano Grant (RSU.UDC.MZ08). J. Terán-Baamonde acknowledges Xunta de Galicia for his postdoctoral Grant (ED481B-2021-090).

[1] L.J. Knight, F.N.F. Parker-Jurd, M. Al-Sid-Cheikh and R.C. Thompson. *Environ.Sci.Poll.Res.* 27 (2020) 18345.

[2] B. Baensch-Baltruschat, B. Kocher, F. Stock and G.Reifferscheid. *Sci. Total Environ.* 733 (2020) 137823.

[3] P. Klöckner, B. Seiwert, S. Weyrauch, B. I. Escher, T. Reemtsma and S. Wagner. *Chemosphere* 279 (2021) 130530.



Presencia de contaminantes orgánicos prioritarios y emergentes en material particulado atmosférico (PM_{2,5}) en un entorno industrial costero

Joel Sánchez-Piñero, Natalia Novo-Quiza, Jorge Moreda-Piñeiro, Isabel Turnes-Carou, Soledad Muniategui-Lorenzo y Purificación López-Mahía.

University of A Coruña, Grupo Química Analítica Aplicada (QANAP), University Institute of Research in Environmental Studies (IUMA), Department of Chemistry. Faculty of Sciences, Campus de A Coruña, s/n., 15071, A Coruña, Spain, joel.sanchez@udc.es

La urbanización e industrialización van acompañadas de la emisión a la atmósfera de cantidades significativas de contaminantes que suponen un importante riesgo medioambiental. Varios estudios epidemiológicos relacionan la inhalación de material particulado de diámetro aerodinámico inferior a 2,5 μm (PM_{2,5}) con efectos negativos en la salud humana. Aunque los mecanismos de acción en el organismo no están claros, se considera que los contaminantes asociados a dichas partículas tienen una gran influencia [1].

Se estudia la presencia de 50 contaminantes orgánicos (incluyendo hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), ftalatos (PAEs), retardantes de llama organofosforados (OPFRs), compuestos de almizcle sintéticos (SMCs) y bisfenoles) en 52 muestras de PM_{2,5} recogidas en un entorno industrial costero (Vigo) durante 1 año, suponiendo una contribución novedosa debido a los escasos estudios en el área, así como al número y naturaleza de los compuestos estudiados.

Para ello, se emplea una metodología multiresiduo previamente validada, que consiste en una extracción con disolvente asistida por ultrasonidos (UASE) + vórtex, una etapa de purificación en fase sólida dispersiva (d-SPE) y posterior determinación mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en tándem (GC-MS/MS) [2].

Se cuantificaron un total de 27 compuestos: 15 PAHs, 3 PAEs, 8 OPFRs y bisfenol A (BPA). El BPA es el compuesto que se encontró en mayor concentración (valor promedio de 6,2 ng m⁻³), y los PAHs y OPFRs fueron los grupos de compuestos más predominantes. Se analizaron iones principales y metal(oid)es traza para el estudio de contribución de fuentes de PM_{2,5} mediante el uso de análisis de componentes principales (PCA). En el área estudiada se observa una importante contribución antropogénica (procesos de quema de biomasa y combustibles fósiles, aerosol secundario y migración debido al uso de productos industriales), además de otras fuentes como el aerosol marino y la re-suspensión de polvo. Por último, se evalúa el riesgo carcinogénico derivado de la exposición de PAHs asociados al PM_{2,5} mediante el uso de modelos de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA).

Agradecimientos:

Se obtuvo financiación del MCIU-AEI-FEDER (RTI 2018-101116-B-I00), la Xunta de Galicia (ED431C 2017/28 y ED431C 2021/56) y FEDER-MINECO (UNLC15-DE-3097). JSP agradece a la Xunta de Galicia y a la UE (FSE) por la concesión de una beca predoctoral (ED481A-2018/164). NNQ agradece al MCIU y a la UE (FSE) por la concesión de una beca predoctoral (PRE2019-088744). Se agradece al LMAG-Xunta de Galicia por facilitar las muestras de PM_{2,5} estudiadas.

[1] E.S. Galvão, Chemosphere 199 (2018) 546., J. Sánchez-Piñero, Talanta Open 4 (2021) 100057.,



FORMACIÓN DE ENLACES CH- π : UN MECANISMO EFICAZ PARA LA EXTRACCIÓN CON DISOLVENTES SUPRAMOLECULARES DE HIDROCARBUROS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EN SUELOS

Lourdes Algar Zafra, María Dolores Sicilia Criado, Soledad Rubio Bravo.

Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias, Química Analítica, Avenida de Medina Azahara, nº 5, 14071, Córdoba, a42alzal@uco.es

En este trabajo se investigó el potencial de las interacciones CH- π para mejorar la eficacia de extracción de compuestos aromáticos en matrices complejas. El estudio se centró en la extracción de hidrocarburos policíclicos aromáticos cancerígenos (CPAH) en suelos usando disolventes supramoleculares (SUPRAS) de ácidos alquilcarboxílicos (C6-C10). El enlace CH- π es un tipo de interacción no covalente en la que los grupos CH actúan como donadores de hidrógeno y los sistemas π de los anillos aromáticos como aceptores de hidrógeno. Los SUPRAS de ácidos alquilcarboxílicos, disolventes constituidos por agregados inversos con un núcleo acuoso y con las cadenas hidrocarbonadas de las moléculas de anfifilo dispersas en tetrahidrofurano, poseen una elevada concentración de tensoactivo, lo que posibilita la formación de múltiples enlaces CH- π con los anillos aromáticos de los CPAH, propiciando de este modo una eficaz solubilización de los analitos. Además, estos disolventes poseen una nanoestructura que les permite actuar como materiales de acceso restringido, proporcionando extractos libres de macromoléculas.

El proceso de extracción optimizado consistió en la adición de 750 μ L de SUPRAS de ácido decanoico a 500 mg de suelo, agitación vortex (2.500 rpm, 15 min) y centrifugación (15.000 rpm, 10 min). El extracto obtenido se analizó directamente mediante cromatografía líquida con detección fluorimétrica. Los límites de detección obtenidos para los CPAH (0.07-0.4 μ g kg⁻¹) fueron inferiores a los valores de referencia establecidos por la legislación española para estos contaminantes en suelos (20-20.000 μ g kg⁻¹). La precisión del método, expresada como desviación estándar relativa, varió dentro de los intervalos 2.8-5.4% y 4.3-8.8% en condiciones de reproducibilidad y repetibilidad, respectivamente (n=18, [CPAH]=300 μ g kg⁻¹). La exactitud se evaluó analizando un material de referencia certificado (BAM-U013c) que consistió en un suelo industrial contaminado. El método desarrollado se aplicó al análisis de muestras de suelo del sureste de España, encontrándose concentraciones de los CPAH entre 0.51 y 49 μ g kg⁻¹. Los rendimientos de extracción obtenidos en el análisis de muestras fortificadas con los CPAHs (300 μ g kg⁻¹) variaron entre el 89 y el 106%.

Los resultados obtenidos demostraron que la formación de enlaces CH- π en la región apolar de los agregados de los SUPRAS de ácidos alquilcarboxílicos es un mecanismo eficaz para la extracción de los CPAH en suelos, lo que, combinado con la capacidad de estos disolventes para actuar como materiales de acceso restringido, permitió desarrollar un método de tratamiento de muestra simple y rápido sin la necesidad de utilizar energías auxiliares.



Enantioselective separation of anticoagulant rodenticides by using supercritical fluid chromatography

José Bernal del Nozal, Ana María Ares Sacristán, Laura Toribio Recio, María Teresa Martín Gómez.

Universidad de Valladolid, Facultad de Ciencias, Química Analítica, Paseo de Belén 7, 47011, Valladolid, jose.bernal@uva.es

Rodenticides are widely employed as different emergence treatments in agriculture such as to control rodent infestation and to reduce the associated crop damage. This fact explains the possible occurrence of residues of those formulation in environmental samples, and subsequently, it is required the development of analytical methods for allowing their selective determination in those samples. Moreover, it should be considered that pure enantiomers of chiral compounds have identical physical-chemical properties, but their toxicity and persistence in the environment or in living organisms may be different. Therefore, the role of chirality in environmental chemical pollution cannot be underestimated making necessary to develop new analytical methodologies, which will be able to distinguish between the enantiomers of a compound for their individual determination. One of the options to determine chiral rodenticides is supercritical fluid chromatography (SFC), which is considered a green separation technique as CO₂ is used as mobile phase together with low consumption of organic. It should be mentioned that several analytical techniques have been used to determine rodenticides involving fluorometric, spectrophotometric and chromatographic methods, being liquid chromatographic the preferred option. However, not many studies were focused on enantiomeric separation and little attention was paid to SFC when determining those compounds. Therefore, the main goal of the present study was to develop a new SFC method employing UV and/or mass spectrometry (MS) detectors for separating seven different chiral anticoagulant rodenticides that represented a total of nineteen compounds. Different parameters as temperature, pressure, modifier mixed with CO₂ in the mobile phase and nature/characteristics of the stationary phase, which are directly involved in selectivity and compound retention, have been evaluated and optimized. Finally, the proposed method was applied to determine potential anticoagulant rodenticide residues in soil samples.



EXTRACTION OF PCBs FROM FATTY MATRICES USING DEEP EUTECTIC SOLVENTS

Jorge Bintanel Cenis, Belén Gómara Moreno, Lourdes Ramos Rivero

Instituto de Química Orgánica General (CSIC) // Universidad Autónoma de Madrid, Facultad de Ciencias, Grupo de Análisis Instrumental en Medio ambiente, Alimentos y Salud // Departamento de Química Analítica y Análisis Instrumental, Juan de la Cierva, 3, Madrid // Cantoblanco, 28006 Madrid // 28049 Madrid, jbintanel@iqog.csic.es.

Green sample preparation (GSP) principles were recently introduced to set specific guidelines to implement eco-friendly and eco-sustainable sample treatment approaches in the analytical laboratories [1]. These principles focus on different aspects of the sample preparation and analyte determination. Among other aspects, they highlight the relevance of using, whenever possible, safe solvents as alternative to conventional volatile organic solvents (VOSs) of fossil origin. In this context, green and tunable solvents, such as deep eutectic solvents (DES), become a valuable alternative to VOSs [2] that deserves evaluation.

In this study, the feasibility of different DESs for the extraction of polychlorinated biphenyls (PCBs) from a fatty foodstuff (i.e. a meat sample containing 48% fat, w/w dry weight) has been evaluated. The best analytical performance was obtained using choline chloride:oxalic acid dihydrate (ChCl:Ox·2H₂O) as extraction solvent. This DES also allowed simultaneous preliminary fat removal. Using 150 mg of sample, experimental parameters affecting the extraction efficiency, namely amount of DES (2.5-5.0 g), homogenisation technique (vortex vs ultrasounds and manual shaking), as well as extraction time (30-60 min) and temperature (40-60 °C), were optimized. Target analytes (PCBs 28, 52, 101, 138, 153 and 180) were determined in the purified and concentrated extracts by gas chromatography (Agilent 7890) coupled to quadrupole mass spectrometry (Agilent 5975C) working in Selective Ion Monitoring (GC-qMS SIM) using a BPX-5 capillary column (30 m x 0.25 mm, 0.25 μm) for chromatographic separation.

Acknowledgments: This work is part of the I+D+i project PID2019-106405GB-I00 financed by MCIN/AEI/10.13039/501100011033. Authors thank the Comunidad of Madrid and European funding from FSE and FEDER programs for financial support (project S2018/BAA-4393, AVANSECAL-II-CM).

[1] Á. López-Lorente, F. Pena-Pereira, S. Pedersen-Bjergaard, VG. Zuin, SA. Ozkan, E. Psillakis. The ten principles of green sample preparation. *TrAC-Trends Anal Chem* 148 (2022) 116530.

[2] M. Cvjetko Bubalo, S. Vidović, I. Radojčić Redovniković, S. Jokić. Green solvents for green technologies. *J Chem Technol Biotechnol* 90 (2015) 1631–1639.



Extracción Asistida por Ultrasonidos de Compuestos Fenólicos de Hojas de Arándano Utilizando Disolventes Eutécticos Profundos Naturales (NADES) para la Valorización de Residuos Agroalimentarios

María Santos-Martín, Raúl González-Domínguez, Ana Sayago, Ángeles Fernández-Recamales

Universidad de Huelva, Facultad de Ciencias Experimentales, Departamento de Química “Profesor José Carlos Vilchez Martín”, Fuerzas Armadas, S/N, 21007 Huelva, maria.santos@dqcm.uhu.es.

Los métodos tradicionales para la extracción de productos naturales tienen como principal inconveniente el consumo de grandes volúmenes de disolventes orgánicos, perjudiciales para el medio ambiente y la salud humana. En este trabajo, hemos desarrollado un método sostenible basado en disolventes eutécticos profundos naturales (NADES) para la extracción de compuestos fenólicos a partir de residuos agroalimentarios, como las hojas de arándano, y así contribuir con el primer objetivo de la Economía Circular, mantener el valor de los productos el mayor tiempo posible. En el presente estudio, se probaron 18 NADES para la recuperación de compuestos fenólicos presentes en las hojas de arándano, cuya eficacia de extracción se evaluó midiendo el contenido fenólico total y la actividad antioxidante, y se comparó con la proporcionada por un disolvente convencional (MeOH:H₂O, 80:20). En la mayoría de los casos, los rendimientos de extracción proporcionados por los NADES fueron superiores a los del disolvente orgánico utilizado como referencia. Una vez seleccionados los NADES con mejores rendimientos (ChCl:Ox, cloruro de colina – ácido oxálico, 1:1; y La:AcNa:W, ácido láctico – acetato sódico – agua, 3:1:2), se estudió el efecto de factores como la temperatura, el tiempo y la relación sólido/líquido en la eficacia de la extracción mediante un diseño experimental de Box Behnken. Las condiciones óptimas de extracción fueron 65 °C para la temperatura y 45 min de tiempo para ambos NADES, mientras que la relación líquido/sólido óptima fue de 75 para ChCl:Ox y de 38 para La:AcNa:W. Los extractos obtenidos utilizando las condiciones óptimas de extracción fueron finalmente caracterizados cromatográficamente mediante un método validado en nuestro laboratorio. En general, el NADES basado en ácido láctico permitió extraer un gran número de ácidos hidroxicinámicos y derivados de flavonoles, mientras que el NADES basado en cloruro de colina mostró una gran selectividad hacia la extracción de antocianos.

En conclusión, los NADES son una alternativa sostenible para la recuperación de compuestos fenólicos de subproductos agrícolas, influyendo así en el concepto de Química Verde. El procedimiento desarrollado en este trabajo podría aplicarse a otros residuos de la industria agrícola, como el extrusado de fresa y otros frutos rojos, así como restos de poda. También sería aplicable a la extracción de compuestos bioactivos en matrices alimentarias como mieles, aceites y bayas.



Selective extraction and determination of basic micropollutants in sludge from municipal sewage treatment plants

Victoria Fernandez Fernandez, María Ramil, Rafael Cela, Isaac Rodríguez.

Universidade de Santiago de Compostela, Research Institute on Chemical and Biological Analysis (IAQBUS), Department of Analytical Chemistry, Nutrition and Food Sciences, Constantino Candeira s/n. Campus Sur, 15782, Santiago de Compostela, victoriafernandez.fernandez@usc.es

Sludge is the solid residue generated at sewage treatment plants (STPs) during the processing of wastewater samples. Despite the concentrations of micropollutants in the water phase of STPs has been largely investigated in the literature, less information is available regarding the occurrence and the levels of micropollutants existing in sludge. Assessing the levels of pollutants in sludge is required to understand the behaviour and mass balances of pollutants at STPs and to evaluate the risk of reintroducing these compounds in the terrestrial environment, if stabilized sludge is considered as agriculture fertilizer.

Sludge is complex matrix, rich in organic matter; thus, its extracts contain a high organic load which might turn in significant matrix effects using LC-MS based determination techniques. In this study, we combine the use of mild extraction conditions, employed in matrix solid-phase dispersion (MSPD), with an on-line clean-up step, for the quantification of compounds previously identified in sludge, using a non-target screening methodology [1], by liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The proposed method is validated for the determination of 40 contaminants of emerging concern, with a basic moiety in their structure, in sludge from municipal STPs. The proposed methodology was free of matrix effects, it provided recoveries in the range from 80 to 120%, using solvent-based standards, and achieved limits of quantification in the range of few ng/g referred to freeze-dried sludge.

Application of the method to sludge samples reflected the presence of several compounds in this matrix. Some of them showed mean concentrations between one and two orders of magnitude above their predicted non-effect concentration (PNEC) in solid environmental matrices. Thus, further studies and additional treatments at STPs are required to reduce the residues of these compounds in sludge, before considering it as a safe organic amend in agriculture soils.

Acknowledgments

This study was supported through grants PGC2018-094613-B-I00 and ED431C 2021/06, funded by Spanish Government and Xunta de Galicia, respectively.

[1] G. Castro, M. Ramil, R. Cela, I. Rodríguez. *Sci. Total Environ.* 778 (2021) 146256. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146256>.



Low toxicity deep eutectic solvent-based ferrofluid as a green approach for the determination of UV filters in environmental waters by stir bar dispersive liquid microextraction

José Grau, Alaine Duque, Juan L. Benedé, Rosa M. Alonso, Miguel A. Campanero, Alberto Chisvert.

University of Valencia, Faculty of chemistry, GICAPC Research Group, 50 Dr. Moliner st., 46100, Burjassot, jose.grau-escribano@uv.es

In this work, a new ferrofluid has been developed as efficient solvent for liquid-phase microextraction techniques. This ferrofluid is composed by a low toxicity deep eutectic solvent (DES) of menthol:thymol and cobalt ferrite magnetic nanoparticles (MNPs). The synthesis of this material was found to be fast, economic and safe for the operator, especially if it is compared with other magnetic fluids (i.e., magnetic ionic liquids (MILs)).

This ferrofluid and its individual components (i.e., DES and MNPs) were characterized with different techniques in order to study its proper formation. Moreover, in order to evaluate the analytical capability as extraction solvent, the determination of UV filters in environmental waters was selected as analytical application, employing stir-bar dispersive liquid microextraction [1]. After the optimization of the main extraction and desorption variables, the method was validated and applied to different environmental samples of different origins (one river and two beach water samples), obtaining excellent results for all the analytes [2].

Finally, this method was compared with a previous similar method which employs MILs. Results were similar for both methods. However, the synthesis of the ferrofluid proved to be less harmful for environment and the operator. This fact makes this ferrofluid a good alternative to MILs for liquid-phase microextraction techniques.

[1] A. Chisvert, J.L. Benedé, J.L. Anderson, S.A. Pierson, A. Salvador, *Anal. Chim. Acta.* 983 (2017) 130-140., [2] A. Duque, J. Grau, J.L. Benedé, R.M. Alonso, M.A. Campanero, A. Chisvert, *Talanta.* 243 (2022) 123378.,



Estudio de la estabilidad de disoluciones patrón y de trabajo para la determinación cuantitativa de fungicidas triazólicos empleando técnicas ortogonales (LC-HRMS y NMR)

María Elena Hergueta-Castillo, María Elena Hergueta-Castillo, Rosalía López-Ruiz, Roberto Romero-González, José Luis Martíenz Vidal, Antonia Garrido Frenich

Universidad de Almería, Facultad de Ciencias Experimentales, Departamento de Química y Física, Ctra. Sacramento s/n, 04120 Almería, dgg@usal.es.

Desde 1980 hasta la actualidad, los fungicidas triazólicos se emplean para prevenir y controlar enfermedades fúngicas. En los últimos años, su uso se ha incrementado y por ello es necesario el desarrollo de métodos analíticos para su control [1]. Uno de los problemas al que se enfrentan los laboratorios de ensayo cuando desarrollan dichos métodos es la estabilidad que presentan las disoluciones (patrón y de trabajo) de plaguicidas usadas durante varios meses [2]. Es por lo que en este estudio se ha monitorizado la estabilidad/degradación de 21 fungicidas triazólicos a través de métodos instrumentales, basados en cromatografía de líquidos de ultra alta resolución (LC-HRMS), acoplada a un analizador de espectrometría de masas (Q)-Orbitrap, y resonancia magnética nuclear (NMR), mediante la adquisición de ^1H , usando un espectrómetro de 600 MHz. Se han evaluado disoluciones patrón a alta concentración (1000 mg/L) y disoluciones de trabajo (conteniendo los 21 compuestos) a 2 mg/L, siendo analizadas por NMR las disoluciones patrón (almacenadas a -21°C), y mediante LC-HRMS, las de trabajo (almacenadas a 4°C). Para ello, se ha desarrollado un método de análisis para cada una de las técnicas y, una vez optimizados, se han aplicado para la determinación de los compuestos triazólicos.

