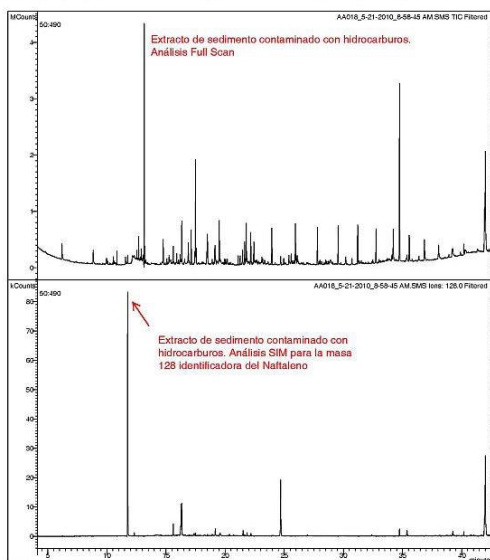


Descripción del equipo de análisis GC-MC Varian 450GC-240MS

El cromatógrafo de gases posee un inyector modelo 1079 que permite inyectar en modo *split/splitless* y en modo “grandes volúmenes” (PTV). El espectrómetro de masas permite ionización interna por impacto electrónico y por ionización química. El primer tipo de ionización proporciona espectros complejos, ideales para el análisis de compuestos desconocidos, mientras que el segundo tipo origina espectros más simples (en muchos casos solo el ion molecular), lo cual permite conocer el peso molecular del compuesto a analizar. El detector de masas puede adquirir los espectros de masas en modo *Full Scan* (detecta un amplio intervalo de iones) y en modo SIS (*Selected Ion Storage*), que detecta un solo ion o un grupo reducido de iones. El detector de masas puede llevar a cabo análisis MS/MS e incluso MSⁿ (n<10).

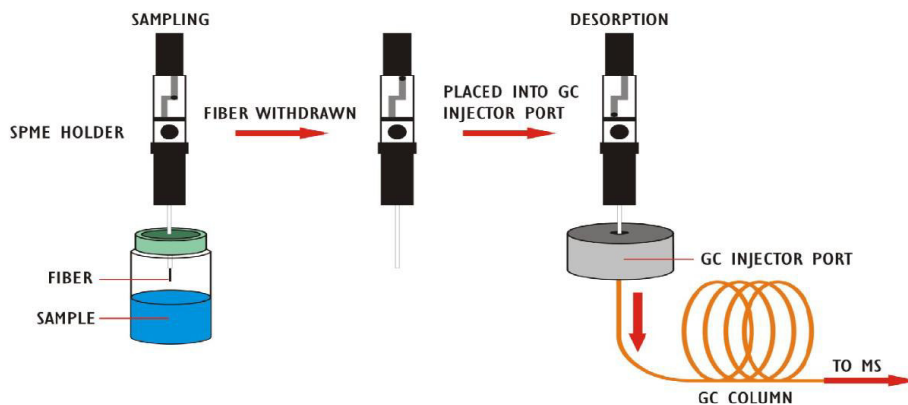
Para el análisis de compuestos desconocidos (untargeted analysis) se dispone de un software avanzado con librería de espectros de impacto electrónico (NIST17) con más de 300.000 entradas, que muestran sus valores de Índices de Retención.



Análisis Full Scan y SIS para la masa 128 m/z del naftaleno

El equipo GC-MS posee un muestreador automático CTC CombiPal que permite la inyección ininterrumpida de hasta 90 muestras líquidas en viales termostatzados. Además, el equipamiento permite el análisis de compuestos volátiles mediante los métodos *Static Head Space*, para viales con compuestos gaseosos, y SPME (*Solid Phase Micro Extraction*) para viales que contengan tanto compuestos en fase gaseosa como en fase líquida (HS-SPME y DI-SPME). El uso de la SPME acoplada al inyector robotizado nos permite realizar análisis GCMS en los que la extracción, la concentración y la inyección ocurren de forma totalmente automatizada.

La metodología SPME permite alcanzar niveles de sensibilidad muy elevados y es una técnica que no emplea disolventes (*solvent-free*), lo que conlleva un beneficio añadido para el medio ambiente y la seguridad en el laboratorio.



Esquema del proceso de extracción con metodología SPME

Aplicaciones de la técnica GC-MS:

El análisis por cromatografía de gases requiere que los compuestos susceptibles de ser analizados posean una masa molecular reducida, normalmente menor de 1.000 Da. Por ello, los compuestos a analizar deben ser volátiles, o bien han de ser derivatizados mediante una reacción química que los transforma en compuestos volátiles.

En nuestro Servicio de Instrumentación Científica llevamos a cabo dos tipos de análisis:

- 1.) Análisis del volatiloma y del metaboloma de muestras (*untargeted analysis*). El objetivo de este tipo de análisis es la identificación completa los compuestos volátiles (volatilómica) o en disolución (metabolómica) de los que no se posee información. En el análisis *untargeted* se utilizan librerías de espectros y valores de Índices de Retención para la identificación de los compuestos.
- 2.) Análisis de compuestos diana (*targetted analysis*). El objetivo de este tipo de análisis es la identificación compuestos previamente conocidos y se emplea mucho para la cuantificación absoluta. El método de extracción y de análisis se ve favorecido por la información obtenida a partir del patrón puro (espectros MS y MS/MS). Al ser un análisis tan específico no proporciona información sobre el resto de los componentes de la muestra.

Ejemplos de protocolos de análisis establecidos en el SIC y referencias:

Análisis volatilómico.

