

# 1<sup>ER</sup> ENCUENTRO DE JÓVENES INVESTIGADORES EN QUIMIOMETRÍA



Tarragona, 4 de diciembre de 2006





## ÍNDICE

<b>Presentación .....</b>	<b>5</b>
<b>Programa .....</b>	<b>7</b>
<b>Comunicaciones orales.....</b>	<b>9</b>
<b>Pósteres.....</b>	<b>31</b>
<b>Índice de autores .....</b>	<b>67</b>
<b>Lista de participantes .....</b>	<b>69</b>
<b>Comité organizador y agradecimientos.....</b>	<b>71</b>



## PRESENTACIÓN

Tras el éxito del Workshop de la Xarxa Catalana de Quimiometria, celebrado en Barcelona en septiembre de 2005, el 1<sup>er</sup> Encuentro de Jóvenes Investigadores en Quimiometría pretende consolidar un foro de intercambio de conocimientos de quimiometría en los ámbitos académico y profesional y ser un punto de partida para la difusión de nuestra disciplina a nivel nacional. Es hora de plantearnos, al igual que la gran mayoría de países europeos, la existencia de un foro estable donde poder mostrar los últimos avances en investigación y, al mismo tiempo, dar respuesta a las necesidades de formación.

Para la consecución de ambos objetivos es fundamental la motivación de todos pero, en especial, de los estudiantes, que serán los principales responsables de que, en un futuro, la quimiometría sea conocida y utilizada de forma habitual. En este sentido, el formato de la jornada está pensado para que los quimiométricos jóvenes de nuestros grupos se conozcan, intercambien experiencias entre ellos y con los quimiométricos más experimentados y puedan presentar su investigación en un ambiente relajado y receptivo. Para motivarlos más, si cabe, contamos con la presencia de Riccardo Leardi, que impartirá una conferencia plenaria donde dará una visión de la quimiometría en la actualidad y explicará, a través de sus años de experiencia como consultor, cuáles son las aplicaciones más útiles para la industria.

Deseamos que todos los asistentes disfrutéis del encuentro tanto científica como personalmente.

Benvinguts a Tarragona i moltes gràcies per la vostra participació.

Ricard Boqué  
Raimundo Gargallo  
Anna de Juan



## PROGRAMA

Horas	Actividad
9:30 – 10:00	<b>Apertura del Encuentro</b> <b>Colocación de pósteres</b>
10:00 – 10:50	<b>Conferencia plenaria</b> Everyday life of a chemometric consultant ( <i>Riccardo Leardi, Università degli Studi di Genova</i> )
10:50 – 11:40	<b>Comunicaciones orales. Sesión I</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Desarrollo de una herramienta analítica rápida para identificar vertidos provenientes del Prestige empleando espectrometría infrarroja media y técnicas de reconocimiento de pautas (<i>José Manuel Andrade, Universidade da Coruña</i>)</li> <li>• PARAFAC and surface response methodology in the determination of estrogens using GC-MS (<i>David Arroyo, Universidad de Burgos</i>)</li> <li>• Determinació mitjançant anàlisi per injecció en flux amb generació de gradient de pH i tractament quimiomètric de les dades de fàrmacs antirretrovirals en mescles d'interès clínic i farmacèutic (<i>Antonio Checa, Universitat de Barcelona</i>)</li> </ul>
11:40 – 12:00	<b>Pausa – Café</b>
12:00 – 12:50	<b>Comunicaciones orales. Sesión II</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Estrategias quimiométricas en el control del proceso de fabricación de piensos compuestos (<i>Elvira Fernández, Universidad de Córdoba</i>)</li> <li>• Optimización y transferencia computerizada de separaciones en HPLC (<i>Juan García, Universidad de Santiago de Compostela</i>)</li> <li>• <i>In situ</i> quantitative monitoring of epoxy resins reactions by near infrared spectroscopy and multivariate curve resolution (<i>Mariano Garrido, Universitat Rovira i Virgili</i>)</li> </ul>
12:50 – 14:20	<b>Comida</b>
14:20 – 15:50	<b>Sesión de pósteres</b>
15:50 – 16:40	<b>Comunicaciones orales. Sesión III</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Estudi de la fotodegradació del decabromodifenil èter mitjançant Espectrofotometria UV i resolució multivariant de corbes amb modelatge híbrid (flexible- rígid) (<i>Sílvia Mas, IIQAB-CSIC</i>)</li> <li>• Internal Quality Control Harmonized for Validated Analytical Methods (<i>Salvador Sagrado, Universitat de València</i>)</li> <li>• Description of olfactory perception space by multivariate analysis of odor profiles (<i>Manuel Zarzo, Universidad Politécnica de Valencia</i>)</li> </ul>
16:40 – 17:00	<b>Pausa – Café</b>
17:00 – 18:00	<b>Planificación de actividades para el año próximo</b> <b>Clausura del encuentro</b>





## **COMUNICACIONES ORALES**

---

---



## **Desarrollo de una herramienta analítica rápida para identificar vertidos provenientes del Prestige empleando espectrometría infrarroja media y técnicas de reconocimiento de pautas**

P. Fresco Rivera, R. Fernández Varela, M.P. Gómez Carracedo, J.M. Andrade

Dept. Química Analítica, Universidade da Coruña

En los últimos 30 años Galicia ha sufrido siete de los once mayores accidentes relacionados con hidrocarburos en el medio marino acaecidos en Europa. Como consecuencia, cerca de 300.000 toneladas de crudo fueron vertidos en las costas gallegas (casi tantas como las vertidas en toda Europa). A pesar de la espectacularidad de esta cifra, se estima que a nivel mundial los vertidos directos suponen sólo un 5% del petróleo que acaba en el mar; el resto se arroja desde tierra o en prácticas prohibidas, como la limpieza de sentinas en alta mar.