En ambas técnicas se ha seguido el criterio indicado por la guía SANTE [3], que establece que la diferencia entre la disolución almacenada y la de referencia (recién preparada) no debe exceder $\pm 10\%$ de la nueva medida. Si se supera este valor, la disolución se habrá degradado en el porcentaje calculado y, por tanto, habrá que preparar una nueva. De esta forma, durante el primer mes se observó que los compuestos presentes en la disolución de trabajo de 2 mg/L cumplían dicho criterio, excepto tetraconazol, fluquinconazol, fenbuconazol y flusilazol, que presentaban un porcentaje de degradación de 10-25%. Además, por NMR, las disoluciones patrón también cumplían el criterio durante los 12 primeros meses e incluso algunos compuestos, como flutriafol, se mantuvieron estables durante 14 meses. Entre las ventajas que presenta NMR sobre LC-HRMS, destaca que no es necesario comparar la disolución almacenada con la de referencia y no se requiere la realización de diluciones.

Los autores agradecen a la Junta de Andalucía y FEDER por el apoyo financiero (referencia del proyecto: P18-RT-2329). RLR agradece a la Consejería de Transformación Económica, Industria, Conocimiento y Universidades la financiación obtenida (“Ayudas para Captación, Incorporación y Movilidad de Capital Humano de I+D+i (PAIDI 2020)”).

[1] J. Li, Y. Wang, W. Li, P. Xu, B. Guo, J. Li and H. Wang, Tissue distribution and metabolism of triadimefon and triadimenol enantiomers in Chinese lizards (*Eremias argus*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 142 (2017) 284-292.

[2] A. Ambrus, G. Noonan, A. Németh, G. Kötelesné-Susztér, M. Anastassiades, K. A. Hamow and E. M. Solymosné, Testing the accuracy of analytical standard solutions used for quantitative determination of pesticide residues. *J AOAC Int.* 100 (2017) 1058-1061.

[3] European Commission, Guidance document on analytical quality control and method validation for pesticide residues analysis in food and feed SANTE 11312/2021, *Sante/11312/2021*. (2021) 1-57.



Novel possibilities for interference removal using Multi-Quadrupole ICP-MS

Helmut Ernstberger, Ewa Pruszkowski, Chady Stephan.

PerkinElmer, n/a, n/a, Viale dell'Innovazione, 3, 20125, Milano,
helmut.ernstberger@perkinelmer.com

As the technique of ICP-MS has evolved over the years substantial improvements in interference removal capabilities have been progressively introduced. This contribution reviews the types of spectral and non-spectral interferences encountered, and reviews strategies to address and eliminate them, placing special emphasis on the novel capabilities offered by latest Multi-Quadrupole instrumentation. Examples of spectral interference removal in both on-mass and mass-shift modes are provided, and elements with analytical potential for interference removal via cluster formation using pure reaction gases are identified.

..



Monitorización electroquímica de la permeación de hidrógeno a través de diferentes láminas de hierro

Pablo Fanjul-Bolado, David Ibáñez, María Begoña González-García, Alejandro Pérez-Junquera, David Hernández-Santos.

Metrohm DropSens S.L, Metrohm DropSens S.L, R&D, Vivero Ciencias de la Salud, C/Colegio Santo Domingo de Guzmán s/n., 33010, Oviedo, david.ibanez@metrohm.com

La celda Devanathan-Stachurski o también llamada celda H se ha utilizado con éxito para evaluar la permeación de hidrógeno a través de láminas y membranas de diferentes materiales. Esta celda tiene dos compartimentos electroquímicos separados a través de una lámina que actúa simultáneamente como electrodo de trabajo en ambas celdas. Esta configuración permite la generación de hidrogeno en uno de los compartimentos, denominado celda de carga, al aplicar un potencial controlado o una corriente constante. El hidrógeno generado difunde a través de la lámina y se detecta electroquímicamente en el otro compartimento donde el hidrógeno gas es oxidado al aplicar un potencial constante [1]. La corriente anódica registrada es directamente proporcional a la cantidad de hidrógeno que permea a través de la membrana o lámina a lo largo del tiempo. Dado que la cantidad de hidrógeno que pasa a través de la membrana es pequeña, se necesitan instrumentos de medida muy sensibles para su detección. Además, como las dos celdas electroquímicas usan el mismo electrodo de trabajo, se deben usar dos equipos en modo flotante con aislamiento galvánico. Teniendo en cuenta estos requisitos instrumentales, en este trabajo se ha estudiado la permeación de hidrógeno a través de diferentes láminas de hierro. El diferente comportamiento electroquímico observado demuestra que las láminas analizadas responden de diferente manera a la permeación de hidrógeno. Por ejemplo, una de ellas muestra mayor difusividad a este gas ya que se obtiene una corriente anódica mayor, mientras que con otra de las muestras no sólo se registra una corriente menor, sino que también se observa un retardo en el transporte de hidrógeno debido a su menor permeabilidad. La importancia de estos estudios es clara si se tiene en cuenta que la absorción de hidrógeno por materiales ferrosos es un grave problema, ya que puede producir cambios en las propiedades mecánicas del material e incluso fisuras por la corrosión generada.

ASTM G148-97, "Standard Practice for Evaluation of Hydrogen Uptake, Permeation, and Transport in Metals by an Electrochemical Technique.", ,



Analytical applications in consumer products of the particle collision electrochemical methods in the detection, size characterization and quantification of metallic nanoparticles

Francisco Laborda García, Juan-Carlos Vidal Ibáñez, Deamelys Hernández, Josefina Pérez-Arantegui, Ana-Cris Giménez Ingalaturre

Universidad de Zaragoza, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, c/ Pedro Cerbuna, 12, 50009 Zaragoza, jcvidal@unizar.es.

Nanomaterials are increasingly used in industrial, biomedical and consumer products applications. Among them, silver nanoparticles (AgNPs) have probably been the most studied and with more applications due to their antimicrobial properties. However, at the same time, their ecological release into the environment during production, storage or applications produce toxicity and damaging effects in high concentrations or after physical, chemical, and biological transformations [1].

The characterization of individual AgNPs has been extensively carried out by single-particle inductively coupled plasma mass spectrometry (SP-ICP-MS) and with electron microscopy techniques [1, 2]. On the other hand, electroanalytical techniques can provide very important complementary and additional chemical-physical information in the study of nanomaterials and nanoparticles, for example, number concentrations, size distributions, aggregation or agglomeration states, electrocatalysis, diffusion coefficients, presence of molecular tags or superficial oxidations states. Particularly, the electrochemical detection of direct or mediated single nanoparticle collisions on microelectrodes, by virtue of their random collision due to Brownian motion, allows to measuring their sizes, in the so-named particle collision coulometry (PCC), nanoparticle impact coulometry, or anodic particle coulometry [3].

Electrochemical nanoimpact techniques have been extensively studied in recent years, but predominantly from a chemical-physical point of view and very rarely for analytical purposes. In this communication, the use of these techniques for the quantification of AgNPs in consumer products (food supplements and antibiotic uses) is prioritized, reaching very high sensitivities below ppb's. The results are compared with those obtained with the SP-ICP-MS method. Additionally to number concentrations, detection and determination of size distribution (10-100 nm.) of these AgNPs in consumer samples gave accurate results in comparison with SP-ICP-MS and TEM/FESEM (transmission and field-emission scanning electron microscopy) techniques, with average diameters without significant differences at the 95% confidence levels (two sample t test, $p < 0.05$).

The most remarkable advantage of the electrochemical nanoimpact method compared with the SP-ICP-MS as size characterization techniques is the more accuracy in the measurement of mean diameters with smaller sizes of these nanoparticles (e.g., 10-20 nm.) by using PCC. For the reason that PCC is based on the complete transformation of the AgNPs upon impact on the working electrode (faradaic equivalence), this being kinetically faster the smaller its diameter. Another inherent advantage of PCC compared to SP-ICP-MS is the non-influence (non-interference) of silver Ag(I) ions in the detection, quantification and characterization of the nanoparticle sizes from the measured dispersions.

[1] F. Laborda et al., *Anal. Chim. Acta* 904 (2016) 10.

[2] E. Bolea et al., *Anal. Meth.* 13 (2021) 2742.

[3] D. Hernández et al., *Microchim. Acta* 188 (2021) 12.



Non-conventional solvents formed by surface active ionic liquids

María Celia García Álvarez-Coque, María José Ruiz Angel, Carlos Josué Tereba Mamani, Nikita Pankajkumar Patel.

Universitat de València, Facultat de Química, Departamento de Química Analítica, c/Dr. Moliner 50, 46100, Burjassot, celia.garcia@uv.es

In the last decade, there has been an increased interest on the preparation of microemulsions (MEs), where the aqueous phase, oil phase, surfactant, or two of these components are replaced by ionic liquids (ILs) [1,2]. Due to the tunable properties of MEs containing ILs, these have been revealed as more versatile than conventional MEs, even compared to IL-only solutions, which have proven useful for a wide range of fields, such as synthesis, bio-catalysis, polymerisation, nano-material preparation, drug delivery and analytical separations. The formation of stable MEs between two inherently immiscible liquids (oil and water), requires the presence of surfactants to reduce the interfacial tension between the two phases. Depending on the properties of the cation and anion in the ILs, they can be used as polar or apolar solvents in the MEs.

Different types of ME systems can be formed: non-aqueous IL-based MEs, aqueous IL-based MEs (IL/w), and IL/oil/water MEs where the IL acts as a self-assembly and structural organization of the amphiphilic molecule. Some examples of this type are formed by SAILs (surface active ionic liquids), which are amphiphilic imidazolium ILs with long alkyl chains able to form micelles, typically with eight or more carbon atoms, such as [C16C1IM][Br] or [C14C1IM][Cl], and the oils p-xylene, 1-decanol or n-heptane. A conventional surfactant can also be added to form a stable ME. Such is the case of [C2C1IM][Cl] mixed with AOT (dioctyl sulfosuccinate sodium), using isooctane as oil, or [C4C1IM][BF4] with dioctadecyldimethyl-ammonium chloride.

Anionic and cationic SAILs, obtained by combining the properties of imidazolium-based ILs and surfactants, have been found more tailorable than the chemically limited sub set of cationic SAILs of imidazolium, commonly employed, giving rise to changes in the critical micelle concentration (CMC), mesophase behaviour, and bulk physico-chemical properties, such as melting point and solvent miscibility. These compounds are also cheaper and more environmentally friendly compared to standard cationic SAILs. A surprising aspect is that the physico-chemical properties of SAILs are dominated by the nature of the surfactant anion and that the chemical structure of the added cation plays only a secondary role. The development of these SAILs is advantageous as they offer interesting opportunities to combine the properties of surfactants with those of imidazolium-based ILs, and this dual nature may be beneficial in applications such as separation and extraction [3].

[1] W. Kunz, T. Zemb, A. Harrar, Using ionic liquids to formulate microemulsions, *Current state of affairs*, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 17 (2012) 205–211., [2] C. Zhang, H. Rao, K. Zhao, Dielectric insight into the microcosmic behavior of ionic liquid based self-assembly, *Microemulsions/micelles*, *J. Phys. Chem. B* 122 (2018) 7170–7177., [3] M.J. Trujillo-Rodríguez, P. González-Hernández, V. Pino, *Analytical applications of ionic liquid-based surfactants in separation science*, in *Ionic Liquid-Based Surfactant Science: Formulation, Characterization, and Applications* (edited by B.K. Paul, S.P. Moulik, W. Kunz), Wiley Series on Surface and Interfacial Chemistry, John Wiley & Sons, New Jersey, 2015, pp. 475–502.



Método electroquímico cinético para la detección de mezclas de especies electroactivas utilizando electrodos serigrafados

Pablo Fanjul-Bolado, Daniel Izquierdo, Daniel Antuña-Jiménez, María Begoña González-García, David Hernández-Santos

Metrohm DropSens, Metrohm DropSens, R&D, Vivero de Ciencia de la Salud, C/ Colegio Santo Domingo Guzmán s/n, 33010 Oviedo, daniel.izquierdo@metrohm.com.

Los métodos electroquímicos hidrodinámicos consisten en conseguir un transporte de masa en el que se alcance el estado estacionario, gracias al movimiento de la disolución hacia electrodo en reposo producido por convección o bien al uso de electrodos que rotan como son el electrodo de disco rotatorio (RDE) y el electrodo de anillo-disco rotatorio (RRDE).

En este trabajo, en vez de utilizar estas metodologías más comúnmente empleadas, se ha optado por el empleo del método electroquímico cinético de gota giratoria (KRDE, kinetic rotating droplet electrochemistry), puesta a punto por L. Challier y al. [1], la cual, consiste en replicar el efecto de transporte de masa que se produce por convección al hacer girar el electrodo de disco rotatorio. En este caso el electrodo se mantiene en reposo y sobre él se coloca una gota de disolución a la cual se le hace rotar mediante un rotor situado a escasa distancia de la superficie del electrodo. Este método presenta varias ventajas respecto a otros métodos hidrodinámicos. En primer lugar, se puede llevar a cabo experimentos con volúmenes de muestra del orden de microlitros, mucho menores que los requeridos en otros casos[2]. Además, este método permite el uso de electrodos serigrafados, lo cual es muy conveniente para reproducir un gran número de experimentos con superficies de electrodos frescas sin necesidad de realizar procesos de limpieza y pulido para recuperar la superficie electródica. Este trabajo presenta la aplicación de la electroquímica cinética de gota giratoria sobre electrodo serigrafados para determinar la relación de concentraciones entre la forma oxidada y reducida de una reacción reversible. Para esta determinación se han llevado a cabo calibrados a distintas concentraciones de cada una de las especies, y a continuación se han evaluado varias mezclas obteniendo buenos ajustes a la curva de calibrado para una de las especies del par redox, permitiendo determinar la concentración de cada una de las especies en un rápido y sencillo experimento.

[1] L. Challier, R. Miranda-Castro, D. Marchal, V. Noël, F. Mavré, B.B. Limoges, J. Am. Chem. Soc. 135 (2013) 14215–14228.

[2] M. Kundys, W. Adamiak, M. Jönsson-Niedziółka, Electrochem. Commun. 72 (2016) 46–49.



Potencial de palillos de madera prelavados como sorbentes en bioanálisis

Rafael Lucena Rodríguez, Jaime Millán-Santiago, Soledad Cárdenas Aranzana.

Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias, Química Analítica, Departamento Química Analítica. Edificio Marie Curie ANEXO, Campus universitario de Rabanales. Universidad de Córdoba, 14071, Córdoba, q62luror@uco.es

Durante la última década, está en auge la valorización de productos derivados de la biomasa, residuos y materiales (ligno)celulósicos en el ámbito del tratamiento de muestra y de la microextracción, entre los que destaca la madera generalmente utilizada en forma de palillos de madera (en inglés, WTs). Es un material biocompatible, barato y desechable que se ha utilizado en el ámbito del análisis forense, clínico, ambiental y alimentario.

Están compuestos principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina. Su porosidad intrínseca y la presencia de grupos OH superficiales permiten el uso de WTs sin modificar. Además, la superficie de los WTs se puede modificar con polímeros y composites para incrementar su capacidad de extracción o permitir nuevas interacciones con los analitos.

Sin embargo, el leaching de componentes intrínsecos de la madera pueden afectar negativamente tanto a la extracción, dificultando la interacción entre el sorbente y los analitos, como a la ionización de los analitos en el proceso de medida. Por ello, se presenta el prelavado de los WTs con agua hirviendo, para minimizar este problema en la determinación de antidepressivos tricíclicos en muestras de saliva mediante infusión directa (DI) y LC acopladas a espectrometría de masas en tándem (MS/MS).

El proceso de extracción permite la extracción de hasta 25 muestras simultáneamente mediante el uso de un agitador orbital. El estudio de las variables que afectan mayoritariamente al proceso de extracción, concretamente pH, fuerza iónica y tiempo de extracción, se realizó utilizando estándares internos de los analitos para corregir su efecto.

El método analítico propuesto se validó para DI-MS/MS y LC-MS/MS en términos de linealidad, límites de detección y cuantificación, precisión y exactitud (intra e inter-day) utilizando matrix-matched calibration standards.

Como prueba de concepto, se evalúa el uso potencial de pb-WTs como material sorbente biocompatible en la extracción in vivo de paracetamol directamente en la cavidad bucal, permitiendo conocer la diferencia de concentración de paracetamol a diferentes tiempos desde la ingesta del medicamento.



Comparison of accelerated solvent extraction method with modern and conventional methods for recovery and quantification of phytobiotics in broiler feed

Arturo Soria Soria, Arturo Soria Soria, Myrna Elena Olvera García, Gonzalo Villar Patiño.

Grupo Nutec, Euro-NUTEC, Investigación de Aditivos e Ingredientes Funcionales, Av. del Marqués 32, Parque Industrial Bernardo Quintana, Querétaro, México, 76246, El Marqués, asoria@gponutec.com

The development of an analysis method involves several crucial factors that will contribute to the quality of the result. It is well known that the highest percentage of variability in the results is provided during the sample preparation, either by the analyst's manipulation or by the efficiency of the selected extraction method (Kaykhah Massoud, 2021). ASE (accelerated solvent extraction) technique has replaced conventional methods such as Soxhlet, sonication, and maceration due to its efficiency (precision and analytical accuracy), faster extraction, easy operation, and low solvent consumption. As well, this method is performed at temperatures ranging from 50 to 200°C and pressures of 500-3000 psi to hold the solvents in a liquid state at high temperatures (Ahmad R et al, 2019). The aim of this work was carried out a comparison between the analytical and operating efficiency of different extraction methods: sonication, Soxhlet, QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe), and ASE technique, running the quantification of two phytobiotics: capsaicin and curcumin, dosed within broiler feed, by liquid chromatography (UPLC) coupled to PDA and QDa detection systems.

The ASE technique proved to be the most efficient method to obtain both molecules in a single extract, since recovery percentages between 93%-107% were detected, with repeatability and reproducibility of less than 7% and 10%, respectively. The second most efficient method was sonication, with a recovery of 85% to 110%, repeatability, and reproducibility less than 11% and 17%. Being encapsulated, capsaicin represented the greatest challenge for the extraction methods, with QuEChERS and Soxhlet being the least analytically efficient methods, with recovery percentages of 80% and 70%, respectively. Nevertheless, for the quantification of curcumin (non-encapsulated) these methods could be considered because we obtain an average recovery of 95% and 91%, respectively, although their accuracy should be improved (CV greater than 40%). Additionally, concerning Soxhlet, the prolonged extraction times required by the method must be considered. Capsaicin quantification was performed by UPLC-QDa and curcumin by UPLC-PDA with LoD of 0.01ppm and 0.7ppm; LoQ 0.15ppm and 1.5ppm respectively.

In this study, it was concluded that ASE is the most efficient method both analytically and operationally to perform the extraction of capsaicin and curcumin from a complex feed matrix with the highest percentage of the analytes recovery and lowest CV. It was corroborated that this method implies a slight manipulation by the analyst, low solvent consumption, speed and simplicity of extraction compared to the other methods evaluated.

Ahmad R., Ahmad N., Al-Anaki W.S., Ismail F.A., Al-Jishi F., Solvent and temperature effect of accelerated solvent extraction (ASE) coupled with ultra-high-pressure liquid chromatography (UHPLCPDA) for the determination of methylxanthines in commercial tea and coffee, 2019, Kaykhah Massoud, "Introductory Chapter: Evolution of Sample Preparation" In Sample Preparation Techniques for Chemical Analysis, 2021,



3D printed device for off-line solid-phase extraction of chlorophenols combined with microchip capillary electrophoresis

Edward Charles Baker, Miriam Beneito-Cambra, María Jesús Lerma-García, Ernesto F. Simó-Alfonso and José Manuel Herrero Martínez.

