

RESPONDIENDO A LOS INTERESES DE LA SOCIEDAD ACTUAL DESDE LA QUÍMICA ANALÍTICA: SOSTENIBILIDAD Y AUTENTICACIÓN

Guillem Campmajó, Nerea Núñez, Georgios Magkanas, Sònia Sentellas, Oscar Núñez, José Francisco García, José Luis Beltrán, Mercè Granados
Sección de Química Analítica. Facultad de Química. Universitat de Barcelona.
C/Martí i Franquès 1-11, 08028 Barcelona.

Introducción: El grupo de Fluorescencia

El grupo de Fluorescencia del Departamento de Ingeniería Química y Química Analítica de la Universitat de Barcelona está constituido por los profesores José Luis Beltrán, José Francisco García, Mercè Granados, Óscar Núñez y Sònia Sentellas y los estudiantes de doctorado Guillem Campmajó, Nerea Núñez y Georgios Magkanas, y mantenemos una estrecha colaboración con el profesor Javier Saurina, del grupo de quimiometría de este mismo Departamento.

Aunque originalmente la investigación del grupo estaba estrechamente ligada a la fluorimetría, y de aquí el nombre, la incorporación de nuevos miembros y el establecimiento de nuevas colaboraciones han propiciado que a lo largo del tiempo se hayan ido abriendo nuevas líneas de investigación. En este escenario dinámico, hoy en día nuestros intereses abarcan ámbitos como el medio ambiente, la alimentación, el patrimonio o los materiales, manteniendo en común el desarrollo y aplicación de metodología analítica y la integración y tratamiento conjunto de toda la información disponible para la resolución de los diferentes problemas planteados. Los enfoques desde los que abordamos los estudios son diversos, yendo desde la caracterización de muestras alimentarias, ambientales, u obras de arte con técnicas instrumentales y quimiométricas adecuadas, hasta aproximaciones relacionadas con la sostenibilidad, como la obtención de compuestos de interés a partir de residuos, o la minimización de residuos generados en las medidas analíticas.

A continuación, presentaremos brevemente las líneas de investigación en las que estamos involucrados actualmente.

Caracterización, clasificación y autenticación de alimentos y prevención de fraudes

El interés de la sociedad por la autenticidad y la calidad de los alimentos va en aumento. La calidad es una de las características más valoradas a la hora de elegir qué alimentos consumir; sin embargo, su descripción objetiva es una tarea muy desafiante. En este contexto, el etiquetado de los productos alimenticios es prácticamente la única herramienta disponible para evaluar la calidad de los alimentos y seleccionar los productos que se consumen. Además, se exigen controles rigurosos por parte de la sociedad para

garantizar la integridad y autenticidad de los alimentos y evitar prácticas fraudulentas.

Una de las líneas de investigación del grupo se centra en el desarrollo de metodologías analíticas basadas en la cromatografía de líquidos con detección espectroscópica, UV-vis y de fluorescencia, y el uso de la espectrometría de masas, para la caracterización, clasificación y autenticación de productos alimentarios, así como para la prevención de fraudes [1]. Existen dos aproximaciones: el uso de métodos dirigidos y no-dirigidos. Los métodos dirigidos se basan en la determinación de familias específicas de compuestos bioactivos, como los polifenoles, los cuales se pueden utilizar como marcadores. Los métodos no-dirigidos, sin embargo, se basan en determinar señales instrumentales químicas, sin necesidad de conocer los compuestos que las generan, las cuales se utilizan como huellas metabólicas (*fingerprints*) de las muestras. El uso de métodos quimiométricos como el análisis de componentes principales (PCA) o el análisis discriminante con mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) es indispensable para la caracterización y clasificación de las muestras utilizando como descriptores químicos el contenido en sustancias bioactivas (métodos dirigidos) o las huellas metabólicas (métodos no-dirigidos). En relación a las problemáticas alimentarias en las que se está trabajando actualmente podemos destacar la autenticación de pimentones con denominación de origen protegida (DOP) [2], la detección y cuantificación de fraudes en muestras de café [3], la caracterización de suplementos alimentarios, o la autenticación de extractos de té y productos apícolas (mieles, jalea real, propóleo). La Fig. 1 muestra la clasificación de muestras de café frente a posibles adulterantes (achicoria, harinas y cebada) obtenida mediante un método HPLC-UV-FLD no dirigido y PLS-DA [3].