- Análisis cualitativo de compuestos volátiles emitidos por plantas mediante SPME con inmersión en espacio de cabeza. [Benitez, E.; Paredes, D.; Rodriguez, E.; Aldana, D.; Gonzalez, M.; Nogales, R.; Campos, M.; Moreno, B., Bottom-up effects on herbivore-induced plant defences: a case study based on compositional patterns of rhizosphere microbial communities. Sci Rep 2017, 7, 6251]. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06714-x>

- Análisis cualitativo de compuestos volátiles emitidos por nidos de abubillas mediante SPME. [Mónica Mazorra-Alonso, Juan Manuel Peralta-Sánchez, Manuel Martín-Vivaldi, Manuel Martínez-Bueno, Rafael Núñez Gómez and Juan José Soler. Volatiles of symbiotic bacterial origin explain ectoparasitism and fledging success of hoopoes. *Animal Microbiome* (2024)]. In press.

Análisis metabolómico.

- Análisis metabolómico (metabolitos primarios) de plantas mediante extracción y posterior derivatización. [Pablo Ibort, Sonia Molina, Rafael Nuñez, Angel Maria Zamarreño, Jose Maria Garcia-Mina, Juan Manuel Ruiz-Lozano, Maria del Carmen Orozco-Mosqueda, Bernard R. Glick and Ricardo Aroca. *Annals of Botany* 120: 101–122, 2017]. <http://hdl.handle.net/10261/163699>
- Análisis metabolómico (metabolitos primarios) de exudados de raíz tras derivatización. [Lopez-Farfan, D.; Reyes-Darias, J.A.; Matilla, M.A.; Krell, T., Concentration Dependent Effect of Plant Root Exudates on the Chemosensory Systems of *Pseudomonas putida* KT2440. *Front Microbiol* 2019, 10, 78]. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00078>

Análisis de aminoácidos.

- [Alcaide-Hidalgo JM, Margalef M, Bravo FI, Muguerza B, López-Huertas E. Virgin olive oil (unfiltered) extract contains peptides and possesses ACE inhibitory and antihypertensive activity. *Clin Nutr*, 2020, 39: 1242-1249. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2019.05.016>

Análisis de hidrocarburos alifáticos y aromáticos en muestras de sedimentos y/o aguas contaminadas.

- [Alejandro Acosta-González; Ramon Rosselló-Móra; Silvia Marqués. Characterization of the anaerobic microbial community in oil-polluted subtidal sediments: aromatic biodegradation potential after the Prestige oil spill. *Environmental microbiology.*, 2013, Vol.15(1), p.77-92]. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02782.x>

Análisis de degradación de pesticidas en matrices acuosas mediante microextracción en fase sólida de inmersión y/o de espacio en cabeza.

- [Castillo Dias, J.M.; Nogales, R.; Romero, E., Biodegradation of 3,4 dichloroaniline by fungal isolated from the preconditioning phase of winery wastes subjected to vermicomposting. *Journal of Hazardous Materials* 2014, 267, 119-127]. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.12.052>

Análisis de degradación de pesticidas tras extracción con disolventes y derivatización.

- [Jean Manuel Castillo Diaz, Laura Delgado-Moreno, Rafael Núñez, Rogelio Nogales, Esperanza Romero. Enhancing pesticide degradation using

indigenous microorganisms isolated under high pesticide load in bioremediation systems with vermicomposts. *Bioresource Technology*. Volume 214, August 2016, Pages 234-241]. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.105>

Análisis de ácidos grasos como ésteres metílicos tras extracción de plantas y/o frutos.

- [Beatriz Moreno & Rosa Cañizares & Rafael Nuñez & Emilio Benitez. Genetic diversity of bacterial β -glucosidase-encoding genes as a function of soil management. *Biol Fertil Soils* (2013) 49:735–745.] <https://doi.org/10.1007/s00374-012-0765-3>

Análisis de 2metilcetonas mediante inyección líquida tras extracción y mediante SPME en cultivos bacterianos.

- [Isabel M. Lopez-Lara, Joaquina Nogales, Angel Pech-Canul, Nieves Calatrava-Morales, Lydia M. Bernabeu-Roda, Paloma Duran, Virginia Cuellar, Jose Olivares, Laura Alvarez, Diana Palenzuela-Bretones, Manuel Romero, Stephan Heeb, Miguel Camara, Otto Geiger and Maria J. Soto. 2-Tridecanone impacts surface-associated bacterial. *Environmental Microbiology* (2018) 20(6), 2049–2065]. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14083>

Análisis cuantitativo de dimethyl sulfóxido (DMSO) en cultivos bacterianos mediante Head Space estático.

- [Martín-Rodríguez AJ, Reyes-Darias JA, Martín-Mora D, González JM, Krell T, Römling U. Reduction of alternative electron acceptors drives biofilm formation in *Shewanella* algae. *NPJ Biofilms Microbiomes*. 2021 Jan 27;7(1):9.] <https://doi.org/10.1038/s41522-020-00177-1>

Análisis de productos de degradación del naftaleno en cultivos bacterianos tras extracción.

- [Sophie-Marie Martirani-Von Abercron, Patricia Marín, Marta Solsona-Ferraz, Mayra-Alejandra Castañeda-Cataña, Silvia Marqués. Naphthalene biodegradation under oxygen-limiting conditions: community dynamics and the relevance of biofilm-forming capacity. *Microbial Biotechnology* 2017, 10 (6), 1781-1796]. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12842>