Universitat de València, Chemistry faculty, Department of analytical chemistry, Dr. Moliner 50, Burjassott, 46100, Valencia, edba@alumni.uv.es

In the last decades, important efforts have been put into miniaturization, coming on the scene formats such as microchips or other miniaturized formats. The rapid development of these miniaturized systems has been accompanied in recent years by the introduction of 3D printing into various fields of science to prepare solid structures with geometric precision for new scientific hardware and manufacturing parts. However, the possibility of producing 3D printed microfluidic devices remains challenging due to the minimum size of channels that could be created with this technology. On the other hand, despite the advantages associated with microchip capillary electrophoresis (CE), sensitivity still represent important challenges in this technique. In order to overcome these problems, off-line 3D printed extraction devices in combination with microchip CE can be combined. In the present work, the development of off-line 3D printed extraction devices for isolation of chlorophenols from water samples followed by microchip CE has been carried out. For this purpose, electrophoretic separation of target analytes was firstly studied in microchip CE using amperometric detection by optimizing separation and injection conditions. On the other hand, for the extraction stage, the retention capability of a methacrylic acid-based polymer anchored in 3D printed platforms aimed at off-line sorptive extraction was tested. For this purpose, a functionalization of the inner surface of 3D printed device was developed in order to attach covalently the porous polymer. After that, several parameters affecting extraction of target pollutants including pH, ionic strength, among others, were also investigated.

..



Nanomaterials in microextraction techniques for the determination of cosmetic-related compounds

Juan L. Benedé, José Grau, Víctor Váñez-Gomis, Cristian Azorín, Guillem Peris-Pastor, Alberto Chisvert, Amparo Salvador.

University of Valencia, Faculty of Chemistry, GICAPC Research Group, Department of Analytical Chemistry, 50 Doctor Moliner St., 46100, Burjassot, Valencia, Spain, benede@uv.es

Sample preparation is one of the most studied areas in Analytical Chemistry, especially in trace analysis where it is usually necessary to perform preconcentration of analytes and a clean-up step to eliminate potentially interfering compounds. For this purpose, microextraction techniques play a critical role since they allow both enrichment and separation of the analytes from the sample matrix in a single step.

Among the vast array of microextraction techniques, those based on nanomaterials have gained popularity during the last years [1]. These materials provide a considerable degree of selectivity, and, in addition, they have interesting properties with respect to materials on a macroscopic scale, such as a high area-volume ratio and a relative ease of surface modification, which allows to synthesize a great diversity of new materials superficially modified.

This contribution summarizes the background of our research group in the trace determination of cosmetic-related compounds, such as UV filters, endocrine disruptors, polycyclic aromatic hydrocarbons, or tetrahydrocannabinol, in different fields of application (cosmetics, biological fluids and environmental samples) by using different nanomaterials as extraction phase in microextraction techniques [2].

Special emphasis will be made on the works that are currently being carried out in our group on those nanomaterials with magnetic properties, such as functionalized magnetic nanoparticles, polymer-based magnetic sorbents, reduced graphene oxide-based magnetic composite or magnetic metal-organic frameworks, among others. These magnetic nanomaterials are mainly employed as sorbents in a hybrid sorbent-based microextraction approach termed stir bar sorptive dispersive microextraction (SBSDME), which was developed and presented by our group few years ago with a demonstrated great versatility [3].

Acknowledgements

Financial support from the Spanish Ministry of Science and Innovation (PID2020-118924RB-I00) is gratefully acknowledged. Authors also thank the Generalitat Valenciana and the European Social Fund for the predoctoral grant of V.V-G (ACIF/2020/107), and the Spanish Ministry of Universities for the predoctoral grant of C.A. (FPU19/04239).

[1] Y. Chen, L. Xia, R. Liang, Z. Lu, L. Li, B. Huo, G. Li, Y. Hu, Trends Anal. Chem. 120 (2019) 115652., [2] J. Grau, J.L. Benedé, A. Chisvert, Molecules 25 (2020) 2586, [3] V. Váñez-Gomis, J. Grau, J.L. Benedé, D.L. Giokas, A. Chisvert, A. Salvador, Anal. Chim. Acta 1153 (2021) 338271



MICROPIPETTE TIPS AS MULTIFUNCTIONAL LOW-COST TOOLS FOR ELECTROANALYTICAL (BIO)SENSING

Estefanía Costa-Rama, Andrea González-López, Iliaria Stanzione, Paula I. Nanni, Estefanía Costa-Rama, Anna Pennacchio, Alessandra Piscitelli, Rossana E. Madrid, Paola Giardino, M. Teresa Fernández-Abedul.

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica, Av. Julián Clavería 8, 33006, Oviedo, costaestefania@uniovi.es

Due to the increasing interest in developing miniaturized, portable, simple, and reliable analytical methodologies and platforms, different functionalities must be integrated in miniaturized analytical devices to get low-cost and disposable, as well as sensitive, selective, and robust platforms. With this aim, in this work we present the use of common micropipette tips for different purposes from those they were conceived for. Micropipettes tips are here presented for i) low-cost immunosensing and ii) enzymatic sensing with further electrochemical detection, as well as for iii) direct electroanalysis on the tip.

In the first case, micropipette tips were used as substrate for ELISA development, with anti-tissue transglutaminase IgA (anti-TG), a celiac disease biomarker, as analyte. The immunoassay consists of different steps [1]. The inner surface of the tip was converted on a capture zone for the attachment of the antigen. The detection antibody was enzymatically labelled and TMB (3,3',5,5' tetramethylbenzidine) was added as substrate to generate the product which is electrochemically reduced. The intensity of current is correlated with anti-TG concentration. For the electrochemical detection, a platform combining chromatographic paper and stainless-steel staples [2] was used. In the second case, the tip was used as substrate for the immobilization of a chimeric protein in which the enzyme laccase (PoxA1b from the fungus *Pleurotus ostreatus*) has been genetically fused to the class I hydrophobin Vmh2. The modified tip was used to determine caffeic acid in tea samples by its enzymatic oxidation and further detection by electrochemical reduction of the product.

In the third approach, the tip was used as container of a complete electrochemical cell, with all the three-electrodes of a potentiostatic system included [3]. In this case, its utility has been evaluated by the determination of an anionic surfactant (sodium dodecyl sulphate, SDS) in water through its interaction with methylene blue (MB). In this way, electrochemical measurements were done directly in-the-tip using low volume (μL) of sample and showing good reproducibility.

This work has been supported by grant PID2020-118376RA-I00 funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033, project AYUD/2021/51289 (Government of the Principality of Asturias, Ficyt and FEDER Program of the European Union), and project CTQ2014-58826-R from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness.

[1] A. González-López, *ACS Sens.* 4 (2019) 2679-2687, [2] Paula I. Nanni, *ChemElectroChem.* 5 (2018) 4036-4045, [3] A. González-López, *Talanta* 224 (2021) 121732



Cubosomic Supramolecular Solvents: Synthesis, Characterization, and Potential for High-Throughput Multiclass Testing of Banned Substances in Urine

Soledad González Rubio, Noelia Caballero Casero, Ana María Ballesteros Gómez, Gloria Muñoz, Soledad Rubio..

Universidad de Córdoba, Campus Universitario Rabanales, Facultad de Ciencias, Química Analítica, Edificio Anexo Marie Curie, Planta 1, 14071, Córdoba, solegr5@gmail.com

This work was intended to efficiently extract multiclass prohibited substances in human sport drug testing by using supramolecular solvents (SUPRASs) made up of cubosomes. These SUPRASs are synthesized by the salt-induced coacervation of 1,2-hexanediol in urine. The formation of square and rounded cubosomes with a size range of 140-240 nm was confirmed by electron microscopy. These nanostructures consisted of 1,2-hexanediol, salt, and a high water content (36-61%, w/w). Their applicability in multiclass determinations was investigated by the extraction of 92 prohibited substances (log P from 2.4 to 9.2) belonging to the 10 categories of the World Anti-Doping Agency's (WADA) list. Variables influencing both recoveries and matrix effects were optimized. Cubosomic SUPRASs showed high extraction efficiency and interference removal capability, which was attributed to their large hydrophilicity and surface area. Both features were superior to those of other SUPRASs (n=11) that were based on sponge droplets and inverted hexagonal aggregates and to those of conventional organic solvents. A sport drug-testing method based on cubosomic SUPRAS-LC-ESI-MS/MS was proposed and validated. Around 82-95% of drugs were efficiently extracted (recoveries 70-120%) in urine samples, and 81-92% did not present matrix effects. The method detection limits (0.001-4.2 ng mL⁻¹) were all far below WADA's limits. The proposed SUPRAS-based sample treatment is as simple as QuEChERS, but the distinctive features of cubosomes confer them high capability in multiclass determinations.

Rubio, S. Anal. Bioanal. Chem. 2020, 412, 6037-6058., ,



Paper-supported DES as sorbent material: synthesis and application in microextraction

Guillermo Lasarte-Aragonés, Inmaculada López-Ruiz, Guillermo Lasarte-Aragonés, Rafael Lucena, Soledad Cárdenas Aranzana

Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, Campus de Rabanales, N-IV, km 396, Edificio Marie Curie Anexo 2a planta, 14071 Cordoba, b22laarg@uco.es.

Analytical chemistry is no stranger to the society growing demands for cost-effective and environmentally friendly materials for developing of new applications and devices. White analytical chemistry emerges as a driving force to promote and implement changes for the design of greener methods with a wider applicability in the real analytical field [1]. Paper-based extractants have gained attention in recent years as low-cost and sustainable material for a myriad green microextraction alternatives. Moreover, cellulose structure implies a potential for modification and chemical functionalization that expands its. Paper can be easily modified by physical deposition of the required sorptive phase such as carbon and metal nanoparticles, nanocomposites, biomolecules, polymers or ionic liquids (IL) [2]. Recently, a novel medium called deep eutectic solvents (DES) has been incorporated to the collection of available materials suitable for microextraction applications. DES can be considered as a subtype of IL but cheaper, less toxic and biodegradable [3]. These types of solvents are obtained by combination of a given hydrogen bond donor (HBD) and acceptor (HBA) in a particular molar ratio and temperature, from crystalline form to liquid state. To combine the outstanding properties of paper as support with this new extractant material, a method for on-paper physical deposition of the extractant is proposed. To this aim, a Thymol-Vanillin (1:1 molar ratio HBD to HBA) DES is synthesized by simply heating both components in the appropriate ratio up to its eutectic temperature (65°C) and deposited on pre-cut cellulose paper strips. The presence of hydroxyl residues of the support induces the solidification of the DES by altering the hydrogen-bonds balance. Moreover, despite the physical change in the DES, it retains its chemical behaviour according to its FTIR spectra. The paper-supported DES is employed as extractant phase for a microextraction alternative in environmental water samples using triazine herbicides as model analytical problem. According to our results, the supported DES is responsible for the extraction capacity, since individual components or bare-naked paper does not provide any analyte extraction. The method is optimized according to the critical variables than potentially affect its analytical performance such as sample volume, DES amount, extraction time and sample ionic strength. After extraction, the material is immersed in methanol the components and injected into GCMS to proceed with the target analytes determination.

[1] P.M. Nowak, R. Wietecha-Postuszny, J. Pawliszyn, *TrAC Trends Anal. Chem.* 138 (2021) 116223.

[2] M.C. Díaz-Liñán, M.T. García-Valverde, R. Lucena, S. Cárdenas, A.I. López-Lorente, *Anal. Methods.* 12 (2020) 3074–3091.

[3] A. Shishov, I. Sviridov, I. Timofeeva, N. Chibisova, L. Moskvin, A. Bulatov, *J. Mol. Liq.* 247 (2017) 246–253.



Nanopuntos de dicalcogenuros de metales de transición en el desarrollo de sensores ópticos

María del Pozo Vázquez, Lina Hristova, Rut Martínez-Moro, Esperanza Fernández-García, Luis Vázquez, María Dolores Petit-Dominguez, Elena Casero, Carmen Quintana.

Universidad Autónoma de Madrid, Facultad de Ciencias, Química Analítica y Análisis Instrumental, C/ Francisco Tomás y Valiente 7, 28049, Madrid, maria.delpozo@uam.es

Desde el descubrimiento del grafeno y sus excelentes propiedades, ha crecido el interés del estudio de otros materiales de baja dimensionalidad como los dicalcogenuros de metales de transición (TMDs). Estos nanomateriales forman una estructura MX₂, donde M es un metal de transición (Mo, W, Ti, Re) y X un átomo calcógeno (S, Se, Te). Las láminas formadas están unidas por fuerzas de van der Waals que les hace fácilmente exfoliables para la síntesis de láminas (2D) o nanopuntos (0D). En su forma 0D, estos nanomateriales presentan propiedades ópticas y electrónicas únicas, lo cual ha llevado a su uso en catálisis, en bioimagen y para el desarrollo de sensores. [1]

Los métodos de síntesis de nanopuntos de TMDs se clasifican en aproximación descendente o top-down, o por aproximación ascendente o bottom-up. Por un lado, la síntesis top-down se realiza mediante exfoliación líquida asistida por ultrasonidos y la síntesis bottom-up mediante la reacción hidrotermal en reactor a partir de los precursores. Una interesante comparativa es el empleo de distintos disolventes en la síntesis top-down que hace que se obtengan nanopuntos del mismo TMD con distintas propiedades.

En este trabajo se presenta la síntesis de distintos nanopuntos de TMDs (WS₂, ReS₂ y TiS₂) a partir de ambos métodos y su interacción con distintos analitos con el fin de comparar sus propiedades. En base a los resultados obtenidos, se ha desarrollado un sensor óptico basado en la inhibición de fluorescencia de estos nanopuntos como consecuencia de la interacción con lamotrigina. Para ello, se ha llevado a cabo la incorporación de los nanomateriales en membranas poliméricas que se inmovilizan sobre soportes de placas de cuarzo y su aplicación a la determinación de lamotrigina en suero humano. Igualmente, y siguiendo la misma estrategia, se ha desarrollado un sensor sobre soportes de papel que permite la detección visual de forma rápida y sencilla de este analito, sugiriendo la potencial aplicación de los nanopuntos de WS₂ para la determinación "in situ" de este fármaco.

X. Zhang, *Angew. chem.int.ed* 54 (2015) 5425., ,



OXIDIZED 2D LAYERED BLACK PHOSPHORUS: A NEW APPROACH TO ENHANCE THE VOLTAMMETRIC PERFORMANCE OF SENSORS

José Manuel Díaz Cruz, María A. Tapia, Rui Gusmão, Clara Pérez-Ràfols, Xavier Subirats, Núria Serrano, Zdeněk Sofer.

Universitat de Barcelona, Faculty of Chemistry, Department of Chemical Engineering and Analytical Chemistry, Martí i Franquès 1-11, 08028, Barcelona, josemanuel.diaz@ub.edu

Nowadays the development of sensors with an enhanced voltammetric response is a subject of major concern. In this sense, it is well-known the interest that 2D layered nanostructures have aroused in the last decade due to the excellent features of these materials. In this respect, black phosphorus (BP) is a p-type semiconductor with a layered structure that presents many desirable properties such as an intrinsic and tuneable direct band gap, high carrier mobility, good flexibility and anisotropic electrical conductivity, being the most renowned and experimentally studied 2D layered pnictogen material for electrochemical sensing applications. However, practical implementation of BP is often hindered by its low stability due to its tendency to degrade in the presence of oxygen and moisture. Although BP degradation is most often considered as an undesirable event, its oxidation can be beneficial in some electrochemical sensing applications. Thus, this work presents the possibilities of oxidized BP-based sensors in electrochemical sensing. For this purpose, a BP modified screen-printed carbon electrode (BP-SPCE) was developed and the effect of BP degradation on its analytical performance was assessed for the voltammetric determination of dopamine (DA) as a model target analyte. The obtained results clearly demonstrate that the exposition of BP-based working electrodes to normal ambient conditions leads to a notorious enhancement of voltammetric sensing applications. This significant enhancement of the BP-SPCE response towards DA could be attributed to the interaction between DA and oxidized BP, which would be facilitated through electrostatic interactions between the positively charged target analyte at the working conditions (pH 7) and the high electron density on the surface of oxidized BP. In order to confirm this point, the electrochemical response of epinephrine (positively charged) and ascorbic acid (negatively charged) was also evaluated at pH 7 using a non-oxidized BP-SPCE and a BB-SPCE stored in the oven at 25 °C without vacuum condition for 10 days. The obtained results allow to conclude that oxidized BP-SPCE sensor is a promising candidate not only for the determination of DA but also for the determination of other electrochemical active compounds positively charged at the working pH.

M.A. Tapia, R. Gusmão, C. Pérez-Ràfols, X. Subirats, N. Serrano, Z. Sofer, J.M. Díaz-Cruz, *Talanta* 238 (2022) 123036., M.A. Tapia, R. Gusmão, N. Serrano, Z. Sofer, C. Ariño, J.M. Díaz-Cruz, M. Esteban, *Trends Anal. Chem.* 139 (2021) 116249.,



BIOSENSORES ENZIMÁTICOS DESECHABLES PARA LA DETERMINACIÓN SIMULTÁNEA DE HISTAMINA E HISTAMINA/TIRAMINA USANDO UN SMARTPHONE

Isabel Sanz Vicente, Irina Rivero, Lucía Marcuello, María Pilar Montano, Susana de Marcos, Javier Galbán.

Universidad de Zaragoza, Facultad de Ciencias, Grupo de Nanosensores y Sistemas Bioanalíticos, Química Analítica, Pedro Cerbuna 12, 50009, Zaragoza, isasanz@unizar.es

La histamina es una amina biógena de bajo peso molecular con estructura heterocíclica (grupo imidazol). La histamina se encuentra en los alimentos, donde se forma por la descarboxilación enzimática del aminoácido histidina como consecuencia de la contaminación microbiana. La ingestión de alimentos ricos en histamina aumenta su concentración en el organismo, pudiendo provocar intoxicaciones [1]. En concreto, la debida a la histamina se conoce como intoxicación por escómbridos debido a que esta amina biógena es la predominante en estos pescados por su alto contenido en histidina libre. La relevancia de este problema ha llevado a la Unión Europea a establecer un límite de 200 y 400 mg/kg de histamina en pescado fresco y en conserva, respectivamente [2].

En este trabajo, proponemos un método analítico colorimétrico para su determinación basado en la secuencia de reacciones enzimáticas que se muestra en la Figura 1.

El método se caracterizó primero en disolución. Se estudiaron la tiramina oxidasa (TAO), la diamino oxidasa (DAO), la peroxidasa de rábano picante (HRP), el pH y los colorantes (TMB, ABTS y Amplex Red).

Posteriormente se inmovilizaron TAO, HRP y Amplex Red en celulosa para obtener soportes reactivos (biosensores desechables) para la determinación de Histamina (Him) cuyo tiempo de respuesta es inferior a 2 minutos. Durante la reacción enzimática, Amplex Red se oxida y se obtiene una zona coloreada rosa. La señal se mide con un teléfono inteligente comercial (utilizando la función de lectura RGB de la cámara), lo que hace que la metodología sea completamente portátil y accesible para cualquier usuario sin cualificación específica. Utilizando el smartphone y midiendo la coordenada de color G (verde), se puede determinar Him en presencia de otras aminas biógenas (putrescina y cadaverina) en concentraciones que van desde $1 \times 10^{-5} \text{M}$ hasta $1 \times 10^{-4} \text{M}$ con un límite de detección de $7,5 \times 10^{-6} \text{M}$ (LD). A pesar de la interferencia de Tiramina (Tim), se proporcionan condiciones experimentales que permiten la determinación simultánea (semi)cuantitativa, rápida y sencilla, de Him y Him/Tim en mezclas.