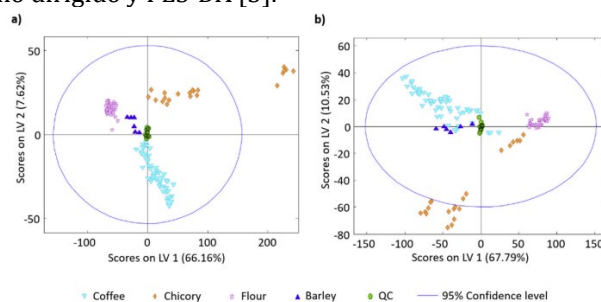


Figura 1. Gráficos de Scores PLS-DA para la clasificación de muestras de café y adulterantes (achicoria, harinas y cebada) utilizando como descriptores químicos huellas cromatográficas (a) HPLC-UV y (b) HPLC-FLD [3].

Para más información se pueden seguir las cuentas de *instagram* (@fisa.food) y *twitter* (@FisaFood) de esta línea de investigación.

Recuperación y purificación de compuestos bioactivos a partir de residuos de la industria agroalimentaria

Esta línea de investigación se desarrolla en el marco de un proyecto coordinado en el que participamos junto con el grupo R²EM de la Universitat Politècnica de Catalunya. El objetivo final es el diseño de procesos para la recuperación de compuestos bioactivos a partir de residuos que se generan en gran volumen en los ciclos industriales de producción de aceite, vino y zumo. Se trata de un enfoque de aplicación de la economía circular que permite valorizar los residuos generados y al mismo tiempo reducir su impacto ambiental.

Así, por ejemplo, antioxidantes como los polifenoles se hallan de forma natural en concentraciones muy variables tanto en frutas y verduras, como en los desechos agroalimentarios. Los polifenoles juegan un papel crucial en los sistemas biológicos, ayudando a prevenir enfermedades [4]. En este escenario, los residuos producidos en los sectores agroalimentarios son un recurso interesante como fuente de polifenoles para aplicaciones en la industria farmacéutica, cosmética o alimentaria.

Nuestro esfuerzo se centra, por un lado, en la caracterización de los residuos, y por otro en la extracción de polifenoles de éstos y su posterior purificación. Así, un punto clave es la identificación y cuantificación de compuestos bioactivos en los distintos tipos de residuos (Fig. 2), para tipificar aquellos que sean más interesantes, teniendo en cuenta no únicamente la presencia de polifenoles de alto valor, sino también el nivel de concentración al que se encuentran. Para ello se utiliza la cromatografía de líquidos con detección UV-vis y de fluorescencia, y la espectrometría de masas. Asimismo, se determina la capacidad antioxidante de los residuos mediante ensayos espectrofotométricos, que proporcionan información complementaria [5].

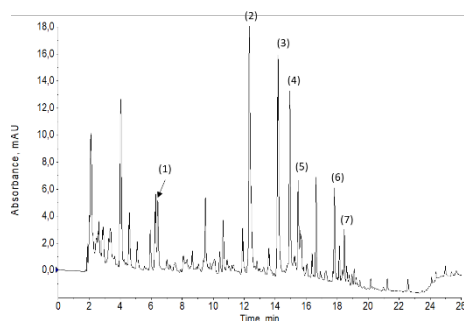


Figura 2. Cromatograma HPLC-UV a 280 nm de un extracto acuoso de lías de vino. Asignación de picos: (1) ácido gálico, (2) ácido caftárico, (3) ácido cis-cutárico, (4) ácido trans-cutárico, (5) ácido cafeico, (6) ácido cumárico, (7) astilbina.

Por lo que se refiere a la etapa de extracción, se consideran sistemas basados en agua y/o etanol, por su compatibilidad con ulteriores etapas de purificación, pero también con aplicaciones relacionadas con su uso

en nutracéuticos o cosméticos. En cuanto a la técnica, se ha optado por la extracción convencional ya que frente a otras técnicas como la extracción asistida por ultrasonidos o por microondas, o la extracción con líquidos presurizados, es de fácil implementación a escala industrial, de menor coste económico, y no se han observado diferencias destacables en cuanto a la eficiencia en la recuperación de polifenoles respecto a las técnicas anteriores [6].

Uno de los mayores retos es el relacionado con la purificación de los extractos obtenidos, de complejidad elevada (Fig. 2), y que se está abordando como combinación de dos etapas. La primera mediante el uso de membranas de micro, ultra y nanofiltración, y a continuación a través de procesos de adsorción/elución utilizando resinas de naturaleza diversa. Los tratamientos de los extractos por permeación a través de membranas reducen el contenido macromolecular, pero no permiten alcanzar la separación entre polifenoles. Esta se está investigando actualmente mediante procesos dinámicos en columna con polímeros de diversa naturaleza y morfología.