Ante la necesidad de investigar quiénes son los responsables de estos vertidos para poder establecer las responsabilidades jurídicas y agilizar y optimizar la toma de decisiones en caso de contaminación, es necesario disponer de metodologías analíticas rápidas y eficaces. Aunque en la actualidad se dispone de excelentes metodologías para el trabajo en los laboratorios (GC-FID, GC-MS, HPLC-MS, etc), casi todas ellas son lentas (frecuentemente más de una hora por análisis de muestra), tediosas (especialmente el pretratamiento de la muestra), caras y necesitan personal especializado. Por este motivo existe todavía la necesidad de disponer de métodos más simples, económicos y que puedan ser desplegados en campo.

En este trabajo se propone el desarrollo de una metodología analítica basada en la espectroscopia infrarroja IR y medida directa de la muestra, empleando la reflectancia total atenuada (FTIR-ATR) para:

- (a) estudiar y caracterizar el envejecimiento de diferentes tipos de productos relacionados con la industria petroquímica vertidos en recipientes controlados,
- (b) caracterizar e identificar el origen (con respecto al buque Prestige) de diferentes muestras de hidrocarburos tomados en playas de la provincia de A Coruña a lo largo de los últimos 4 años.

Dentro de la región de radiación infrarroja se ha optado por la zona media (MIR) debido a la amplia disponibilidad de equipos en los laboratorios analíticos, buena precisión y reproducibilidad, así como facilidad de interpretación química de los espectros. Además, la metodología de medida espectral se combinó con el cálculo de diversos índices espectrales (relaciones de bandas típicas) y técnicas de reconocimiento de pautas (PCA, Cluster y redes neuronales de Kohonen).

Aunque los resultados alcanzados combinando ambas herramientas (instrumental y quimiométrica) son satisfactorios en cuanto a su capacidad de clasificación de muestras envejecidas y discriminación de productos, el hecho de que no se puedan determinar especies moleculares

individuales (que pudieran resultar características de cada vertido) condujo a algunos resultados inconclusivos. Por ello las muestras dudosas o no clasificables mediante FTIR-ATR fueron estudiadas empleando dos técnicas confirmatorias tradicionalmente aceptadas como “específicas” a nivel internacional: la cromatografía de gases (CG) con detección FID y la CG con detección de espectrometría de masas (MS).

Finalmente, se concluye que la espectrometría IR combinada con el cálculo de índices espetrofotométricos y el uso de herramientas quimiométricas de reconocimiento de pautas es una herramienta muy útil para el estudio de la evolución de un hidrocarburo vertido en el medio marino y, así mismo, para evaluar si una determinada muestra de hidrocarburos proviene o no del fuel del Prestige.

## PARAFAC and surface response methodology in the determination of estrogens using GC – MS

David Arroyo <sup>a</sup>, M. Cruz Ortiz\*<sup>a</sup> and Luis A. Sarabia <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Dep. Chemistr and <sup>b</sup>Dep. Mathematics and Computation, University of Burgos

The European Union has forbidden the administration of hormonal growth promotants to farm animals destined for human consumption (Directive 96/23/EC). Estrogens are a type of hormones that is why they are forbidden substances. These compounds have polar groups and in GC analysis these groups are derivatized in order to decrease their polarity, increase the volatility, improve the chromatographic separation or to stabilize thermolabile substances.

For the determination of the estrogens Estrone (E1) and 17- $\alpha$ -Ethinylestradiol (EE2) trimethylsilylation is the most habitual reaction for derivatization.

Breakdown processes of EE2 to E1 depending on experimental conditions have been observed during the derivatization [1,2]. These breakdown processes would cause false positives of E1. The dimethyl formamide [1] as a solvent has been used to avoid breakdown processes of EE2 to E1.

In order to optimize derivatization conditions a replicate Dohelert design of three factors and two central points has been used. The design was carried out in the electron impact (EI) ionization mode operating at 70 eV in the selected ion monitoring mode (SIM). In this work, oven temperature ( $T_{OVEN}$ ), the volume of MSTFA ( $V_{MSTFA}$ ) and reaction time ( $t_r$ ) are optimized. E1 area and EE2 area have been taken as responses. These areas are calculated with base peak (m/z 342 for E1 and m/z 425 for EE2) using as internal standard  $\beta$ -estradiol (base peak m/z 416). A global desirability function is optimized for maximize both responses leading the following experimental conditions:  $T_{OVEN} = 60$  °C,  $V_{MSTFA} = 81$   $\mu$ l and  $t_r = 32$  min.