Este trabajo es parte del Proyecto PID2019-105408GB-I00/AEI/10.13039/501100011033 y de la financiación a grupos de investigación de la DGA-FEDER (E25_20R)

I.Y. O. Shulpekova, V. M. Nechaev, I. R. Popova, T. A. Deeva, A. T. Kopylov, K. A. Malsagova, A.L. Kaysheva, V.T. Ivashkin. Nutrients 13(9), (2021) 3207, 2. (EC. Commission Regulation (EU) No 1019/2013 of 23 October 2013 Amending Annex I to Regulation (EC) No 2073/2005 as Regards Histamine. Disponible on line: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2013/1019/oj>,

Jornada docente

Conferencias invitadas





ADAPTACIÓN DE LA ASIGNATURA QUÍMICA ANALÍTICA A LA ENSEÑANZA BASADA EN METODOLOGÍAS ACTIVAS EN LOS DISTINTOS GRADOS IMPARTIDOS EN LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO: FORTALEZAS Y DEBILIDADES.

Alberto Gómez Caballero

Departamento de Química Analítica, Facultad de Farmacia (UPV/EHU), Paseo de la Universidad 7, 01006 Vitoria-Gasteiz (Álava).

A lo largo de los últimos años, el equipo docente adscrito a la Sección Departamental de Química Analítica de la Facultad de Farmacia (Universidad del País Vasco, UPV/EHU) ha realizado una profunda reflexión de cara a adaptar las metodologías docentes de grado al modelo educativo propio de la UPV/EHU (1, 2). En este sentido, se ha trabajado en la innovación educativa a través del diseño e implementación de estrategias basadas en metodologías activas de enseñanza-aprendizaje para las asignaturas que se imparten en el Grado en Farmacia, el Grado en Ciencias Ambientales y el Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

En una primera fase, se llevó a cabo la adaptación de los contenidos teóricos de estas asignaturas a la metodología del Aprendizaje Basado en Problemas (ABP). La metodología docente de las distintas asignaturas fue rediseñada sobre la base de un problema estructurante, que incluye un escenario que abarca la totalidad de la materia. A partir de éste, surgen nuevos subproblemas que cubren objetivos más sencillos y cuyo abordaje es necesario para dar respuesta al problema principal. Cada uno de los subproblemas fue relacionado con uno o varios temas del programa docente y con un plan de actividades a desarrollar por el alumnado. En líneas generales, se percibe una clara dinamización del aula y una mayor motivación del alumnado. No obstante, su aplicación se encuentra limitada cuando el número de estudiantes es elevado y puede llegar a suponer una carga excesiva de trabajo para el profesorado, siendo necesario realizar ciertos reajustes en su implantación.

Con el propósito de interrelacionar la docencia magistral y las sesiones de prácticas de laboratorio, en una segunda fase, se han adaptado las prácticas de laboratorio a la estrategia de aprendizaje basado en la indagación (ABI). El alumnado, en las sesiones de prácticas de aula, diseña el desarrollo experimental para la resolución de uno o varios problemas analíticos concretos que posteriormente serán resueltos experimentalmente en las sesiones de laboratorio. En este contexto práctico, también se ha promovido la inserción curricular de la sostenibilidad mediante la inclusión de algunos de los ODS recogidos en la Agenda 2030.

Como consecuencia de este proceso, puede concluirse que la adaptación de la docencia de la Química Analítica a metodologías de enseñanza activas promueve que el alumnado adquiera conocimientos, competencias transversales, habilidades para la investigación, valores éticos y desarrolle el pensamiento crítico para su desarrollo profesional y social..

(1) Vicerrectorado de Calidad e Innovación Docente. Bases para el desarrollo curricular de las titulaciones oficiales de la UPV/EHU. [Internet]. 2010 [citado 5 de abril de 2022]. p. 4. Disponible en: https://www.ehu.es/documents/1870360/2175454/ikd_es.pdf/4a6b48ea-6198-41e8-96a9-5752d4cd2be2?t=1398683980000

(2) Dirección de Sostenibilidad y Compromiso Social de la UPV/EHU. Estrategia IKD i3 [Internet]. [citado 3 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.ehu.es/es/web/iraunkortasuna/ehuagenda-2030/ikd-i3-estrategia>



Herramientas didácticas para promover el aprendizaje activo y favorecer la interactividad y dinamización en el aula

Asier Vallejo Ruiz

Departamento de Química Analítica de la Facultad de Farmacia, UPV/EHU, Paseo de la Universidad 7, 01006, Vitoria-Gasteiz

Las nuevas Tecnologías de la Información y la Comunicación (TICs) relacionadas con el ámbito educativo es abrumadora. Estas tecnologías derivan en herramientas digitales (aplicaciones/herramientas/plataformas) que nos ayudan a desarrollar de forma más cómoda e ilustrativa el proceso de enseñanza-aprendizaje [1].

Sin embargo, dentro de toda la oferta, es difícil determinar cuál de ellas es la más apropiada para obtener cada uno de los objetivos que nos marcamos.

Es por ello, que es necesario conocer la utilidad, y sobre todo las ventajas y desventajas de ciertas aplicaciones, herramientas, plataformas o softwares que se usan para el proceso de enseñanza-aprendizaje en las universidades.

En el siguiente listado, se resumen varias de ellas:

- Edpuzzle/H5P: Herramienta para insertar preguntas (abiertas, elección múltiple) o notas en videos. Adecuadas para el desarrollo del aula invertida.
- Camtasia: Software permite la grabación audiovisual y edición de videos. Adecuado para generar material propio.
- Perusall: Plataforma para determinar si el alumnado ha leído y comprendido un texto.
- Padlet/miro: Permiten compartir material, comentarlos mediante post-it, calificarlos mediante estrellas... Aprendizaje cooperativo.
- Kahoot/Socrative: Herramientas para realizar preguntas en forma de juego. Evaluación y retroalimentación rápida y visual.
- Wooclap: Esta plataforma es adecuada para dinamizar las presentaciones.
- Symbaloo: Permite agrupar todas las herramientas TIC que vamos a utilizar y se pueden realizar juegos de gamificación.
- Canva/easelly: Herramientas de diseño on-line. Adecuadas para la presentación de material.
- Wikis o blog: Para compartir información o generar apuntes conjuntos. Aprendizaje cooperativo.
- Redes sociales: Para informar de actividades o novedades.

[1] Kobayashi. R., Technological Advances in Remote Collaborations. Topics in Current Chemistry 2021, 379:41. <https://doi.org/10.1007/s41061-021-00354-6>

Jornada docente

Taller





La química analítica en el móvil: ¡Oops, cuántas apps!

Noemí de los Santos Álvarez y Rebeca Miranda Castro, .

Universidad de Oviedo, Química, Química Física y Analítica, Av. Julián Clavería 8, 33004, Oviedo, santosnoemi@uniovi.es

Las aplicaciones interactivas para dinamizar las clases se vienen empleando desde hace ya muchos años en los niveles educativos inferiores a la Universidad. Esto explica que ya existan en el mercado muchas opciones que complican la elección a los no iniciados del mundo universitario que quieran empezar a implementar estas actividades en sus clases. El primer obstáculo es siempre la elección de la aplicación más apropiada. ¿Cuál es la mejor opción? Un primer cribado suele implicar eliminar las aplicaciones de pago pero aún así sigue habiendo muchas alternativas. Sin experiencia en su uso es difícil tomar una decisión y explorarlas consume demasiado tiempo. Todo ello puede conducir a desanimar al docente que finalmente las descarta.

En este taller vamos a practicar con algunas de ellas: desde el registro hasta la presentación de cuestionarios o encuestas interactivas. De esta forma podremos comparar sus características e identificar las ventajas y desventajas que presentan. Como se verá unas son más generosas que otras en cuanto a características gratuitas, otras son compatibles con diferentes entornos de trabajo (Google, Microsoft 365) o tienen interfaces más atractivas. Veremos también cómo obtener los resultados de cada encuesta/cuestionario con cada una de ellas. Al término del taller se tendrá una idea general de las distintas opciones y cuál de ellas puede ser más adecuada a los objetivos que persigamos: romper el ritmo de las clases expositivas para captar la atención de los estudiantes, conocer el grado de conocimientos previos o de seguimiento de la clase o ludificación de evaluaciones.

Jornada docente

Presentaciones orales





La clase inversa (presencial o virtual) como estrategia de enseñanza-aprendizaje en asignaturas de Química Analítica

Xavier Subirats, José Manuel Díaz-Cruz, Clara Pérez-Ràfols, Eliana Ramírez, Núria Serrano.

Universidad de Barcelona, Facultad de Química, Departamento de Ingeniería Química y Química Analítica, C/ Martí i Franquès 1-11, 08028, Barcelona, xavier.subirats@ub.edu

Uno de los retos más importantes en el contexto del Espacio Europeo de Educación Superior (EEES) se basa en pensar, diseñar, practicar y reflexionar sobre una enseñanza centrada en entender los procesos de aprendizaje de los estudiantes. Así, el EEES impulsa un cambio importante en las metodologías docentes de las universidades, centrándose en el proceso de aprendizaje del estudiante y en sus resultados, medidos mediante el grado de consecución de competencias. Por otro lado, es bien sabida la importancia de la participación activa del estudiante en los procesos de aprendizaje. Sin embargo, fomentar la participación del alumnado en clase puede ser realmente complicado en grupos numerosos (> 60 alumnos), especialmente en asignaturas de formación básica y obligatoria que se cursan en los primeros semestres de los grados universitarios. Así pues, es necesario desarrollar estrategias de aprendizaje innovadoras que fomenten la participación del alumnado, que pongan a prueba sus conocimientos previos, que permitan una autoevaluación de las competencias adquiridas y que cuenten con la retroacción de los docentes para encontrar las respuestas adecuadas.

En este sentido, la introducción en las enseñanzas universitarias de la flipped classroom o clase inversa, donde se invierte la secuencia clásica de acciones constituida por enseñanza, estudio y evaluación, por la secuencia estudio, evaluación y enseñanza, es un buen punto de partida que permite avanzar hacia un aprendizaje centrado en el protagonismo del alumno, en su autonomía y en su autorregulación. Así pues, con este enfoque, el docente pasa de ser un simple transmisor de conocimientos para convertirse en orientador, mediador y supervisor de las tareas de estudio y aprendizaje de los estudiantes.

Así, este trabajo muestra el desarrollo e implementación de diferentes estrategias de clase inversa en la asignatura de Química Analítica de los Grados de Química, Farmacia e Ingeniería Química de la Universidad de Barcelona, en modalidad presencial o virtual, para garantizar la adquisición de las competencias de la asignatura, fomentar la motivación y participación en clase del estudiante, además de facilitar una retroacción activa, ágil y constante, en definitiva, mejorar su proceso de aprendizaje.

J.L. Medina (2016). La docencia universitaria mediante el enfoque del aula invertida. Ediciones Octaedro, Barcelona., J.M. Díaz-Cruz, E. Ramírez, N. Serrano, X. Subirats. *Actualidad Analítica* 71 (2020) 7-10., J.M. Díaz-Cruz, C. Pérez-Ràfols, E. Ramírez, N. Serrano, X. Subirats. *Actualidad Analítica* 75 (2021) 6-10.



Enseñanza online de la Química Analítica: nuevas oportunidades tras el confinamiento por COVID-19

Josu Lopez-Gazpio, Iñigo Lopez-Gazpio.

Udako Euskal Unibertsitatea (UEU), Goimailako Online Institutua (GOI), Kimika Saila, Markeskoa Jauregia, Otaola Hiribidea 1, 20600, Eibar, j.lopez-gazpio@ueu.eus

Con la llegada del confinamiento provocado por el COVID-19, se debió adaptar rápidamente el proceso de enseñanza-aprendizaje hacia métodos que, si bien no eran novedosos metodológicamente, nunca antes se habían implementado de forma masiva. Con mayor o menor acierto debido a la falta de formación y medios, la enseñanza de la Química también se adaptó al entorno virtual y una de las mayores dificultades fue, sin lugar a dudas, la adaptación de las asignaturas instrumentales.

Diversos autores alertan de que los métodos implementados durante el confinamiento no responden a la definición de educación online, sino a la de educación remota de emergencia. A pesar de ello, las experiencias docentes puestas en marcha durante este periodo suponen un excelente campo de pruebas sobre la educación online aplicada a la Química. El análisis pausado de las metodologías implementadas, así como la revisión bibliográfica de multitud de herramientas publicadas anteriormente (simuladores de cromatografía, uso de videotutoriales, etc.), permite plantearse las interesantes oportunidades que ofrece la educación online en el campo de la Química Analítica y especialmente de la Química Analítica Instrumental.

Los laboratorios virtuales, por ejemplo, ofrecen nuevas oportunidades en la enseñanza de la Química. Diversos autores remarcan cómo en la enseñanza de la práctica experimental el tamaño de la clase, los recursos disponibles y los tiempos de ejecución establecen límites prácticos en la cantidad de experimentos que se pueden realizar. La realización de prácticas instrumentales suele ser costosa en términos de tiempo, dinero y energía, ya que requiere la puesta a punto de unas infraestructuras docentes normalmente caras que son costosas de mantener. Frente a esas desventajas, el uso de herramientas online, como los laboratorios virtuales, ofrece otra visión de la realidad que puede ser muy positiva para la enseñanza presencial tradicional. A pesar de que la situación generada por el confinamiento relativo al coronavirus obligó a una adaptación abrupta a nuevas modalidades, la realidad es que la enseñanza online ofrece grandes oportunidades que vienen para quedarse.

Este trabajo pretende recopilar algunas de las experiencias implementadas durante el confinamiento en el campo de la Química Analítica, pero sobre todo pretende hacer reflexionar sobre el uso de las herramientas online para la enseñanza de dicha materia de forma híbrida, especialmente en el campo de las prácticas instrumentales. Sin duda, la educación online ofrece interesantes oportunidades de futuro en los planes de estudios presenciales tradicionales que deben tenerse en cuenta.

D.C. Stone, J. Chem. Ed. 84(9) (2007) 1488-1496., E. Rodríguez-Rodríguez, M. Sánchez-Paniagua, J. Sanz-Landaluze, M. Moreno-Guzmán, J. Chem. Ed. 97(9) (2020) 2556-2564., R. M. Valle-Suárez, G. L. Calderón-Mendoza, N. A. Lanza-Sorto, H. D. Ponce-Rodríguez, J. Chem. Ed. 97(9) (2020) 2723-2726.



Aprendizaje basado en el estudio de casos en la asignatura experimental Laboratorio de Química Analítica para la mejora de competencias profesionalizadoras.

Oscar Núñez, Anna Rigol, Miquel Vidal

Universidad de Barcelona, Facultad de Química, Departamento de Ingeniería Química y Química Analítica, Martí i Franques 1-11, 08028 Barcelona, oscar.nunez@ub.edu

En los últimos años y debido a un cambio de paradigma en la enseñanza universitaria, surge la necesidad de implementar metodologías docentes más centradas en la adquisición de competencias por parte del alumnado que en la mera transmisión de conocimientos. Estas metodologías deben, además, permitir el desarrollo/adquisición de competencias y resultados de aprendizaje profesionalizadores, tales como la capacidad de análisis, el pensamiento crítico, el trabajo colaborativo, la interpretación de datos y de información, la planificación y la gestión eficaz del tiempo, la toma de decisiones, afrontar problemas nuevos y abiertos, aplicar correctamente los conocimientos adquiridos y comunicar resultados de forma oral y escrita, cada vez más reclamadas por los empleadores.

El estudio de casos es una metodología que plantea problemas reales o casi reales, los casos, que, mediante su resolución, permiten un aprendizaje activo y colaborativo por parte de los estudiantes con una cierta interacción con el profesorado, la cual es muy importante en las etapas de planificación para la resolución del caso. Los casos que se plantean no tienen una resolución única, lo cual permite un debate final muy enriquecedor entre alumnado y profesorado.

En este trabajo, se ha utilizado el estudio de casos en la asignatura experimental Laboratorio de Química Analítica durante cuatro cursos (de 2018-19 a 2021-22), asignatura de 6 ECTS inicialmente prevista en el 6º semestre del plan de estudios del grado de Química. Los casos se han trabajado en grupos de alrededor de 6 estudiantes a lo largo de toda la asignatura, y se han centrado en el análisis de una muestra de agua (para garantizar su potabilidad), un residuo sólido potencialmente contaminado (para categorizar su uso final), y un pienso (para determinar parámetros nutricionales). La información proporcionada a los estudiantes es mínima (posibles compuestos que pueden o no estar presentes y principales parámetros candidatos a ser determinados), y estos han de decidir la metodología a aplicar para dar una respuesta al caso en función del marco normativo, las técnicas instrumentales a utilizar (ópticas, electroanalíticas y cromatográficas), planificando quién, cómo y cuándo se llevarán a cabo las determinaciones. El estudio de caso finaliza con un informe escrito y una presentación oral, en la que se ponen en común las distintas resoluciones de los casos. Se han establecido rúbricas de evaluación tanto de la actuación individual de los estudiantes durante la resolución del caso, como de la presentación oral y del informe escrito final. La utilización del estudio de casos se ha evaluado también con indicadores cualitativos basados en encuestas anónimas de opinión de los estudiantes, los cuales destacan muy positivamente el grado de mejora en la adquisición de competencias blandas y la adecuación de los casos planteados. También opinan que la resolución de casos debería adquirir un mayor peso en sus estudios para poder alcanzar, como futuros profesionales, un mayor grado de autonomía en la toma de decisiones y una mejor destreza en la resolución de casos que se aproximan a situaciones reales.

M.A. Andreu, J.A. González, M.J. Labrador, I. Quintanilla, T. Ruiz (2004). Método del caso. Ficha descriptiva y de necesidades. Universidad Politécnica de Valencia – Grupo Metodologías Activas (GIMA-UPV).



"La enseñanza de la Química (Analítica) en el Grado de Criminalística: Ciencias y Tecnologías Forenses"

Alberto Escarpa, Alberto Escarpa Miguel, Antonio Crego Navazo, María Castro-Puyana, M^a Ángeles García González, Concepción García López, María José Gil-García, Merichel Plaza del Moral, Blanca Ruiz Zapata, María Paz San Andrés Lledó, Soledad Vera-López.

Universidad de Alcalá, Ciencias, Departamento de Química Analítica, Química Física e Ingeniería Química, Departamento de Química Analítica, Química Física e Ingeniería Química. Edificio Polivalente. Facultad de Ciencias. Universidad de Alcalá. Ctra. Madrid-Barcelona km. 33,600, 28801, Alcalá de Henares, alberto.escarpa@uah.es

La Universidad de Alcalá es la única Universidad de España donde se imparte el "Grado de Criminalística: Ciencias y Tecnologías Forenses". La naturaleza académica del Grado se configura en tres conjuntos formativos que se intensifican a lo largo del currículo: científico, tecnológico y otro en el ámbito del derecho. En referencia explícita a la formación científica dentro del currículo del estudiante que cursa este Grado, la Química Analítica ocupa una posición central y un papel determinante en la adquisición de los contenidos y de las competencias científicas que el estudiante ha de adquirir, constituyendo sino la totalidad, prácticamente todos los contenidos teóricos y prácticos de la Química del Grado. Como consecuencia de ello, el área de Química Analítica imparte todas las asignaturas de Química de la titulación debido a que prácticamente toda la formación química requerida para estos egresados es Química Analítica. En efecto, tras impartir una asignatura de "Química" (general) (6ECTS) y otra de "Química Forense" (6ECTS) ambas en primer curso, se imparte el "Análisis Instrumental Forense" (en colaboración con el "Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses") (6ECTS) en segundo y el "Laboratorio de Química Forense" (6ECTS) en tercero. Además de los "Trabajos de Fin de Grado" (12 ECTS) preceptivos que pueden combinarse con una asignatura optativa denominada "Práctica en laboratorio" (6ECTS), el Área de Química Analítica oferta dos asignaturas optativas: "Micro y nanotecnologías forenses" y "Retos de Química Analítica en ciencias forenses", ambas también de 6ECTS, configurándose de esta manera el cuarto curso.

Esta idiosincrasia académica, hace que, en este Grado de nota de corte elevada, el estudiantado proceda de todos los puntos de la geografía nacional, probablemente atraído por una inmensa literatura y filmografía existente en el ámbito policial y forense, con una elevada calificación del Bachillerato, pero a su vez con una formación en Química heterogénea; pero, sobre todo, con intereses profesionales muy diferentes, muchos de ellos sin vocación científica.