Para más información sobre esta línea de investigación se puede seguir la cuenta de *instagram* (@recycle4antiox).

Control de la materia orgánica disuelta en aguas naturales mediante fluorescencia molecular

Las aguas naturales pueden contener una mezcla compleja de materia orgánica natural (NOM). Una parte de la NOM está constituida por la materia orgánica disuelta (DOM), considerada como la que pasa a través de un filtro de poro inferior a 0,45mm.

La DOM es una mezcla heterogénea de componentes orgánicos originados en los procesos de degradación de residuos de plantas y animales, y consiste principalmente de proteínas, polisacáridos y sustancias húmicas. Dentro de la DOM se distinguen dos fracciones: la fracción húmica, formada por ácidos húmicos y fúlvicos (con masas moleculares entre 1 y 20 kDa), y la fracción no húmica, formada por diferentes tipos de sustancias, como biopolímeros (entre 20-50 kDa), “building blocks” (entre 300 y 500 Da) y sustancias ácidas y neutras de bajo peso molecular (<350 Da). La DOM juega un papel importante en la retención de nutrientes, así como en la movilidad de iones metálicos y especies orgánicas, siendo la fracción húmica la más importante en estos apartados. Por otra parte, en el caso de agua destinada al consumo humano, la presencia de DOM puede dar lugar a la formación de subproductos de desinfección durante procesos de potabilización (DBP, tales como trihalometanos o ácidos haloacéticos), además de promover la proliferación bacteriana. Por tanto, el control de la DOM es de gran importancia, en particular en plantas de tratamiento de agua potable.

Una de las técnicas utilizadas para la caracterización de la DOM es la fluorescencia molecular en forma de matrices de excitación-emisión (FEEM). Esta técnica es la que se utiliza en nuestro grupo para la caracterización

y control de la DOM en diferentes muestras de agua (superficial de río, freática o tratada) en las diferentes etapas de tratamiento de agua potable [7], así como para evaluar la eficiencia de procesos para la eliminación de la DOM. Esta técnica se basa en las características fluorescentes de los diferentes componentes de la DOM. Así, se pueden diferenciar la fracción "humic-like", en la que los grupos fluoróforos son principalmente de tipo quinona, mientras que la fracción "protein-like" contiene fluoróforos como triptófano, tirosina o fenil alanina.

La obtención de los espectros FEEM permite caracterizar las diferentes fracciones de la DOM en aguas. El tratamiento de datos se lleva a cabo mediante el algoritmo PARAFAC (Parallel Factor Analysis), aunque previamente es necesario eliminar la dispersión (Rayleigh y Raman). La Fig. 3 muestra el mapa de contorno del espectro FEEM de una muestra de agua de río, antes (a) y después de eliminar la dispersión (b). En la figura también se indican los picos característicos.

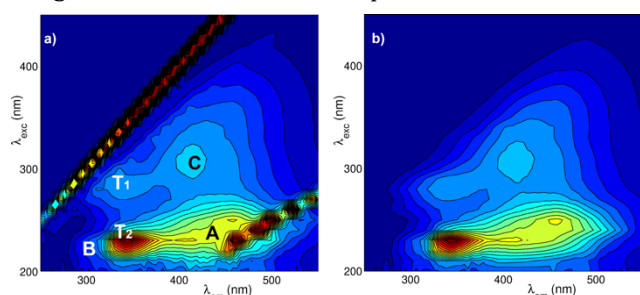


Figura 3. Mapa de contorno FEEM de una muestra de agua de río original (a) y eliminando la dispersión (b). Los picos indicados corresponden a sustancias húmicas (A, C), y de tipo proteico (B, T₁ y T₂).

Reducción de recursos y residuos en la determinación de radionucleidos mediante centelleadores plásticos

La determinación de la concentración de actividad debida a la presencia de radionucleidos en diferentes escenarios es necesaria como consecuencia de los potenciales daños biológicos que la exposición a las radiaciones ionizantes puede producir en los humanos. Las centrales nucleares, los hospitales y los centros de investigación, además de posibles acciones terroristas, son las principales fuentes potenciales de emisión de radionucleidos. A partir de estas fuentes, los radionucleidos se distribuyen a través de la atmosfera y la biosfera según su concentración y propiedades químicas.

El centelleo líquido es una técnica aplicada a la determinación de emisores de partículas beta pero que también es capaz de detectar partículas alfa. La principal limitación de esta técnica es su limitada selectividad que exige de un tratamiento de separación previo largo e intensivo en mano de obra. Además, como consecuencia de la medida se generan residuos mixtos (orgánicos y radioactivos) difíciles de gestionar.

