

# UNIVERSIDAD DE BURGOS

## ESCUELA DE DOCTORADO

### TESIS DOCTORALES

**TÍTULO:** NUEVAS ESTRATEGIAS BASADAS EN LA QUIMIOMETRÍA PARA LA IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE PESTICIDAS, MIGRANTES Y RESIDUOS VETERINARIOS CON TÉCNICAS DE FLUORESCENCIA MOLECULAR Y DE CROMATOGRAFÍA CON DETECCIÓN POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS

**AUTORA:** RUBIO MARTÍNEZ, LAURA

**PROGRAMA DE DOCTORADO:** QUÍMICA AVANZADA

**FECHA LECTURA:** 11/07/2015

**HORA:** 11:30

**CENTRO LECTURA:** FACULTAD DE CIENCIAS. SALÓN DE ACTOS

**DIRECTOR/ES:** LUIS ANTONIO SARABIA PEINADOR – MARÍA DE LA CRUZ ORTÍZ FERNÁNDEZ

**TRIBUNAL:** ARSENIO MUÑOZ DE LA PEÑA CASTRILLO  
CELIA REGUERA ALONSO  
PILAR CAMPINS FALCÓ  
JORDI COELLO BONILLA  
MARÍA DEL SOL VEGA ALEGRE

**RESUMEN:** Esta tesis doctoral se enmarca en el ámbito de la Quimiometría, disciplina científica que genera y utiliza herramientas matemáticas, estadísticas y otras lógico-formales para diseñar procedimientos experimentales óptimos y para obtener la máxima información de los datos químicos.

La investigación realizada crea y/o adapta metodología quimiométrica y analítica adecuadas para el análisis de pesticidas, migrantes de materiales en contacto con alimentos y residuos de tratamientos veterinarios de acuerdo con la normativa vigente en la UE. Esta normativa se utiliza como marco de referencia para la identificación inequívoca de los analitos y para los criterios de funcionamiento de los métodos de análisis, y se aplica a muestras complejas de interés en el ámbito de la Seguridad Alimentaria.

En la normativa se introduce la noción de método validado como alternativa al método de referencia por lo que no existe restricción legal alguna para utilizar directamente los datos experimentales multivía que generan las actuales técnicas analíticas como son la fluorescencia molecular (matrices de excitación-emisión) o la cromatografía de gases con detección por espectrometría de masas, que han sido utilizadas en esta tesis doctoral. Al respetar la estructura de los datos y analizarlos mediante análisis factorial paralelo (PARAFAC o PARAFAC2) se garantiza la especificidad de la señal gracias a la propiedad de unicidad y la propiedad de segundo orden que posee esta herramienta quimiométrica. Como consecuencia se dispone de la identificación inequívoca del analito incluso en presencia de interferentes. La metodología del diseño de experimentos también ha sido empleada en la tesis para validar “a medida” procedimientos de pretratamiento de la muestra, consiguiendo mediante estos diseños un ahorro considerable de esfuerzo, coste del análisis y de reactivos, lo que supone una

apuesta real por la Química Verde en el análisis químico.

La memoria consta de cinco capítulos además de la introducción y las conclusiones. En el capítulo I, se establece el marco epistemológico y competencial alcanzado en la misma, así como los objetivos de la tesis. El capítulo II se dedica a describir el marco en el que se desarrolla la tesis en lo referente a la normativa seguida para evaluar los métodos analíticos. Se describen los principios básicos que inspiran la política de la Unión Europea en términos de seguridad alimentaria y se recogen aspectos de las distintas normativas, la relación de los límites máximos para estos residuos (MRLs) y la descripción de las herramientas quimiométricas utilizadas. También se aborda la controversia surgida con el concepto de límite de detección.

El capítulo III incluye la descripción de las técnicas instrumentales utilizadas: espectroscopia de fluorescencia molecular de excitación-emisión, cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS) y cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC/MS-MS).

Los capítulos IV, V y VI contienen los resultados de la investigación realizada agrupando los trabajos experimentales en base al tipo de sustancias que se determinan: pesticidas, migrantes y residuos tóxicos, respectivamente.

Las conclusiones constituyen el capítulo VII de esta memoria, las cuales se pueden resumir en las siguientes:

I) Se han desarrollado procedimientos experimentales para manejar el solapamiento espectral y el efecto amortiguador (*quenching*) en la identificación y cuantificación de los pesticidas carbaril, carbendazim y 1-naftol en flores secas de tilo utilizando las matrices de fluorescencia molecular de excitación-emisión, restaurando la trilinealidad de los tensores de datos en los casos necesarios, y obteniendo las figuras de mérito de los procedimientos propuestos.

II) Se ha propuesto una metodología para identificar fluoróforos de la matriz analítica, con señales de intensidad muy elevada, respecto a la de los analitos de interés cuando se analizan los pesticidas carbaril, carbendazim y 1-naftol en lechuga utilizando las matrices de fluorescencia molecular de excitación-emisión.

III) Se ha desarrollado un procedimiento de análisis “no target” utilizando la trilinealidad de los datos obtenidos mediante PTV-GC/MS, aplicándolo a la determinación de los pesticidas simazina, atrazina, terbutilazina, prometrina y terbutrina, en presencia de sustancias no intencionalmente añadidas (NIASs) provenientes de una contaminación secundaria de la muestra problema.

IV) Se ha abordado el problema de la identificación inequívoca y la cuantificación en ensayos de migración de sustancias desde utensilios de cocina de poliamida destinados a estar en contacto con los alimentos, en cuyos extractos es posible la presencia de otros analitos, mediante HS-SPME-GC/MS. En concreto, se han determinado anilina, 2,4-toluendiamina y 4,4'-diaminodifenilmetano.

V) Se ha desarrollado un procedimiento mediante PTV-GC/MS para la determinación multirresiduo de los ftalatos: diisobutil ftalato, DiBP, diisononil ftalato, DiNP; los plastificantes: 2,6-di-terc-butil-4-metil-fenol, BHT, bis(2-etilhexil) adipato, DEHA, y benzofenona, BP, para soslayar el doble problema planteado al identificar y cuantificar estos ftalatos con fiabilidad, en particular el DiBP, por su presencia en el ambiente del laboratorio, y en el caso del DiNP a pesar de su cromatograma con picos en “forma de dedos”.

VI) Se ha optimizado y analizado la robustez de un procedimiento aplicándolo a la determinación, en músculo de cerdo, de seis tranquilizantes y su metabolito (azaperona, azaperol, propionilpromazina, clorpromazina, haloperidol, xilazina) y un bloqueante (carazolol) por LC/MS-MS para los que la Unión Europea ha prohibido o establecido MRLs.

El contenido de esta tesis doctoral ha dado lugar a seis artículos publicados (y un séptimo enviado recientemente para su publicación) en revistas científicas del primer cuartil (Q1) en las áreas de Química Analítica y Estadística y 9 comunicaciones en congresos internacionales/nacionales.

La investigación desarrollada ha sido financiada por el Ministerio de Ciencia e Innovación (proyectos CTQ2008-02264 y CTQ2011-26022), del MINECO (proyecto CTQ2014-53157-R) y de la Junta de Castilla y León (proyecto BU108A11-2). La doctoranda Laura Rubio Martínez ha disfrutado durante su realización de una beca FPI de la Universidad de Burgos