En esta comunicación, se presentan los desafíos identificados en el proceso de enseñanza-aprendizaje de la Química (Analítica) en el "Grado de Criminalística: Ciencias y Tecnologías Forenses", una propuesta (reversible) de desarrollo curricular y, si cabe más importante, una reflexión sobre el fomento y vigilancia de la vocación científica de estos estudiantes a la luz de la responsabilidad académica que el Área de Química Analítica de la Universidad de Alcalá tiene en la formación de estos futuros egresados procedentes de una titulación de reciente creación y que aún no se han incorporado al mercado laboral.



Aprendizaje basado en fenómenos para la adquisición de competencias experimentales

Soledad Cárdenas Aranzana, Francisco A. Casado Carmona.

Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias, Química Analítica, Edificio Marie Curie (anexo).
Campus de Rabanales, 14071, Córdoba, scardenas@uco.es

El aumento de la digitalización de contenidos, unido a la situación excepcional vivida con la pandemia de la COVID-19, ha requerido una adaptación de la impartición de la docencia. En esas circunstancias en las que la docencia presencial se vio afectada en su totalidad, la necesidad de los docentes para hacer que el alumnado adquiriera los conocimientos, habilidades y competencias necesarias para enfrentarse a problemas complejos en sus respectivos cambios, se acrecentaron. La impartición de la docencia virtual requiere el uso de las Tecnologías de la Información. Tanto la docencia en grupo grande (clases de teoría) como en grupos reducidos (seminarios y prácticas de laboratorio) puede adaptarse a este formato. En el caso concreto de las prácticas de laboratorio esta adaptación a la impartición virtual no sólo tiene importancia en el caso de la pandemia, sino también para facilitar el aprendizaje al estudiantado que no pueda acudir al laboratorio y quiera adquirir dichos conocimientos, así como en los que el alumno quiera tener un conocimiento previo de la práctica.

En esta comunicación se presenta una metodología basada en el modelo de “aprendizaje basado en fenómenos” para la adquisición de las competencias experimentales. Para ello, se propone la virtualización de las prácticas de laboratorio de tal modo que el alumno no sólo disponga del guion de prácticas, sino también de un vídeo explicativo de la realización de la práctica. De ese modo se puede realizar un seguimiento de la práctica, y adquirir los conocimientos necesarios para la resolución del problema en cuestión. Además, se puede evaluar la adquisición de los contenidos mediante la realización de un cuestionario antes y después de la misma. El uso de este material audiovisual se puede utilizar también en la realización de las prácticas presenciales, lo que permite una mejora sustancial en el aprovechamiento de las clases prácticas reales.



ODS Y QUÍMICA ANALÍTICA: EL PAPEL DE LA DIVULGACIÓN CIENTÍFICA COMO HERRAMIENTA PARA CONCIENCIAR SOBRE EL DESARROLLO SOSTENIBLE

Emma Gracia-Lor, Esther Gómez-Mejía, Beatriz Gómez-Gómez, Gustavo Moreno-Martín, David Vicente-Zurdo, Riansares Muñoz-Olivas, Álvaro Lorente-Arévalo, Iván Sacristán-Navarro, Miriam Blanco-Asenjo, Elena Espada-Bernabé, Tamara Fernández-Bautista, Cristina Muñoz-San Martín, Paloma de Oro-Carretero, María Teresa Pérez-Corona, Iván Romero-Sánchez, Emilio Gómez-Castro

Universidad de Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Avenida Complutense s/n, 28040 Madrid, emgracia@ucm.es

La colaboración entre las universidades y los centros educativos se ha planteado como una necesidad esencial y beneficiosa para el desarrollo de la sociedad y para la búsqueda conjunta de soluciones a las problemáticas actuales. La divulgación científica juega un papel fundamental a la hora de comunicar dichas problemáticas, fomentando la concienciación y promoviendo la reflexión colectiva. El trabajo presentado describe un proyecto de innovación educativa y de aprendizaje-servicio enfocado a acercar la Química Analítica a la sociedad, comenzando por los estudiantes de ESO y Bachillerato. Su finalidad es fomentar y despertar el interés de los estudiantes por la ciencia y, más concretamente, ampliar su conocimiento y concienciación sobre los retos globales del desarrollo sostenible. En este marco, profesores y alumnos de doctorado y máster de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid han llevado a cabo actividades de divulgación científica en diferentes centros educativos no universitarios de la Comunidad de Madrid durante los cursos 2020-2021 y 2021-2022. Los temas tratados se encuadran dentro de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la Agenda 2030, como son la seguridad alimentaria, la producción sostenible de sustancias químicas y la gestión y uso de sustancias químicas potencialmente peligrosas y contaminantes, abordados a través de la Química Analítica.

Las actividades realizadas se han apoyado en la presentación de dichos temas mediante charlas divulgativas, debates y cuestionarios realizados con las plataformas Kahoot y Socrative. En el curso 2020-2021 participaron unos 500 alumnos de 4 centros educativos, mientras que en el curso 2021-2022 participaron unos 150 alumnos de 6 centros educativos. Al finalizar las actividades se realizó una encuesta de satisfacción basada en la escala Likert a través de la plataforma Google Forms, fomentando así el uso de TIC. Los resultados obtenidos fueron sometidos a una evaluación estadística, mostrando que un elevado porcentaje de los encuestados (más del 90%) estaba de acuerdo o totalmente de acuerdo con la utilidad de las charlas recibidas para aprender nuevos conceptos, tomar conciencia sobre problemáticas actuales y comprender el papel de la ciencia, y más concretamente de la Química Analítica, en la sociedad actual.

Agradecimientos:

- Proyecto de Innovación Educativa UCM, 2020-2021 (Ref 283)
- Proyecto de Innovación Educativa UCM, 2021-2022 (Ref 202)
- Proyecto Aprendizaje Servicio UCM, 2020-2021
- Proyecto Aprendizaje Servicio UCM, 2021-2022
- Asociación de Químicos e Ingenieros Químicos de Madrid; Colegio Oficial de Químicos de Madrid y ANAYA

Jornada docente

Posters





LOS RECURSOS AUDIOVISUALES COMO HERRAMIENTA DE REFUERZO EN LA DOCENCIA DE LAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO

Lucía Abad-Gil, Beatriz Gómez-Nieto, M. Teresa Sevilla.

Universidad Autónoma de Madrid, Facultad de ciencias, Departamento de Química Analítica y Análisis Instrumental, Avda. Francisco Tomás y Valiente 7, 28049, Madrid, lucia.abad@uam.es

Los recursos educativos digitales (RED) se han convertido en herramientas fundamentales para transmitir conocimiento, aumentar la motivación, fomentar la interacción de los estudiantes y el aprendizaje significativo, ya que los contenidos se muestran de una manera más atractiva y novedosa [1]. La implementación de estos RED en las metodologías de enseñanza-aprendizaje incluye la creación de los mismos y su utilización en el aula. El diseño de los RED es un proceso complejo ya que deben tener en cuenta tanto el papel de los estudiantes como el del docente en el proceso de enseñanza-aprendizaje.

La Química Analítica y más concretamente las asignaturas relacionadas con el Análisis Instrumental están incluidas en diferentes Grados de la rama de Ciencias. Es el caso de la asignatura Técnicas Instrumentales en el Medio Ambiente que se imparte en segundo curso del Grado de Ciencias Ambientales y del Doble Grado de Ciencias Ambientales y Geografía y Ordenación del Territorio de la Universidad Autónoma de Madrid. En esta asignatura se llevan a cabo diferentes actividades formativas entre las que se encuentran las clases prácticas de laboratorio. El diseño de actividades de esta asignatura se ve limitado por el elevado número de estudiantes que la cursan, la falta de conocimientos previos en materias afines y la baja motivación. La elevada matrícula afecta a la capacidad del profesorado para prestar una atención personalizada al alumnado y tiene especial incidencia en la programación y desarrollo de las prácticas de laboratorio. Analizadas las circunstancias de docencia de la asignatura, el objetivo de este proyecto es elaborar nuevos materiales audiovisuales que sirvan como herramienta de apoyo explicativo en las prácticas de laboratorio. La creación de estos nuevos recursos pretende facilitar la comprensión de los conceptos claves, potenciar la motivación del estudiantado y acercarle a la experiencia del laboratorio.

Para alcanzar el objetivo del proyecto se diseñaron y crearon un total de 9 video-lecciones empleando el software OpenShot y un cuestionario relacionado con cada una de ellas utilizando la plataforma Moodle. Para conocer la opinión de los estudiantes sobre estos nuevos recursos se creó una encuesta en Microsoft Forms. Tras la implementación del material audiovisual se observó que la estrategia utilizada favorecía la adquisición de conocimientos, convirtiéndose en material complementario para la preparación no solo de las prácticas, sino también de los informes y del examen de la asignatura.

[1] H. Uzunboyly, D. Karagözlü. Revista de Educación a distancia. 54. (2017), ,



¿Y SI LOS ALUMNOS PUSIERAN LOS EXÁMENES?

José Manuel Andrade Garda, María del Carmen Prieto Blanco.

Universidade da Coruña, Ciencias, Química (Area de Química Analítica), Campus da Zapateira, s/n., 15071, A Coruña, andrade@udc.es

Los sistemas de evaluación continua previenen que los discentes afronten un único reto de evaluación. Esto es coherente con los principios del EEES pero no evitan que, frecuentemente, buena parte de la calificación final dependa de una prueba objetiva en la que el alumnado debe demostrar su nivel de aprendizaje/asimilación personal y sin apoyos exteriores. Cuando se habla con los alumnos de los resultados de esas pruebas predomina la opinión de que “poner un examen” es muy fácil, lo que contrasta claramente con la percepción del profesorado.

Para mostrarles que esa opinión no es totalmente correcta, en la asignatura Química Analítica Instrumental 2 se les planteó una actividad obligatoria (por tanto, evaluable) en la cual debían entregar dos cuestiones relacionadas con cada uno de los bloques temáticos principales (electroanálisis y cromatografía). Podrían ser de tipo test (una sola opción correcta de entre varias), de respuesta breve (tres o cuatro líneas para redactar la respuesta), o verdadero/falso (justificando la respuesta, brevemente). La condición es que debían ser viables para incluir en un examen real.

La evaluación de la actividad estaba basada en: “calidad” de la pregunta para posible uso en un examen, redacción (claridad y concreción) y veracidad de la respuesta (que también debían aportar). Algunas cuestiones eran triviales aunque la mayoría estaban bien orientadas, pero un número elevado necesitaban correcciones o reformulaciones.

Muchos alumnos reconocieron que no les había resultado sencillo plantearlas y algunos comentarios recibidos en la revisión por los profesores fueron: “pregunta ambigua”, “dificultad alta (bien por la particularidad de la cuestión bien por la redacción), errores en las respuestas asociadas (pregunta y respuesta no correspondían).

Finalmente, como se había acordado con los alumnos a modo de acicate, algunas de sus propuestas -convenientemente revisadas y/o adaptadas- fueron usadas para exámenes de la asignatura.

Una de las ventajas de esta actividad es que los alumnos reflexionan sobre los resultados del aprendizaje, sobre aquellos conocimientos y competencias más importantes que tienen que adquirir en la materia. En nuestra opinión, el principal problema asociado a esta actividad es que la entrega se fijó para unos días antes del examen (porque suponíamos que hasta entonces no habrían estudiado con suficiente extensión). Por lo que creemos que faltó tiempo para una discusión más amplia. La pregunta que se nos plantea ahora es si con ese tiempo extra podrían llegar a formular ellos mismos un examen que el profesor considerase “válido”.

..



Acercar el laboratorio al aula y el aula al laboratorio para la mejora de los aprendizajes y las competencias

Fernando Benavente, Susana Amézqueta, Elisabet Fuguet, Jacinto Guiteras, José Fermín López, Anna Rigol.

Universitat de Barcelona, Química, Departamento de Ingeniería Química y Química Analítica, C/Martí i Franquès 1-11, 3ª Planta, 08028, Barcelona, fbenavente@ub.edu

Las asignaturas “Química Analítica” (QA, 6 ECTS, 3er semestre) y “Laboratorio Básico de Química Analítica” (LBQA, 4,5 ECTS, 4º semestre) del Grado de Química de la Universidad de Barcelona están muy relacionadas entre sí. En QA, de carácter teórico, se estudian los equilibrios en disolución y sus aplicaciones volumétricas más importantes. En LBQA, totalmente experimental, se realizan determinaciones volumétricas relacionadas con los conceptos teóricos estudiados en QA. Sin embargo, al no cursarse simultáneamente, muchos estudiantes presentan dificultades para relacionar la parte teórica con las aplicaciones prácticas o entienden las prácticas como recetas desvinculadas de la teoría que hay detrás de los procedimientos.

En este proyecto se desarrollaron actividades específicas para incidir en la problemática detectada. En QA se preparó una actividad basada en la valoración de una mezcla de ácidos. Después de un seminario demostrativo en el laboratorio, los estudiantes, distribuidos en grupos de 2 ó 3 miembros, debían contestar una serie de preguntas relacionadas con la demostración durante las siguientes semanas de clases teóricas. Las preguntas se ordenaron en 4 categorías para trabajar diferentes aspectos a medida que se avanzaba con los contenidos teóricos, haciendo hincapié en la serie de experimentos realizados en el seminario demostrativo.

En LBQA se preparó una actividad basada en una valoración potenciométrica ácido-base de una muestra problema de dos componentes. Los estudiantes debían realizar una valoración de la muestra primero con ácido y luego con base, y a partir de una serie de posibles candidatos y de las curvas obtenidas experimentalmente, proponer razonadamente los constituyentes de la mezcla y determinar sus concentraciones. Para confirmar su propuesta, debían también simular la curva de valoración de la mezcla propuesta con el software gratuito en entorno Microsoft Excel™ CurTiPot [1], y compararla con la curva de valoración experimental.

Las calificaciones obtenidas por los estudiantes en las actividades fueron elevadas y la aceptación muy positiva, aunque las evidencias recopiladas durante el examen final no fueron suficientes para concluir que las actividades propuestas permitieron mejorar el aprendizaje y las competencias de los estudiantes. Sin embargo, en su valoración a través de encuestas, los estudiantes destacaron especialmente que estas actividades fueron muy motivadoras y que les ayudaron a relacionar mejor ambas asignaturas, así como a integrar conceptos.

[1] Gutz, I. G. R., CurTiPot - pH and Acid-Base Titration Curves: Analysis and Simulation software, version 4.3.1 (http://www.iq.usp.br/gutz/Curtipot_.html, consultada en Abril 2022), ,



BYOD como herramienta de gamificación para mejorar el aprendizaje de una asignatura experimental en Grado de Química

José Bernal del Nozal, Ana María Ares Sacristán, Laura Toribio Recio, Adrián de la Fuente Ballesteros.

Universidad de Valladolid, Facultad de Ciencias, Química Analítica, Paseo de Belén 7, 47011, Valladolid, jose.bernal@uva.es

La interactividad durante las clases es un complemento importante que fomenta el compromiso e implicación de los estudiantes, lo que permite mejorar la experiencia de aprendizaje. En los últimos años, la inclusión de dispositivos móviles, donde se pueden utilizar diversas herramientas de gamificación, en la metodología docente universitaria ha permitido mejorar esta interactividad. En particular, la inclusión de dispositivos móviles en el aula tiene utilidad tanto para realizar un seguimiento del método de enseñanza-aprendizaje como para aumentar la motivación y participación de los estudiantes. El presente estudio examina el uso de Bring Your Own Device (BYOD; trae tu propio dispositivo) empleando la herramienta de gamificación Kahoot! para explorar posibles beneficios en el aprendizaje y evaluación continua de una asignatura experimental del área de Química Analítica (Química Experimental I) en el Grado de Química de la Universidad de Valladolid. Se utilizó una metodología analítica empírica en tres diferentes grupos de estudiantes: uno en el que la aplicación Kahoot! se utilizó diariamente en las prácticas de laboratorio y los otros dos en las que no se empleó durante las clases y antes de la evaluación final. La diferencia entre estos dos últimos grupos es que sólo uno sabía de la existencia del examen parcial al final de la sesión de laboratorio. El objetivo era estudiar los beneficios potenciales asociados con el uso de esta herramienta y medir el grado de desarrollo del conocimiento de los estudiantes. Los resultados académicos han demostrado que el uso de BYOD ha tenido efectos positivos generales en los resultados académicos, mejorando el aprendizaje y las calificaciones de los estudiantes, siendo más frecuente entre los estudiantes que habían logrado una mejor puntuación en los cuestionarios Kahoot!.

Agradecimientos

Los autores agradecen la financiación recibida a la Universidad de Valladolid (Área de Formación e Innovación Docente; Proyecto Nº11).



El “arte” de evaluar: reflexión acerca de los diferentes sistemas de evaluación y su aplicación en Química Analítica

Alegría Carrasco-Pancorbo, Lucía Olmo-García, Romina Monasterio, Irene Serrano-García, Patricia Reboredo-Rodríguez, María Figueiredo-González, Alegría Carrasco-Pancorbo.

Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Química Analítica, Ave. Fuentenueva s/n, 18071, Granada, alegríac@ugr.es

Cuando se habla de evaluación entendemos a la misma como una actividad que se realiza para determinar el mérito o valor de algo. En educación específicamente la evaluación es un procedimiento fundamental, ya que permite observar los resultados del aprendizaje del estudiante, es decir, el grado en que se han alcanzado los objetivos formativos propios de la materia [1]. Actualmente la educación se basa en el desarrollo de competencias de diferente naturaleza: conocimientos, habilidades y destrezas, actitudes y valores. Esto ha conducido a una revisión del clásico sistema enseñanza-aprendizaje; sin embargo, la evaluación sigue siendo la herramienta que permite valorar el nivel de logro de todas esas competencias, tanto transversales como específicas. El alineamiento de la evaluación con las competencias hace que lo más recomendable sea el uso combinado de diferentes estrategias y procedimientos [2].

Cuando evaluamos, nuestra misión es cuantificar la relación entre los objetivos iniciales y los resultados alcanzados. En este sentido, el profesor debe asegurarse de que se realicen actividades evaluativas formativas y continuas, tratando de evitar las actividades evaluativas de tipo sumativo y final. Además, la evaluación debería no ser propiedad única del profesor, es importante que se propicie la autoevaluación y la evaluación por pares, favoreciendo de este modo un papel activo del alumno [3]. Existe una amplia variedad de formatos evaluativos y todos ellos podrían ser apropiados dependiendo del contexto y del propósito en particular.

Así, en la presente comunicación, hemos reflexionado acerca de los sistemas de evaluación, aportando una visión general de los principales procedimientos y técnicas de evaluación que podrían ser seleccionados por parte de un profesor de acuerdo a sus necesidades. Comentaremos nuestras experiencias seleccionando algún ejemplo concreto en la enseñanza de materias del área de conocimiento de la Química Analítica. Mostraremos cómo se han aplicado diferentes sistemas de evaluación, la forma de combinar diferentes tipos de evaluación y cómo los mismos son percibidos por el alumnado. Debates recurrentes en este contexto son: ¿es justo el sistema de evaluación?; ¿cómo impacta el mismo en el estudiante y también en el profesor?. Nos preguntaremos, además, si existe un método de evaluación “ideal”, y si es así, si lo es tanto para estudiantes como profesores.

Si bien creemos que no existe el sistema de evaluación perfecto (ya que todos llevan consigo cierta subjetividad), aplicar lo que se conoce como “mezclaje evaluativo” puede ser de gran ayuda.

[1] Amparo Fernández March. (2005) Taller sobre el proceso de aprendizaje-enseñanza de competencia. Materiales de trabajo. Instituto de Ciencias de la Educación. Universidad Politécnica de Valencia., [2] M. de Miguel (coord). Metodologías de enseñanza y aprendizaje para el desarrollo de competencias. Orientaciones para el profesorado universitario ante el EEES, Madrid, Alianza Editorial, 2006., [3] What the best college teachers do. K. Bain. Cambridge, Massachusetts, Harvard University Press, 2004. [4] Super Courses: The Future of Teaching and Learning. K. Bain. New Jersey, United States, Princeton University Press, 2021



RECURSOS DIDÁCTICOS EN LA ENSEÑANZA-APRENDIZAJE EN MODO SEMI-PRESENCIAL

Antonia María Carro Díaz, .