Desde hace más de quince años se ha incorporado el centelleo plástico a este tipo de determinaciones [8]. Los centelleadores plásticos (PS) son polímeros

fluorescentes capaces de ser excitados por las propias desintegraciones radioactivas del analito emitiendo fotones en el proceso de desexcitación. La naturaleza sólida le confiere la ventaja de no producir residuos mixtos tras la medida y también permite la inmovilización de extractantes selectivos en su superficie, unificando las etapas de separación y medida (PSresin).

En un trabajo conjunto con miembros del grupo Questram (sección Química Analítica, Univ. de Barcelona) y del Laboratorio de Radiactividad Ambiental (Univ. Politécnica de Valencia), se han desarrollado y aplicado diferentes PS y PSresin (alguna de ellas comercial) a la determinación de ⁹⁰Sr/⁹⁰Y, ¹⁴C, ²¹⁰Pb, ⁹⁹Tc, ¹²⁶Sn; en diferentes tipos de muestras: aguas, suelos, vegetales; en diferentes tipos escenarios: control medioambiental, desmantelamiento de instalaciones nucleares, emergencias.

Para el control de la radiactividad en aguas prepotables, se ha desarrollado junto a miembros del grupo Questram y la empresa ADASA Sistemas, un equipo comercial que permite la determinación en continuo de la actividad total relacionada con los emisores alfa y beta (Fig. 4).



Figura 4. Equipo para la medida en continuo de la actividad alfa y beta en aguas prepotables

Esta investigación se orienta también a la determinación y discriminación de emisores alfa y beta a partir de sus propiedades básicas. En esta línea, uno de los objetivos prioritarios es desarrollar instrumentos miniaturizados adaptados a diferentes escenarios de forma que permitan, a coste reducido, la monitorización continuada de determinados niveles de actividad en situaciones de interés. Uno de estos escenarios específicos sobre los que se trabaja es el desarrollo de sistemas para la determinación de la actividad de radiofármacos. Una aproximación semejante basada en PS selectivos se ha aplicado a la determinación de fosfatos en aguas. Los estudios relacionados con centelleadores plásticos han permitido el establecimiento de diferentes contratos de transferencia con empresas españolas y europeas.

Contribución al conocimiento y preservación de las obras del patrimonio cultural a partir de su composición y morfología: Artomics

Las obras del patrimonio cultural son cápsulas del tiempo que recogen en su composición y organización

los materiales, conocimientos, valores y creencias existentes en las sociedades en que fueron creadas.

El análisis de estos objetos con una perspectiva amplia que integre todos los datos confinados en la obra (en ocasiones de forma inconsciente): materiales y sus productos de degradación, estructura y morfología (Artomics), contribuye a recuperar ese conocimiento. La extracción de la información incluida en los datos requiere de la utilización de técnicas quimiométricas que permitan la gestión conjunta de información cuantitativa y cualitativa.

Cada obra es diferente y, desde el punto de vista analítico, sus dos características fundamentales son la heterogeneidad de los materiales que las constituyen (macro y micro) y la necesidad de preservar su integridad física durante el proceso de análisis. Se han desarrollado diferentes metodologías para el análisis de obras del patrimonio como la espectroscopia de infrarrojo remota para el estudio de pinturas, y se ha diseñado, construido y aplicado un sistema óptico de ablación láser conectado a un equipo ICP/MS para la determinación de la composición y estratigrafía de pintura, sin toma de muestra y con un deterioro imperceptible a la vista [9].

Atendiendo a los estudios realizados, se analizan todo tipo de obras: pinturas, esculturas y manuscritos. Así por ejemplo, se ha llevado a cabo un estudio continuado sobre manuscritos escritos con tinta ferrogálica, optimizando la metodología de análisis y estudiando la composición y distribución de sus materiales constitutivos y sus productos de degradación, así como el efecto de los diferentes compuestos y procedimientos de conservación. Recientemente se aplica la aproximación Artomics al estudio de Manuscritos Iluminados y de Esmaltes de Limoges del periodo correspondiente a la transición entre el románico y el gótico. Entre los manuscritos estudiados se encuentra el Liber Feudorum Maior (s. XII - XIII) [10] (en colaboración con el Archivo de la Corona de Aragón) (Fig. 5) y entre los esmaltes de Limoges el Frontal de San Miguel de Aralar (s. XII) (en colaboración con la Institución Príncipes de Viana, Gobierno de Navarra).