Santiago de Compostela, Química, Química Analítica, Nutrición y Bromatología, AVDA. DAS CIENCIAS, S/N, 15782, SANTIAGO COMPOSTELA (A CORUÑA), tuchi.carro@usc.es

En el curso 2020-21 se ha realizado un nuevo planteamiento metodológico de la asignatura Técnicas Analíticas de primer curso del Grado en Farmacia de la USC, con objeto de potenciar la autonomía del estudiante en su proceso de aprendizaje. Se ha reformulado la organización y desarrollo de las clases expositivas e interactivas combinando modalidades virtuales online a través de la plataforma Microsoft Teams (clases expositivas con realización de diversas tareas entregadas a través del Aula Virtual de la USC en la plataforma Moodle), presenciales (seminarios y tutorías) y entorno bimodal (prácticas de laboratorio).

El reto en las sesiones prácticas supuso la adaptación del tiempo y espacio disponible, así como la reducción del número de alumnos en el grupo de trabajo a los requerimientos sanitarios exigidos por la Covid-19. Se buscaba optimizar el aprovechamiento del modo presencial en el laboratorio con el aprendizaje autónomo supervisado utilizando técnicas de "Flipped learning".

En primer lugar, se crearon conjuntos de participantes (grupos y agrupamientos) a través del Aula Virtual que facilitasen la creación de itinerarios de aprendizaje y una docencia y gestión más flexible y personalizada.

Antes de la entrada en el laboratorio, los estudiantes fueron guiados a través de recursos TIC como:

- Sesiones virtuales online con presentaciones de las practicas explicadas por el profesor (Plataforma Microsoft Teams)
- Material asíncrono (vídeos didácticos y manual de prácticas detallado) disponible en el Aula Virtual (Plataforma Moodle)

En el laboratorio trabajaron individualmente grupos de diez estudiantes manteniendo la distancia de seguridad exigida en sesiones de 4 horas. De esta forma pudieron recibir un apoyo y supervisión personalizados por parte del profesor.

Tras el paso por el laboratorio, los estudiantes trabajaron de forma autónoma completando un informe con los resultados obtenidos en cada práctica y las cuestiones formuladas sobre las mismas. La entrega de esta tarea se realiza a través del Aula Virtual (Plataforma Moodle) en un plazo determinado. De este modo el trabajo personal del estudiante es evaluado y recibe los comentarios del profesor. Con ello se consigue el ahorro de papel de las entregas convencionales, se simplifica y estandariza la recepción y evaluación de los trabajos, en contraposición al uso del correo electrónico.

Los diferentes recursos didácticos y la metodología utilizada han permitido flexibilizar la enseñanza, optimizar el autoaprendizaje, fortalecer las habilidades digitales y mejorar la asimilación de los conceptos en el estudio en tiempos de pandemia.

. Hwee Ling Koh, N. Scott, A. Lucas, M. Kataoka, S. MacDonel, NZ J Educ Stud (2021). <https://doi.org/10.1007/s40841-021-00234-z>, ,



Otros contenidos para la docencia de la Química Analítica: Evolución de la Química Analítica a través de las propiedades de los dispositivos y metodologías analíticas

Estefanía Costa-Rama, Pablo Rioboó-Legaspi, Estefanía Costa-Rama, María Teresa Fernández-Abedul.

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica, Av. Julián Clavería 8, 33006, Oviedo, costaestefania@uniovi.es

La Química Analítica es una disciplina dinámica que incorpora continuamente nuevos conocimientos y herramientas para la mejora del proceso analítico. En la actual era de la información, la Química Analítica, ciencia que provee información, es clave. Disminuir el carácter invasivo de la toma de muestra, facilitar el diagnóstico temprano/rápido de enfermedades, u obtener información en localizaciones extrahospitalarias, son cuestiones en auge en el campo clínico. En el campo alimentario, los análisis en diferentes puntos de la cadena de producción de alimentos que permitan, por ejemplo, determinar la madurez de una fruta en el árbol o la presencia de gluten en un alimento, son de gran trascendencia. En el análisis medioambiental cada vez se requiere mayor número de datos, y preferentemente en tiempo real, para elaborar mapas espacio/temporales de contaminantes. Otros ejemplos de grandes retos son la inclusión de sensores en dispositivos que permitan sustituir la experimentación animal o el desarrollo de sensores realmente "llevables".

Esta evolución de la Química Analítica hace que surjan dos grandes tendencias, una relacionada con el avance tecnológico de grandes equipos de laboratorios centralizados y, otra centrada en el desarrollo de dispositivos para análisis descentralizado. Esto queda patente en los artículos científicos de los últimos años, donde han aparecido nuevos adjetivos para los dispositivos y metodologías analíticas que responden a las propiedades que actualmente requerimos. Además de las características analíticas indiscutibles (representatividad, exactitud y precisión, sensibilidad y selectividad), aparecen otras muy relevantes: hay propiedades reduccionistas, otras relacionadas con los materiales usados, otras con sus características mecánicas o funcionales, etc. Así un dispositivo puede ser portable, wearable, implantable, pero también foldable o stretchable y en cualquier caso, disponible o reusable. Además, en muchas ocasiones se le exigirá ser power-free, hands-free y hasta user-free. La tendencia reduccionista también se encuentra en reagentless, wireless o en low-cost o small-size. También es importante la tendencia integradora, en plataformas sample-to-answer o fully-integrated, así como la necesidad de emplear dispositivos user-friendly o ready-to-use, generados on-demand o custom-made con requisitos más especiales como voice-activated o self-validating. El despliegue en campo requiere plataformas autonomous para medidas real-time con metodologías ultrasensitive y highly-specific.

Estos ejemplos indican la clara evolución de la Química Analítica y deberían tenerse en cuenta en la docencia de sus contenidos dado que ofrece una visión actual y moderna de la misma, abriendo la visión de la Química Analítica a los estudiantes.

Este trabajo es parte del proyecto PID2020-118376RA-I00 financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033.



IMPLEMENTACIÓN DE ELECTRODOS SERIGRAFIADOS EN LABORATORIOS DE DOCENCIA DE QUÍMICA ANALÍTICA

José Manuel Díaz Cruz, Clara Pérez-Ràfols, Núria Serrano.

Universitat de Barcelona, Facultad de Química, Departamento de Ingeniería Química y Química Analítica, Martí i Franquès 1-11, 08028, Barcelona, josemanuel.diaz@ub.edu

El análisis cuantitativo por voltamperometría es una práctica típica de los laboratorios de Química Analítica que ayuda a los estudiantes del Grado de Química a comprender tanto los fundamentos como las aplicaciones analíticas de la electroquímica. Sin embargo, la mayoría de las instituciones académicas se muestran reticentes a mantener estos experimentos en sus planes de estudios cuando se utilizan electrodos de mercurio. De hecho, el riesgo de toxicidad que conlleva el mercurio ha llevado a proponer su eliminación de todo tipo de dispositivos en los laboratorios educativos, desde termómetros hasta líneas de vacío. Así pues, el desarrollo de experimentos con electrodos no tóxicos es un tema importante de cara a poder mantener estas prácticas voltamperométricas en los laboratorios docentes.

En cuanto al material del electrodo de trabajo, existen muchos compuestos que se pueden medir con electrodos no tóxicos como carbono, oro, platino, etc., los cuales pueden ser de gran ayuda en el diseño de experimentos voltamperométricos libres de Hg. Estos materiales constituyen la base de los electrodos sólidos convencionales. No obstante, su principal inconveniente es su tendencia a ensuciarse y perder sus propiedades electroquímicas, por lo que se requieren procedimientos de limpieza tediosos y lentos lo que no los hace muy prácticos para su uso en laboratorios docentes.

Sin embargo, los electrodos serigrafiados comerciales (SPE) han aparecido como una alternativa económica y versátil a los electrodos sólidos convencionales. Estos dispositivos son el resultado de imprimir el electrodo de trabajo, el electrodo de referencia, el electrodo auxiliar y sus correspondientes conectores en un soporte de plástico o cerámico mediante el uso de tintas que contienen los materiales de dichos componentes (plata, oro, grafito...). Los SPEs tienen la ventaja de ser dispositivos desechables y baratos, de modo que después de una serie de mediciones, el dispositivo puede ser reemplazado por una unidad nueva con rendimiento similar, evitando los protocolos de pulido, limpieza y activación requeridos por los electrodos sólidos convencionales.

Así pues, este trabajo plantea el uso de un electrodo de carbono serigrafiado comercial (SPCE) para la determinación voltamperométrica de ácido ascórbico, paracetamol, dextrometorfano y cafeína tanto en una muestra farmacéutica como en una muestra de agua enriquecida.

J.M. Díaz-Cruz, N. Serrano, C. Pérez-Ràfols, C. Ariño, M. Esteban, J. Solid State Electrochem. 24 (2020) 2653., J. Barton, M.B. González García, D. Hernández Santos, P. Fanjul-Bolado, A. Ribotti, M. McCaul, D. Diamond, P. Magni, Microchim. Acta 183 (2016) 503.,



IMPACTO DE NUEVAS ALTERNATIVAS DE ENTREGA ACADÉMICA: IMPLEMENTACIÓN EN ENTORNO e-LEARNING DE EJERCICIOS DE QUÍMICA ANALÍTICA

Jaime Domínguez Manzano, David Muñoz de la Peña, Isabel Durán Merás, Arsenio Muñoz de la Peña, Diego Airado Rodríguez

Universidad de Extremadura, Facultad de Química, Departamento de Química Analítica, Avenida de Elvas s/n, 06006 Badajoz, jaidoman93@gmail.com

El potencial de herramientas web para la recogida y evaluación automática de ejercicios de Química Analítica está descrito en la bibliografía [1,2 3,]. En esta comunicación se estudia el impacto de la utilización de un autoevaluador para la recogida, autoevaluación y retroalimentación, en la enseñanza de Química Analítica. El autoevaluador, escrito tanto en Matlab como en Excel, ha sido implementado en la plataforma DOCTUS, utilizada previamente en asignaturas de Química Analítica [1,2,3]. Se ha seleccionado como caso de estudio la simulación de un ejercicio de comparación interlaboratorio, para el análisis de fósforo en un detergente comercial y el consiguiente cálculo de parámetros de calidad, en concreto, el parámetro z-score y la aplicación del test de Cochran y el test de Grubbs en sus variantes simple y doble. La experiencia ha sido llevada a cabo dentro de la asignatura “control de calidad en laboratorios analíticos” [3]. Para evaluar el impacto de la herramienta desarrollada, en concreto en la capacidad de resolución de problemas del alumnado, se ha seleccionado un problema numérico resuelto por los estudiantes en exámenes de la asignatura, en los cursos académicos 2016-2017 (sin DOCTUS) y 2020-2021 (con DOCTUS). La nota media obtenida en estos problemas en los cursos 2016-2017 y 2020-2021 fue de 4.94 y 8.67, con 28 y 26 estudiantes realizando el problema, respectivamente. La aplicación de los test de la F para la comparación de varianzas y de la t para la comparación de medias revela que la diferencia entre las notas medias es significativa, lo que sugiere la existencia de un impacto positivo de la herramienta desarrollada en la capacidad de resolver problemas sobre los contenidos seleccionados, por parte de los estudiantes.

[1] Muñoz de la Peña, A.; González-Gómez, D., Muñoz de la Peña, D., Gómez-Estern, F., Sánchez Sequedo, J. Chem. Educ 90 (2013) 308-314

[2] Monago Maraña, O., Martín Tornero, E., Galeano Díaz, T., Muñoz de la Peña, D., Muñoz de la Peña Actualidad Analítica 65 (2019) 18-22

[3] Airado-Rodríguez, D., Muñoz de la Peña, D., Durán-Merás, I., Domínguez Manzano, J., Muñoz de la Peña, Actualidad Analítica 69, (2020) 17-20



Contenidos para la enseñanza de la Química Analítica: Fuerza y vulnerabilidad de la Química Analítica

María Teresa Fernández-Abedul, Pablo Rioboó-Legaspi, Estefanía Costa-Rama, María Teresa Fernández-Abedul.

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica, Av. Julián Clavería 8, 33006, Oviedo, mtfernandez@uniovi.es

La Química Analítica es, indiscutiblemente, una disciplina imprescindible para resolver los retos actuales. Incontables ejemplos de su relevancia pueden encontrarse en el campo clínico, medioambiental o alimentario, pero también en otros como el análisis forense, la sanidad animal o la carrera espacial. La actual pandemia deja patente que disponer de información analítica fiable de manera rápida es clave para la toma de decisiones, siendo esto extrapolable a múltiples situaciones: desde el diagnóstico/seguimiento de enfermedades, al estudio del momento óptimo para la cosecha, pasando por el control para reutilizar aguas de depuradoras o la monitorización de diferentes procesos. Por otra parte, la interrelación con otras disciplinas, como aquellas desde las que la Química Analítica se provee de herramientas para el desarrollo de los dispositivos y tecnologías (Biología, Ingeniería...), u otras que utilizan protocolos analíticos con diversos fines (Medicina, Veterinaria, Ciencias Medioambientales...), aumentan enormemente el campo de acción de nuestra disciplina. En muchos casos, esto hace que surjan sub-disciplinas, algunas ya bien conocidas como la Química Bioanalítica, Clínica o Medioambiental, Análisis (Químico) Forense... La necesidad de información actual hace prever un mayor auge de la Química Analítica que continuamente se nutre con las mejoras en los distintos campos y paralelamente, ayuda al avance de los mismos.

Sin embargo, fuerza y vulnerabilidad van juntas, y también existen ejemplos donde se ha dudado de su relevancia. Se pueden considerar situaciones dentro de la disciplina de Química en donde la Química Analítica era considerada inferior a disciplinas más enfocadas a la síntesis y estudio de reacciones químicas, como la Química Orgánica o Inorgánica, aun siendo la base de muchas caracterizaciones. Esta situación ya se considera superada, pero ahora hay que considerar la relación con otras disciplinas; por ejemplo la Ingeniería, donde un dispositivo analítico miniaturizado puede pasar fácilmente a ser un "gadget" más de los desarrollados por ingenieros electrónicos. La importancia del desarrollo de procesos analíticos con requisitos rigurosos debería ser suficiente para situarnos en una posición central como interfase clara, indispensable y amigable entre lo que es una herramienta y lo que es una aplicación.

Esta dualidad fuerza/vulnerabilidad de la Química Analítica debería tenerse en cuenta en la docencia de sus contenidos, dado que esta visión ayudaría a que los estudiantes comprendan y asuman su importancia y su papel como pivote que sirve de apoyo y unión para otras muy diversas disciplinas.

Este trabajo es parte del proyecto PID2020-118376RA-I00 financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033.



DERRIBANDO MITOS CON CIENCIA

ROSA GARCIA-ARRONA, GORKA ALBIZU, IRATI BERASARTE, IÑAKI BERREGI, ANE BORDAGARAY, AINARA GREDILLA, MIREN OSTRA, NAGORE PRIETO, MAIDER VIDAL.

UNIVERSIDAD DEL PAIS VASCO (EHU/UPV), FACULTAD DE QUIMICA, QUÍMICA APLICADA. Q. ANALÍTICA, MANUEL DE LARDIZABAL, 3, 20018, DONOSTIA-SAN SEBASTIAN, rosa.garcia@ehu.eus

La asignatura Experimentación en Química Analítica (6ECTS) es una asignatura obligatoria de 3er curso del Grado en Química de la UPV/EHU. Hasta el curso 2019-2020 la metodología de la asignatura ha consistido en prácticas de laboratorio siguiendo guiones establecidos. Durante el curso 2020-2021 se puso en marcha un nuevo proyecto que se centra en desarrollar las habilidades del alumnado, utilizando las posibilidades que el análisis químico cuantitativo proporciona, para fomentar el pensamiento crítico y la gestión correcta de la información. En esta comunicación se presentan los resultados obtenidos al aplicar esta metodología durante los cursos 2020/2021 y 2021/2022.

La era digital ha traído consigo un volumen de información ingente, pero eso a su vez está provocando que se creen bulos en torno a ciertas afirmaciones que pueden resultar muy peligrosas. En los últimos años la preocupación por este tipo de bulos ha crecido exponencialmente y la ciencia también se ha visto afectada, ya se habla también de fake science. Así, uno de los desafíos de los nuevos científicos que salgan de las aulas debe ser el de curtirse en las herramientas que existen combatir estas noticias falsas o mitos. Como científicos, ¿cómo podemos responder a estas cuestiones?, ¿qué podemos aportar?

El proyecto se basa principalmente en las metodologías Inquiry Based Learning (IBL) y Research Based Learning (RBL). Los alumnos parten de ideas preconcebidas en torno a las cuales tienen que reflexionar y realizar un trabajo de investigación en el laboratorio siguiendo el método científico. En la primera parte de la asignatura (4ECTS) se sigue la metodología tradicional. Los alumnos siguen unos guiones de prácticas para lograr unos resultados esperables con el objetivo de que se familiaricen con las técnicas instrumentales habituales en un laboratorio de Química Analítica. Los 2 ECTS restantes se imparten con la nueva metodología de acuerdo con el siguiente planteamiento: el primer día se pasa una encuesta anónima en la que a todos los alumnos se les pregunta su opinión sobre los mitos que luego se van a tratar. A continuación, se exponen los resultados de la encuesta y se debate sobre los temas propuestos. Durante las siguientes semanas los alumnos realizan una pequeña labor de investigación bibliográfica y se llevan a cabo tutorías grupales para hacer el seguimiento. A continuación, durante 5 días se realiza el trabajo experimental en el laboratorio. Finalmente, se lleva a cabo una sesión de presentación de resultados.



Metodologías de aprendizaje basado en la resolución de problemas y evaluación formativa y acreditativa para favorecer el aprendizaje en la asignatura de Laboratorio de Química Analítica

Estela Giménez, Montserrat Mancera-Arteu, Angels Sahuquillo, Francisco Javier Santos, Victoria Sanz-Nebot

Universidad de Barcelona, Facultad de Química, Departamento de Ingeniería Química y Química Analítica, Calle Martí i Franqués 1-11, Planta 3, 08028 Barcelona, estelagimenez@ub.edu

En el grado de Química de la Universidad de Barcelona, el aprendizaje experimental de la Química Analítica (QA) avanzada se realiza en una asignatura independiente de las clases teóricas (Laboratorio de Química Analítica, LQA). Como en el grado de Química no existen prerrequisitos teóricos de matrícula, algunos estudiantes que no siguen el itinerario curricular recomendado cursan LQA sin los conocimientos necesarios que proporciona la correspondiente asignatura teórica, o una vez ha transcurrido demasiado tiempo desde que la han cursado. Esto provoca una falta de conexión entre la teoría y la práctica, y dificulta el óptimo aprovechamiento de la asignatura experimental. Por otro lado, con la implantación del grado, LQA ha pasado a ser la última asignatura experimental en QA, siendo necesario aplicar nuevas estrategias docentes para dar un carácter más profesionalizador a la asignatura.

En este trabajo se han aplicado metodologías basadas en la resolución de problemas (PBL, “Problem Based Learning”) [1] y el uso de Webquests (WB) como recurso didáctico [2]. Se han diseñado dos problemas analíticos: uno medioambiental donde se pretende caracterizar y clasificar un residuo industrial, y el otro centrado en seguridad alimentaria, caracterizando una leche infantil para su posterior comercialización en la Unión Europea. La mitad del grupo resuelve el problema del residuo industrial y la otra mitad el de la leche infantil. Cada grupo dispone de una WB para guiar su investigación y poder resolver el problema analítico planteado. La implantación de esta metodología fomenta el trabajo colaborativo y aumenta su capacidad para relacionar, combinar y transformar los conocimientos adquiridos en las diferentes asignaturas de QA cursadas a lo largo del grado. Por otro lado, se ha incorporado la evaluación formativa y acreditativa elaborando cuestionarios con preguntas multi-respuesta con la aplicación Socrative [3]. Los alumnos los contestan antes y después de realizar una práctica, con el objetivo que consoliden conceptos teóricos vistos en la asignatura teórica, e incentive la conexión entre los fundamentos de las técnicas instrumentales y el trabajo experimental. Estas actividades se han aplicado a varios grupos de LQA durante tres cursos académicos demostrando que son eficaces para mejorar el aprendizaje de los estudiantes. Además, hemos observado que aumenta la motivación y la implicación y se cuestionan más el trabajo experimental.

García Sevilla, J. (coord..) (2008), El aprendizaje basado en problemas en la enseñanza universitaria, Universidad de Murcia, Servicio de Publicaciones (Eds.). Murcia.

<http://webquest.ub.edu/es/>

<https://www.socrative.com/>



EXPERIENCIAS DE LABORATORIO BASADAS EN LA QUÍMICA ANALÍTICA PARA FOMENTAR EL INTERÉS DE LOS ALUMNOS DE SECUNDARIA EN EL ÁMBITO STEM

Esther Gómez-Mejía, Emma Gracia-Lor, Beatriz Gómez-Gómez, Gustavo Moreno-Martín, David Vicente-Zurdo, Iván Romero-Sánchez, Elena Espada-Bernabé, Riansares Muñoz-Olivas, Cristina Muñoz-San Martín, Paloma de Oro-Carretero, Iván Sacristán, Tamara Fernández-Bautista, Miriam Blanco-Asenjo, Álvaro Lorente-Arévalo, María Teresa Pérez-Corona, Emilio Gómez-Castro.

Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Avenida Complutense s/n, Parque de Ciencias, 28040, Madrid, egomez03@ucm.es

La experiencia práctica resulta fundamental en el desarrollo de las áreas STEM (Science, Technology, Engineering and Mathematics). Por lo general, los estudiantes no suelen estar familiarizados con los conceptos teóricos, ya que los perciben como difíciles de asimilar y contextualizar. Así, el fomento de vocaciones STEM se encuentra en el punto de mira, siendo la Química Analítica, cuya identidad no se concibe sin la experimentación, una de las herramientas de aprendizaje más versátiles para este fin.

Este contexto, en el curso 2021-2022 se ha llevado a cabo un proyecto de alfabetización científica que pretende conectar la educación universitaria con la educación de enseñanza obligatoria (ESO) y con bachillerato. Para ello, profesores universitarios y alumnos de máster y doctorado de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid han realizados talleres experimentales en los que se trataban conceptos de Química Analítica básica, relacionados con las reacciones ácido-base y reacciones de oxidación-reducción. Para ello se seleccionaron experimentos sencillos y fácilmente trasladables a la vida cotidiana, en los cuales se emplearon reactivos y sustancias como la glucosa, el hidróxido sódico, el bicarbonato o el vinagre. Asimismo, se aprovechó la experiencia para abordar los usos y las características de los materiales de laboratorio, esenciales para poder llevar a cabo cualquier experimentación científica de manera satisfactoria. En estos talleres han participado alumnos alrededor de 800 alumnos de la ESO y bachillerato, procedentes de 7 centros de la Comunidad de Madrid. Complementariamente, se ha buscado el desarrollo de competencias transversales (cooperación, comunicación efectiva, traslado de conocimientos, etc.) por parte de los alumnos y profesores universitarios que participaron en el proyecto.

Una vez finalizadas las actividades se realizaron encuestas de satisfacción basada en la escala Likert, a través de la plataforma Google Forms, fomentando así el uso de herramientas TIC. Los resultados mostraron que la mayor parte de los alumnos habían aprendido conceptos nuevos a través de la realización de los talleres y describieron su experiencia en el desarrollo de la actividad como cómoda, activa e interesante. Así, se pone de manifiesto el efecto positivo de la experimentación química para trasladar conocimientos de Química Analítica a los estudiantes de ESO y bachillerato.

Este trabajo ha sido apoyado por el Proyecto de Innovación Educativa UCM 2021-2022 [Ref 202], el Proyecto Aprendizaje Servicio UCM 2020-2021, la Asociación de Químicos e Ingenieros Químicos de Madrid, el Colegio Oficial de Químicos de Madrid y ANAYA.



El laboratorio invertido y su aplicación a las prácticas de química en el Grado en Ingeniería en Tecnologías Industriales de la Universidad de Oviedo

Adriana González-Gago, Lara Lobo, María Teresa Fernández Fernández-Argüelles

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica, C/ Julián Clavería 8, 33006 Oviedo, gonzalezadriana@uniovi.es

El aula invertida o “flipped classroom” es una metodología pedagógica cuyo principal objetivo es que el alumno/a asuma un rol mucho más activo en su proceso de aprendizaje que el que venía ocupando tradicionalmente. En particular, la presentación de los contenidos se realiza antes de la clase presencial por medio de videos breves, audios o lecturas, que los estudiantes revisan como parte del trabajo autónomo previo a cada sesión, de modo que el tiempo en el aula se dedica a poner en práctica los conceptos aprendidos.

Con el fin de aplicar esta metodología a las prácticas de laboratorio de Química del primer curso del Grado en Ingeniería en Tecnologías Industriales se han elaborado tanto videos con explicaciones teóricas (máximo 25 minutos) que fundamentan el trabajo práctico como videos que recogen todos los experimentos (máximo 8 minutos) que se van a realizar en el laboratorio en cada sesión de prácticas. Todo este contenido se preparó y utilizó durante el curso 2020-2021 cuando gran parte de la docencia impartida en la Universidad de Oviedo se realizó de manera telemática como consecuencia de la pandemia por Sars-Cov-2. Si bien la docencia es totalmente presencial este curso 2021-2022, creemos que la posibilidad de disponer de dicho material audiovisual puede ser de gran utilidad a la hora de comprender y realizar los experimentos, dotando al alumnado de mayor independencia y seguridad en el laboratorio. El contenido audiovisual está disponible a través de la plataforma Microsoft Stream, donde se pueden visualizar los videos sin limitaciones desde una semana antes de comenzar las sesiones de prácticas y hasta la fecha de realización de la prueba escrita para la evaluación. Además, para asegurar que los estudiantes han leído el guion correspondiente a cada práctica antes de venir al de laboratorio, antes de comenzar cada práctica deben responder un cuestionario tipo test que está disponible en la plataforma de enseñanza virtual de la asignatura. Tras la aplicación de esta propuesta de innovación docente, se ha evaluado el grado de satisfacción del alumnado con la metodología de enseñanza-aprendizaje utilizada así como los resultados alcanzados mediante la comparación de las calificaciones obtenidas tanto en la parte práctica como en el examen escrito en este curso académico con los resultados obtenidos para la misma asignatura en cursos anteriores cuando aun no se aplicaba dicha metodología.



APRENDIZAJE BASADO EN PROBLEMAS (ABP) PARA MOTIVAR A ESTUDIANTES DE INGENIERÍA, DETERMINANDO LA CALIDAD DEL VINAGRE EN EL LABORATORIO

María del Mar López Guerrero

Universidad de Málaga, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica,, Campus de Teatinos S/N, 29071 Málaga, mmlopez@uma.es

El aprendizaje basado en problemas (ABP) es un modelo educativo que utiliza un conjunto de actividades en torno a una situación o problema para que los estudiantes aprendan a buscar, analizar y utilizar la información recopilada y así integrar el conocimiento. Se centra en el estudiante y orienta el aprendizaje hacia “aprender a aprender”.

El APB se propone como un medio para que los estudiantes adquieran ese conocimiento y lo apliquen para resolver un problema real o ficticio, sin que el docente utilice la lección magistral u otro método tradicional para transmitir ese conocimiento. Su objetivo es estimular en los alumnos/as el deseo de saber y, además, favorece el trabajo en equipo. Esto es muy útil en situaciones donde las dificultades de aprendizaje se atribuyen en parte a la falta de interés y motivación.

La experiencia que se presenta se llevó a cabo en el 2 semestre de los cursos 2018/19 y 2019/20, durante el desarrollo de la asignatura Química de la carrera de Ingeniería Eléctrica. Se les propuso a los estudiantes diseñar un proyecto que nos permitiera saber si el vinagre que consumimos está de acuerdo con la calidad indicada, grado. La metodología a utilizar tendría que estar de acuerdo con la instrumentación disponible en el laboratorio. Una vez que el profesor aprueba el guion que han desarrollado los estudiantes, se les entrega una serie de muestras (4 ó 5) y se les pide que determinen si se ajustaba a esa calidad. Para ello, los alumnos/as tuvieron que seguir el Reglamento Europeo que normaliza la determinación de la calidad y pureza de un vinagre, y en las normas UNE/ISO correspondientes a cada análisis.

Para llevar a cabo esta investigación, los estudiantes fueron agrupados en grupos de no más de 3 personas. Esta actividad tuvo un tiempo de desarrollo de una semana, la semana anterior a la implementación del trabajo desarrollado. El trabajo realizado fue tutorizado y guiado, de forma que al final de la semana todos los grupos dispondrían de lo que se denomina un guion práctico para poder aplicar esta metodología al estudio de una serie de muestras de vinagre en laboratorio.

Los resultados cualitativos han sido muy satisfactorios y coinciden con los de otras experiencias en las que se ha aplicado la metodología APB para mejorar el proceso de enseñanza-aprendizaje.



Presentaciones póster: herramienta para la evaluación y comunicación de los resultados de prácticas de laboratorio en química analítica.

Rafael Lucena Rodríguez, Ángela I. López-Lorente, Ana María Ballesteros Gómez, Beatriz Fresco Cala, Soledad Cárdenas Aranzana.

Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, Campus de Rabanales, Edificio Marie Curie, Córdoba, rafael.lucena@uco.es

Las presentaciones póster se utilizan de forma habitual para comunicar los resultados de la investigación en congresos especializados. En el ámbito docente también se han descrito como recurso didáctico [1,2], y sus beneficios incluyen una mejora de la capacidad de síntesis y de comunicación. Aunque la incorporación de las nuevas tecnologías ha propiciado que el alumnado actual esté familiarizado con diversos métodos de presentación de resultados en clase la presentación mediante pósteres suele ser una herramienta menos utilizada en el aula universitaria.

Se ha llevado a cabo un proyecto de innovación docente en el que ha realizado una sesión de pósters simulando un congreso científico para la presentación de resultados de las prácticas de laboratorio y la evaluación de estas. El proyecto se ha aplicado en el curso 2019/20 a la docencia de prácticas de laboratorio de la asignatura Análisis Instrumental I del tercer curso del Grado de Química. El trabajo se ha realizado en grupo, presentando un resumen del trabajo en inglés que se ha incluido en un libro de resúmenes, y realizando un póster que los alumnos defendieron en la sesión. En ella participó diverso profesorado del área y se realizó evaluación por pares a través de una rúbrica de evaluación. Al finalizar la sesión de pósters se hizo entrega de unos diplomas a los grupos que destacaron bien en la realización del póster o en la presentación y defensa del mismo. Con este proyecto de innovación docente se ha perseguido un cambio en la evaluación de las prácticas de laboratorio en el que el alumno adquiriera un papel más activo en el método de aprendizaje. De este modo, se ha pasado del habitual "practicar haciendo" utilizado en las prácticas de laboratorio, a "enseñar a otros" los resultados obtenidos y el aprendizaje adquirido.

La evaluación del proyecto se ha llevado a cabo mediante un cuestionario de satisfacción que completaron los alumnos de forma anónima al finalizar la presentación y defensa de los pósteres. El cuestionario se dividió en varios bloques que agrupaban los distintos aspectos a evaluar: (a) objetivos de la actividad, (b) desarrollo de la actividad, (c) aplicabilidad, (d) adquisición de competencias y, finalmente, (e) una valoración global del conjunto de la actividad.

T. Gerczei. J. Chem. Educ. 93 (2016) 1521., M.W. Lynch. Innov. Educ. Teach. Int. 55 (2018) 633.,



Evaluación colaborativa entre pares aplicada a la elaboración de los informes de laboratorio.

Rebeca Miranda Castro, Noemí de los Santos Álvarez, María Jesús Lobo Castañón, Alfredo de la Escosura Muñiz, María Teresa Fernández Fernández-Argüelles, María Teresa Fernández Abedul..

Universidad de Oviedo, Facultad de Química, Departamento de Química Física y Analítica, Av. Julián Clavería, 8, 33006, Oviedo, mirandarebeca@uniovi.es

En este trabajo se recogen los resultados de implementar la evaluación colaborativa entre pares o P2P (del inglés "peer-to-peer") en dos asignaturas experimentales del área de Química Analítica, una de Grado y otra de Máster. El objetivo de la actividad planteada fue la mejora de las habilidades de los estudiantes para redactar informes de laboratorio con un formato tipo artículo científico y potenciar su pensamiento crítico mediante el análisis de las tareas realizadas por sus compañeros. El proceso se llevó a cabo mediante la fórmula de "double-anonymised peer review", para favorecer que los estudiantes se sintieran cómodos a la hora de realizar su análisis crítico, aprovechando la herramienta Taller del Campus Virtual de la Universidad de Oviedo. Los resultados indican que los alumnos mejoraron de forma significativa sus habilidades para elaborar un informe científico y fueron capaces de evaluar objetivamente la calidad de los trabajos de sus compañeros mediante aplicación de una rúbrica proporcionada por los docentes. La valoración global de la actividad, tanto por parte de los alumnos como de los profesores implicados, fue muy positiva, por lo que se acordó su implantación en cursos posteriores.



Reflexiones acerca de cómo lograr un aprendizaje significativo de los distintos tipos de calibración metodológica

Romina Monasterio, Irene Serrano-García, Patricia Reboredo-Rodríguez, María Figueiredo-González, Alejandra Camargo, Jorge Fernández-Sánchez, Lucía Olmo-García, Alegria Carrasco-Pancorbo.

Universidad de Granada., Facultad de Ciencias. Departamento de Química Analítica., Instituto de Biología Agrícola de Mendoza, IBAM-CONICET, Chacras de Coria, Mendoza, Argentina., Av. Fuentenueva s/n, 18071, Granada, rmonasterio@ugr.es

Varios profesores de Química Analítica hemos compartido recientemente nuestras experiencias a la hora de explicar a los estudiantes los diversos tipos de calibración metodológica. Esta comunicación nace de nuestra reflexión conjunta en aras de lograr un aprendizaje significativo en nuestras aulas.

Uno de los aspectos más críticos de cualquier método analítico es la calibración de la respuesta del instrumento de medida con respecto a la concentración del analito que se quiera determinar. En el ámbito de la determinación cuantitativa de sustancias de interés es necesario comprender la relación entre la señal producida por el analito presente en una muestra (y posteriormente medida por el analista) y la cantidad de dicho analito en la muestra. Sin esa relación, es decir, sin establecer correctamente la función de calibrado, la Química Analítica tal y como la conocemos en la actualidad sería imposible.

Fue muy interesante comparar cómo se abordaba la enseñanza de las metodologías de calibración y cuantificación analítica (principalmente calibración con patrones externos, calibración con patrón interno y calibración con adición de patrón) en las distintas universidades y qué resultados se obtenían. Tratar de identificar las dificultades que el estudiantado percibe de modo más frecuente es, sin duda, el primer paso necesario para mejorar cualquier estrategia docente. Trabajamos conjuntamente en ello y los obstáculos que todos habíamos experimentado más repetidamente fueron descritos. También intentamos enumerar cuáles son los conceptos fundamentales que el estudiante debe de conocer para ser capaz de adquirir las competencias necesarias en Calibración Metodológica.

Tras poner en común todas nuestras experiencias (en diversas materias/Grados/Universidades, con distinto tipo y número de alumnos, y con diferente número de horas asignadas), diseñamos la que, desde nuestro punto de vista, podría ser una "Hoja de ruta" ideal. Dicha "Hoja de ruta" será descrita con detalle en esta comunicación.

Creemos que compartir experiencias docentes con profesionales de otras universidades es una experiencia formativa única y una oportunidad valiosísima de mejorar y enriquecernos como profesores. Del mismo modo, tomar ideas de otros colegas y observar otros modos de proceder enseñando una misma temática, nos transmite frescura y nos ayuda a buscar soluciones creativas en el aula.

Chinni, C. (2012) *Journal of Chemistry Education*, 89, 678–680., White, J., Costilow, K., Dotson, J., Mauldin, R., Schanandore, M. (2021) *Journal of Chemistry Education*, 98, 2, 620–625., Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Crouch, S. R. *Principles of Instrumental Analysis*, 6th ed.; Thomson, Brooks/Cole: Belmont, CA, 2007.



Clase al revés con estudiantes de 1º de Grado

Nielene María Mora Diez, María Isabel Rodríguez-Cáceres.

Universidad de Extremadura, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica, Avda. Elvas S/N, 6005, Badajoz, nielene@unex.es

La clase al revés (clase invertida o flipped classroom) es una metodología docente [1] en la que se invierte el orden habitual de las actividades. Hasta ahora la manera más común de dar las clases es que el profesor explica una materia en clase y posteriormente los alumnos la estudian y llevan a cabo ejercicios o problemas en casa. Con esta nueva forma se invierte el formato; por eso se le llama clase al revés.

Con la metodología de clase al revés se fomenta que el estudiante realice un trabajo previo a la sesión presencial a través de materiales preparados y organizados por el profesor (que en muchos casos son audiovisuales, grabados por el propio profesorado) y se dedica el tiempo en el aula a la realización de actividades prácticas y a la resolución de dudas, facilitando la interacción entre estudiantes y profesores [2].

En el trabajo que se presenta se aplican los principios de la Clase al Revés, en una asignatura de Química con estudiantes de primer curso del Grado en Física de la Facultad de Ciencias, en la Universidad de Extremadura.

Específicamente se aplican en algunos apartados del Tema: Equilibrio iónico: solubilidad y complejación.

Tras la aplicación y su evaluación, se ha intentado encontrar si existe una relación entre las calificaciones obtenidas, el número de veces que los estudiantes han visualizado el material, el hecho de que hayan estudiado o no Química en segundo de bachillerato y las calificaciones de acceso a la universidad.

Agradecimientos:

Los autores agradecen la financiación de este trabajo al Proyecto PID2020-112996GBI00 (Agencia Estatal de Investigación) y al IB20016 (Consejería de Economía, Ciencia y Agenda Digital - Junta de Extremadura), ambos proyectos cofinanciados por los Fondos Europeos FEDER; y a la ayuda al Grupo de Investigación ANAYCO GR21048 (Junta de Extremadura).

B. Jonatan. S. Aaron, P. Mark, editorial S.M., 2016, L. Marino, J. Elena, Guerra, A. y col., Actas de las Jenui 5 (2020) 173.,



Aula invertida como estrategia de aprendizaje activo para mejorar la selección de métodos de calibración en estudiantes de la asignatura Análisis Instrumental

Oscar Núñez Burcio, Núria Serrano Plana, Eliana Ramírez Rangel.

Universidad de Barcelona, Facultad de Química, Departamento de Ingeniería Química y Química Analítica, Martí i Franques 1-11, 08028, Barcelona, oscar.nunez@ub.edu

A día de hoy es una realidad que la aplicación de estrategias metodológicas de enseñanza a nivel universitario se centra en el proceso de aprendizaje de los estudiantes. No obstante, existen aún ciertos objetivos de aprendizaje y competencias donde los resultados no son los esperados, bien porque los docentes no han utilizado dichas estrategias o las utilizadas no han sido las más adecuadas. Este es el caso del objetivo de aprendizaje sobre la selección de métodos de calibración en la asignatura Análisis Instrumental (Grado de Química, Universidad de Barcelona). Este objetivo tiene como finalidad que el estudiante sea capaz de seleccionar el método de calibración más adecuado (calibración externa, patrón interno, adición estándar, calibración en matriz, etc.) en base a las características de una determinada aplicación analítica (falta de reproducibilidad del método de análisis, o presencia o no de efecto matriz).

El aula invertida se plantea como una estrategia de aprendizaje activo idónea para una mejor transmisión tanto de conocimientos teóricos como de habilidades prácticas. Además, el trabajo autónomo del estudiante fuera del aula permite, en las sesiones presenciales, una mayor dedicación por parte del profesor a la resolución de dudas y problemas permitiendo la mejora del proceso de aprendizaje del estudiante.