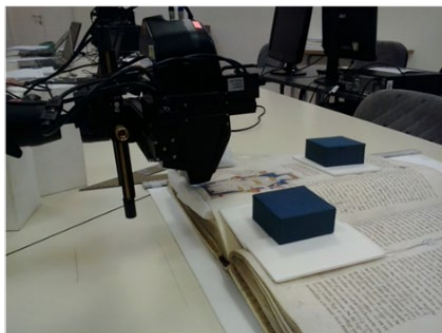


Figura 5. Estudio del Liber Feudorum Maior mediante fluorescencia de rayos X.

También siguiendo esta misma aproximación se encuentran en proceso de estudio las pinturas murales romanas de los diferentes tipos de villas de la provincia de Girona (en colaboración con la Universitat de Girona), relacionando composición de las mismas con la

actividad desarrollada en esas villas. Muchos de estos estudios cuentan con la colaboración de Museos e Instituciones y los diferentes trabajos son objeto de transferencia de conocimiento.

Un proyecto importante en proceso dentro del ámbito del patrimonio cultural es el establecimiento de un centro de datación y estudio del patrimonio cultural. Este centro contribuirá a la ubicación temporal de diferentes yacimientos paleontológicos, arqueológicos y objetos del patrimonio de ámbito español y europeo ya que es una de las infraestructuras del nodo español de la red europea E-RIHS (European Research Infrastructure for Heritage Science).

Referencias

- Núñez, O.; Campmajó, G.; (Editors). Chromatographic and Related Separation Techniques in Food Integrity and Authenticity. Volume A: Advances in Chromatographic Techniques and Volume B: Relevant Applications, 2021, World Scientific Publishing, London, UK. ISBN: 978-1-78634-994-1
- Campmajó, G.; Rodríguez-Javier, L.R.; Saurina, J.; Núñez, O. Assessment of paprika geographical origin fraud by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection (HPLC-FLD) fingerprinting. *Food Chem.* 352 (2021) 129397. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129397>
- Núñez, N.; Saurina, J.; Núñez, O. Authenticity Assessment and Fraud Quantitation of Coffee Adulterated with Chicory, Barley and Flours by Untargeted HPLC-UV-FLD Fingerprinting and Chemometrics. *Foods* 10 (2021) 840 <https://doi.org/10.3390/foods10040840>
- Montenegro-Landívar, M.F.; Tapia-Quirós, P.; Vecino, X.; Reig, M.; Valderrama, C.; Granados, M.; Cortina, J.L.; Saurina, J. Polyphenols and their potential role to fight viral diseases: An overview. *Sci. Total Environ.* 801 (2021) 149719. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149719>
- Vidal-Casanella, O.; Núñez, O.; Granados, M.; Saurina, J.; Sentellas, S. Analytical Methods for Exploring Nutraceuticals Based on Phenolic Acids and Polyphenols. *Appl. Sci.* 11 (2021) 8276. <https://doi.org/10.3390/app11188276>
- Tapia-Quirós, P.; Montenegro-Landívar, M.F.; Reig, M.; Vecino, X.; Alvarino, T.; Cortina, J.L.; Saurina, J.; Granados, M. Olive Mill and Winery Wastes as Viable Sources of Bioactive Compounds: A Study on Polyphenols Recovery. *Antioxidants* 9 (2020) 1074. <https://doi.org/10.3390/antiox9111074>
- Vera, M.; Martín-Alonso, J.; Mesa, J.; Granados, M.; Beltran, J.L.; Casas, S.; Gibert, O.; Cortina, J.L. Monitoring UF membrane performance treating surface-groundwater blends: Limitations of FEEM-PARAFAC on the assessment of the organic matter role, *Chemical Engineering Journal* 317 (2017) 961. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2017.02.081>
- Tarancón, A.; Bagán, H.; García, J. F. Plastic scintillators and related analytical procedures for radionuclide analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 314 - 2 (2017) 555 - 572. <https://doi.org/10.1007/s10967-017-5494-5>
- Marin, E.; Padro, A.; Miquel, A.; Garcia J.F. Characterization of paintings by laser ablation-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytical Letters.* 48 (2015) 167 - 179. <https://doi.org/10.1080/00032719.2014.921823>
- Magkanas G.; Bagan, H.; Sistach M.C.; García, J.F. Illuminated manuscript analysis methodology using MA-XRF and NMF: Application on the Liber Feudorum Maior. *Microchemical Journal* 165 (2021) 106112. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106112>