En este trabajo, se aplicó la estrategia de aula invertida (curso 2020-21) para mejorar la habilidad de los estudiantes de seleccionar métodos de calibración. Tras trabajar de forma autónoma el material proporcionado (presentaciones, vídeos, ejercicios...), y siguiendo una guía de estudio, se realizó una prueba diagnóstica (fuera del aula) para detectar aquellos conceptos que no habían sido adquiridos por la mayoría de los estudiantes, permitiendo preparar "a la carta" una clase presencial donde resolver dudas. La actividad finalizó con una prueba de evaluación presencial de dicho objetivo de aprendizaje. La comparación de los resultados entre la prueba diagnóstica y la evaluación final de la actividad (que como promedio proporcionó una mejora de 1,5 puntos) permite obtener un indicador cuantitativo de la mejora del proceso de aprendizaje de los estudiantes al utilizar aula invertida. Se compararon también los resultados obtenidos con los de grupos control de cursos anteriores que no utilizaron aula invertida, observándose que en general los estudiantes obtuvieron mejores calificaciones. La utilización del aula invertida se evaluó también con indicadores cualitativos basados en encuestas anónimas de opinión de los estudiantes, los cuales destacaron que iban mejor preparados y más seguros a clase, y llevaban más al día la asignatura.

J.L. Medina (2016). La docencia Universitaria mediante el enfoque del aula invertida. Ediciones Octaedro S.L., ,



INNOVAR, ATRAER Y DISFRUTAR CON LA ENSEÑANZA Y EL APRENDIZAJE DE LA QUÍMICA, OBJETIVO DEL DPTO. DE QUÍMICA ANALÍTICA DE LA UCM

María Pedrero, Emma Gracia-Lor, Elena Benito-Peña, M^a Cruz Moreno-Bondi

Universidad de Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Analítica, Pza. de las Ciencias, 2, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, mpedrero@quim.ucm.es

El profesorado del Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid (UCM) participa desde 2005 en proyectos financiados por la UCM y/o la Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología (FECYT) destinados tanto a hacer más atractivo y dinámico el estudio de la Química como a transformar sus formas de aprendizaje y de enseñanza con objeto de cumplir las demandas de un estudiantado y una sociedad diversos y en constante desarrollo.

En esta Comunicación se presentarán brevemente los últimos Proyectos de Innovación Educativa (PIEs) concedidos a profesores/as de este Departamento. Así, uno de sus objetivos trata de acercar la Química Analítica a los estudiantes de ESO y Bachillerato, mediante charlas de divulgación científica para concienciarlos sobre conceptos relacionados con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (seguridad alimentaria, producción sostenible de sustancias químicas y uso de sustancias químicas potencialmente peligrosas y contaminantes) y talleres experimentales en centros educativos no universitarios de la Comunidad de Madrid tratando conceptos de Química Analítica básica [1]. Una vez en la Facultad, aprender jugando es una gran idea que se desarrolló en un PIE en el que se pusieron a punto varios juegos basados en la resolución de puzzles, sudokus, tangram, tableros de damas, problemas de lógica, sencillos problemas de química, gráficos o pequeños experimentos, todos ellos requiriendo conocimientos de química general y ciertas habilidades e ingenio para llegar a la solución final en equipos formados por cinco-seis personas que trabajaban de forma conjunta para buscar las pistas que, en última instancia, los llevarían a la resolución de un problema existente en la vida real [2]. Por otro lado, con motivo de la actual pandemia del COVID-19 se hizo necesario un cambio excepcional y drástico de la concepción tradicional del aprendizaje llevando a cabo no sólo acciones que facilitarían la adaptación de los estudiantes y profesores a las plataformas educativas en línea, sino también a que éstas se convirtieran en auténticas herramientas para potenciar y mejorar de forma significativa el aprendizaje del estudiante. A este tema se enfocó un PIE dedicado a mejorar la calidad del aprendizaje de varias asignaturas de los Grados de Química e Ingeniería Química que llevan asociadas un Laboratorio de Técnicas Instrumentales mediante la creación de prácticas virtualizadas, de gran ayuda para facilitar el aprendizaje de los estudiantes y facilitar una transferencia del conocimiento constructivo y colaborativo [3].

[1] E. Gracia-Lor y col. "La divulgación científica como herramienta para promover el desarrollo sostenible: de la universidad a la sociedad", nº 283 (2020-2021) <https://eprints.ucm.es/id/eprint/66179/>.

[2] M.C. Moreno-Bondi y col. "Chem-game, el juego como estrategia para la dinamización del aprendizaje y la evaluación de conocimientos en Química General", nº 179 (2018-2019) <https://eprints.ucm.es/id/eprint/60530/>.

[3] E. Benito-Peña y col. "Diseño y preparación de un laboratorio virtual de Química Analítica: Técnicas instrumentales de análisis", nº 127 (2020-21) <https://eprints.ucm.es/id/eprint/69881/>.



Introducción a la programación de aplicaciones para el análisis multivariante en el laboratorio de química analítica

David Pérez-Guaita, Ángel Sánchez-Illana, Bayden R. Wood.

UNIVERSIDAD DE VALÉNCIA, QUÍMICA, QUÍMICA ANALÍTICA, C/ Dr Moliner 50, 46100, Burjassot, david.perez-guaita@uv.es

La enseñanza de métodos estadísticos multivariantes en química es siempre un desafío y usualmente no se aborda en profundidad en los planes de estudio. Asimismo, carencias por parte del alumnado en estadística avanzada y en programación informática dificultan el desarrollo de prácticas de laboratorio atractivas con las que trabajar estos aspectos. Esto contrasta con la popularidad de los métodos estadísticos multivariantes en industria e investigación que ha dado lugar a lo que se ha denominado el boom del machine learning, la ciencia de datos y el internet de las cosas. Por lo tanto, idear propuestas docentes en este sentido resulta de gran importancia. Aquí presentamos una práctica de 4 horas de laboratorio centrada en el análisis multivariante de datos espectrales de alimentos adquiridos mediante reflectancia total atenuada - espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier (ATR-FTIR).

Los objetivos de aprendizaje que se pretenden alcanzar son: 1) Tomar conciencia de la importancia del análisis multivariante en la resolución de problemas analíticos; 2) Afianzar el conocimiento de las etapas del análisis (muestro, preparación de muestra, análisis, presentación de los resultados); 3) Utilizar un espectrofotómetro ATR-FTIR; 4) Realizar la asignación de bandas de un espectro IR; 5) Conocer y utilizar programas de análisis multivariante; 6) Construir modelos de análisis exploratorio y de predicción e interpretar los resultados; 7) Desarrollo de una aplicación informática para implementar los modelos multivariantes desarrollados.

Para lograr estos objetivos, tras una introducción teórica y proporcionar las muestras y patrones analíticos, se trabaja en equipos para preparar las muestras y realizar las medidas de los espectros ATR-FTIR. Posteriormente, los datos obtenidos se procesan mediante el programa Unscrambler y se construyen modelos multivariantes de análisis exploratorio mediante análisis de componentes principales (PCA) y de calibración y predicción de lípidos, proteínas e hidratos de carbono mediante mínimos cuadrados parciales (PLS). Adicionalmente, se proporciona el código MATLAB de una aplicación con una implementación de los modelos PLS obtenidos para su ejecución y su uso para analizar diferentes muestras proporcionadas por el alumnado.

La evaluación se realiza a través de la elaboración de un informe analítico siguiendo un modelo y de una presentación por equipos de 5 minutos. Los informes se califican mediante una rúbrica de corrección teniendo en cuenta los objetivos y los criterios de las guías docentes de la asignatura.

Perkel, Jeffrey M. "The Internet of Things Comes to the Lab." *Nature* 542, no. 7639 (February 2017): 125-26. <https://doi.org/10.1038/542125a>. Holme, Thomas A. "Can Today's Chemistry Curriculum Actually Produce Tomorrow's Adaptable Chemist?" *Journal of Chemical Education* 96, no. 4 (April 9, 2019): 611-12. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.9b00112>. Antonelli, Tomás M., and Alejandro C. Olivieri. "Developing and Implementing an R Shiny Application to Introduce Multivariate Calibration to Advanced Undergraduate Students." *Journal of Chemical Education* 97, no. 4 (April 14, 2020): 1176-80. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.9b00850>.



Aplicación de una macro para cálculo de incertidumbres en una práctica de campo y laboratorio sobre determinación de ozono en el aire ambiente

Eduardo Pinilla-Gil, Maria Cerrato-Alvarez, Samuel Frutos-Puerto.

Universidad de Extremadura, Facultad de Ciencias, Química Analítica, Av. de Elvas, s/n, 06006, Badajoz, epinilla@unex.es

Uno de los principales objetivos de la formación en Química Analítica es que el estudiante aprenda a reconocerla como la ciencia metrológica que desarrolla, optimiza y aplica procesos de medida encaminados a obtener información química de calidad. En esta comunicación se presentan los resultados de la aplicación de un recurso informático aplicado al cálculo e interpretación de la incertidumbre como criterio de validación de un método analítico de bajo coste empleado en una práctica de laboratorio, frente a un método de referencia.

La práctica pertenece la asignatura “Técnicas Analíticas para la Evaluación de la Contaminación” (Grado en Ciencias Ambientales de la UEx). Los estudiantes aplican un método de bajo coste para la determinación de ozono troposférico en el aire ambiente, que se inicia con el muestreo pasivo. El ozono migra por difusión hacia una membrana impregnada con indigotrisulfonato (ITS), de color azul, donde su reacción con el ITS produce la decoloración del reactivo en una reacción 1:1. El número de moles de ITS consumidos, equivalente al número de moles de ozono muestreados, se mide por la disminución de la absorbancia del reactivo a 600 nm. El número de moles de ozono se relaciona con su concentración en el aire ambiente aplicando la ley de Fick de la difusión. El muestreo se realiza junto a una unidad de vigilancia de la calidad del aire que dispone de un analizador fotométrico de referencia ThermoFisher 49iQ. Se dispone así de datos pareados de concentración de ozono mediante ambos métodos, lo que permite calcular la incertidumbre del método empleado en la práctica, aplicando la guía europea de validación de sensores de calidad del aire de bajo coste [1].

Para ello, hemos desarrollado una macro de Excel que encapsula/oculta los cálculos y funciones mostrando únicamente los parámetros configurables, resultados de incertidumbre, etc., a través de una interfaz gráfica que facilita su uso para los estudiantes de pregrado. Los cálculos de fondo pueden revelarse fácilmente con fines didácticos. Se presentan los resultados de aplicación de la macro a grupos de prácticas del curso 2021/2022, incluyendo datos de experiencia de usuario.

Agradecimientos: Junta de Extremadura (proyectos GR21076 e IB20081), Red Extremeña de Protección e Investigación de la Calidad del Aire (REPICA) (proyecto 1855999FD022), parcialmente financiados por la Unión Europea (FEDER).

[1] EC Working Group, Guide to the Demonstration of Equivalence of Ambient Air Monitoring Methods (2010)., ,



Interacción profesor-estudiante y estudiante-estudiante mediante mini-vídeos para enseñar y aprender Química Analítica

María Teresa Tena Vázquez de la Torre, Susana Cabredo Pinillos, Cecilia Sáenz Barrio, Félix Gallarta González, María Pilar Martínez Moral.

Universidad de La Rioja, Facultad de Ciencia y Tecnología, Departamento de Química, c/ Madre de Dios 53, 26006, Logroño, maria-teresa.tena@unirioja.es

En esta comunicación se presentan los resultados de un proyecto de innovación docente realizado el curso 2020-21 por un grupo de profesores de Química Analítica de la Universidad de La Rioja. Este proyecto se orienta en la línea de la mejora y la digitalización de los procesos de enseñanza-aprendizaje, y en él se ha implementado el uso de minivídeos como herramienta de interacción profesor-estudiante y estudiante-estudiante para facilitar el aprendizaje de la Química Analítica y para evaluar el trabajo y la competencia de los estudiantes.

Durante los cursos 20-21 y 21-22 hemos podido constatar la clara preferencia de los estudiantes por este tipo de formato a la hora de adquirir conocimientos. La interacción profesor-estudiante ha consistido en el empleo de una colección de minivídeos creados por los profesores, pero también los estudiantes han sido los creadores de sus propios vídeos que han compartido con sus compañeros. En este último caso, se ha pedido a los estudiantes que elaboren trabajos en formato minivideo.

Los minivídeos creados por los profesores han servido para que los estudiantes aprendan a usar el paquete de análisis de datos de Excel para obtener una recta de calibrado, comparar los resultados de varios laboratorios, comparar los resultados obtenidos con dos métodos, etc. y también a utilizar el software estadístico R para diseñar experimentos.

Los minivídeos elaborados por los estudiantes han consistido en la resolución de casos prácticos de Química Analítica o bien trabajos que tradicionalmente se exponían en clase. El uso de la aplicación Flipgrid para compartir estos minivídeos ha permitido el debate profesor-estudiante y estudiante-estudiante sobre los contenidos compartidos. La participación de los alumnos en esta actividad evaluable ha sido del 73 y 80% en las asignaturas Análisis Instrumental II y Química Analítica, respectivamente. En la primera, los estudiantes elaboraron 24 minivídeos, con un total de 1538 visualizaciones, 122.7 horas de implicación y un total de 291 comentarios (7-19 comentarios/vídeo). En la asignatura Química Analítica los estudiantes prepararon y compartieron minivídeos explicando la resolución de un problema. De esta manera todos los estudiantes podían acceder a los vídeos del resto y así tenían una colección adicional de problemas para preparar la asignatura.

..



La herramienta Kahoot! más allá del aula

Javier Terán Baamonde, Alatzne Carlosena Zubieta, Carlota Paz Quintás, Elia Alonso Rodríguez, Rosa María Soto Ferreiro y Soledad Munitegui Lorenzo

Universidade da Coruña, Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Grupo Química Analítica Aplicada (QANAP), Instituto Universitario de Medio Ambiente (IUMA), Campus de A Coruña s/n, 15071 A Coruña, javier.teran.baamonde@udc.es

En la IV Jornada Docente organizada por la Sociedad Española de Química Analítica (SEQA) en el año 2018, tuvimos la oportunidad de participar en un taller sobre la utilización de nuevas herramientas docentes en el proceso de evaluación bajo el título “Aprendizaje interactivo y evaluación a través del móvil” [1]. A partir de ahí, incorporamos la aplicación educativa Kahoot! (<https://kahoot.com>) a diferentes ámbitos de nuestra práctica docente y de la divulgación, explorando nuevas posibilidades tanto de manera presencial como no presencial.

Aula:

Se emplea de modo sistemático, y de una manera convencional, en materias impartidas en el primer y segundo curso del grado en Química y del grado en Nanociencia y Nanotecnología. Se realizan cuestionarios al finalizar cada tema en las clases expositivas para conocer el grado de comprensión de los contenidos expuestos, y antes de comenzar las prácticas de laboratorio para evaluar los conocimientos previos. Teniendo en cuenta los aciertos/fallos de los alumnos, el profesor/a incide en aspectos fundamentales.

Trabajo de Fin de Grado:

La adquisición de competencias transversales relacionadas con la responsabilidad social a lo largo del grado en Química no resulta fácil. Una estrategia para ello ha sido incluir actividades específicas en el trabajo de Fin de Grado. Se empleó la herramienta Kahoot! para evaluar el grado de interés y conocimiento de los ciudadanos sobre ciertas problemáticas, a modo de encuestas, tanto de forma presencial como virtual a través de WhatsApp.

Divulgación:

La divulgación y difusión a nivel científico es fundamental para trasladar a la Sociedad los avances en investigación, contribuir a mejorar la calidad de vida, etc. Esta divulgación se lleva a cabo a través de charlas, talleres, ferias, etc. La incorporación de cuestionarios de Kahoot! para evaluar el conocimiento previo sobre diferentes temáticas nos ha permitido adecuar el discurso a cada audiencia, así como motivar e incrementar su participación.

De estas experiencias, comprobamos que la herramienta Kahoot! no solo nos permite motivar la participación del alumnado y facilitar una evaluación continua objetiva (sobre todo en cursos muy numerosos), sino que también incrementa la interactividad en charlas de divulgación y permite realizar encuestas de opinión dirigidas a un público objetivo.

Agradecimientos

J. Terán-Baamonde agradece a la Xunta de Galicia por la ayuda postdoctoral (Ref. ED481B-2021-090). Esta trabajo fue financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (Ref. PID2019-108857RB-C31) y la Xunta de Galicia (Ref. ED431C-2021/56).

[1] A. Muñoz de la Peña, X. Subirats y M. del Noyal Sánchez. IV Jornada sobre estrategias para la innovación de la actividad docente en Química Analítica, Alcalá de Henares, Libro de resúmenes, SEQA (2018). ISBN 978-84-09-03372-0.



Incorporación de los Objetivos de Desarrollo Sostenible en el diseño curricular de la Química Analítica

Nora Unceta Zaballa, Alberto Gómez Caballero, Asier Vallejo Ruiz, Maite Maguregui Hernando, M^a Aránzazu Goicolea Altuna, Ramón J. Barrio Diez-Caballero.

Universidad del País Vasco, Facultad de Farmacia, Química Analítica, Paseo de la Universidad 7, 01006, Vitoria-Gasteiz, nora.unceta@ehu.eus

La aprobación de la Agenda 2030 de Naciones Unidas y de la Agenda Renovada para la Educación Superior en Europa, ha hecho necesaria una reflexión sobre el modelo educativo universitario. En este contexto, la Universidad del País Vasco (UPV/EHU) ha desarrollado un modelo educativo propio que tiene como fin fomentar adaptaciones curriculares que promuevan el desarrollo de una serie de competencias transversales, la incorporación de la investigación en la docencia y el logro de los objetivos para el desarrollo sostenible (ODS) [1]. Asimismo, en su compromiso con la sostenibilidad, ha desarrollado la hoja de ruta EHUagenda2030 por el desarrollo sostenible [2].

En el marco de este modelo, el Grupo para la innovación docente en Química Analítica de la Facultad de Farmacia (IkaskiMua) ha llevado a cabo un Proyecto de Innovación Docente que ha tenido por objetivo la inserción curricular de la sostenibilidad de manera transversal en las asignaturas obligatorias que imparte: Química Analítica (Grado en Farmacia), Análisis de Contaminantes (Grado en Ciencias Ambientales) y Análisis Químico (Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos) [3].

Este proyecto se ha desarrollado en el contexto de las prácticas de laboratorio de estas asignaturas, donde se ha tratado de incorporar los siguientes ODS: ODS 6, Agua limpia y saneamiento; ODS 12, Producción y Consumo responsable; ODS 13, Acción por el clima. Para ello, las prácticas de laboratorio han sido rediseñadas proponiéndose experimentos a menor escala, contribuyendo a disminuir el consumo de reactivos, minimizar la generación de residuos y, en consecuencia, la reducir los gastos ordinarios en la adquisición de materiales y reactivos. Con el fin inculcar una mayor conciencia sobre la importancia del desarrollo sostenible en su futuro profesional, el alumnado ha sido parte activa en el diseño sostenible de las prácticas de laboratorio. Para ello se le ha solicitado que lleven un registro de los reactivos utilizados y de los residuos generados y que propongan acciones de mejora para realizar unas prácticas más sostenibles.

La inclusión de los ODS en el diseño y desarrollo de las prácticas de laboratorio ha tenido un gran impacto en la disminución de los residuos generados, así como en el consumo de reactivos. Este nuevo enfoque ha fomentado que el alumnado adquiera una mayor conciencia sobre la importancia de la sostenibilidad y cómo promoverla mediante unas Buenas Prácticas de Laboratorio y Medioambientales en el futuro desempeño de su profesión.

[1] Universidad del País Vasco. Estrategia IKD i3 [fecha de consulta: 27/04/2022]. Disponible en: <https://www.ehu.eus/es/web/iraunkortasuna/ehuagenda-2030/ikd-i3-estrategia> [2] Universidad del País Vasco. EHUagenda 2030 por el desarrollo sostenible. Bilbao: Servicio Editorial de la UPV/EHU; 2019 [fecha de consulta: 25/04/2022]. Disponible en: <https://www.ehu.eus/es/web/iraunkortasuna/ehuagenda-2030> [3] Grupo para la innovación docente en Química Analítica de la Facultad de Farmacia-IkaskiMua [fecha de consulta: 27/04/2022]. Disponible en: <https://www.ehu.eus/es/web/berrikuntza-gizarte-konpromiso-eta-kulturgintza-errektoreordetza/edikit-19-6> ,