Under the experimental conditions above stated, decision limit ( $CC\alpha$ ), capability of detection ( $CC\beta$ ) and ruggedness have been determined using multivariate signals and a PARAFAC decomposition. A regression of the loadings related to sample mode versus true concentration has been carried out. Also others figures of merit (trueness, precision and specificity) which define the functional quality of an analytical method, have been determined according to Commission Decision 2002/657/EC [3].

The figures of merit evaluated for this method of analysis were:  $CC\beta$  between 1.5 and 6.5  $\mu$ g L<sup>-1</sup> for E1 and between 7.0 and 10.9  $\mu$ g L<sup>-1</sup> for EE2 with  $\alpha$  error 1 % and  $\beta$  error 5 % and one replicate;  $CC\alpha$  no upper than 4.0  $\mu$ g L<sup>-1</sup> and 6.5  $\mu$ g L<sup>-1</sup> respectively for probability of false positive equal 1 %.

With global model and using PARAFAC calibration, it is not necessary to use internal standarization, due to the second order properties of PARAFAC.

### Acknowledgments

The authors thank the Ministerio de Educación y Ciencia (Project CTQ2004-07216/BQU) and the Junta de Castilla y León (Project BU06/04) for financial support. David Arroyo thanks the Junta de Castilla y León for the FPI Grant.

### *References*

- [1] A. Shareef, M.J. Angove, J.D. Wells. *J. Chromat. A* 1108 (2006) 121-128.
- [2] Kai Zhang, Yuegang Zuo. *Anal. Chim. Acta* 554 (2005) 190-196.
- [3] 2002/657/EC Commission Decision of 12 August 2002, Implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. *Official Journal of European Communities* 17.8.2002.

## **Aplicación del MCR-ALS para la cuantificación de inhibidores de la transcriptasa inversa en mezclas de interés farmacéutico y clínico**

Antonio Checa <sup>a</sup>, Ramon Oliver <sup>b</sup>, Santiago Hernández-Cassou <sup>a</sup> i Javier Saurina <sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Departamento de Química Analítica, Universidad de Barcelona, y* <sup>b</sup> *Escuela universitaria de Ingeniería Técnica de Barcelona, Universidad Politécnica de Barcelona*

Desde la aparición en el mercado en el año 1989 de la zidovudina, primer fármaco capaz de producir una mejora en los pacientes seropositivos, se han comercializado numerosos medicamentos pertenecientes a diversas familias que han sido capaces de mejorar la calidad de vida de los pacientes hasta prácticamente equipararla a la de una persona sana.

Actualmente la terapia utilizada para combatir la infección recibe el nombre de TARGA (Tratamiento AntiRetroviral de Gran Actividad) y consiste en administrar al paciente mezclas de entre dos i cuatro fármacos de diversas familias. Por este motivo, se requieren nuevos métodos para la caracterización i determinación de estos fármacos en matrices de interés clínico.

La propuesta que aquí se presenta se basa en un sistema de análisis por inyección en flujo. Se aprovechan los cambios espectrales que experimentan los fármacos cuando son introducidos en un sistema con gradiente de pH. Los datos tridimensionales registrados por un detector de diodos en serie son analizados posteriormente mediante resolución de curvas basadas en mínimos cuadrados alternados (MCR-ALS). La determinación de los fármacos en las muestras se lleva a cabo utilizando matrices aumentadas por columnas que contienen los patrones y las mezclas a analizar. Se ha estudiado la influencia del blanco en el tratamiento de los datos utilizando dos estrategias: (i) modelado de las contribuciones del blanco y (ii) substracción de las contribuciones del blanco. Mediante estos sistemas pueden obtenerse errores inferiores al 10% para la cuantificación de inhibidores de la transcriptasa inversa en agua, plasma y orina.

## **Potencial de la tecnología NIRS para el control “on-line” de la composición y formulación de piensos a nivel de la mezcladora**

Elvira Fernández de Ahumada, Ana Garrido Varo, Dolores Pérez Marín y José Emilio Guerrero Ginel

*Departamento Producción Animal. Universidad de Córdoba*

### *1. Introducción*

La forma tradicional de uso de la Espectroscopía de Infrarrojo Cercano (Tecnología NIRS) a nivel de fábrica de piensos ha consistido en el muestreo manual y/o automático y posterior análisis de muestras fuera de la línea de producción. Esto es lo que se denomina control de calidad at-line, para el que la tecnología NIRS ha mostrado su capacidad de aplicación en materias primas y piensos, posibilitando la predicción instantánea de atributos tales como humedad, proteína, fibra, etc., así como del porcentaje de ingredientes (Garrido et al., 2002; Pérez et al., 2004). Sin embargo, últimamente ha habido un interés creciente por el desarrollo de aplicaciones on-line e in-line (Sahni et al., 2004, Paul, 2004). Este interés puede explicarse en gran parte por los avances acaecidos en instrumentación (Shenk, 2004), así como por las crecientes presiones de la industria para incorporar sistemas ágiles de aseguramiento de la calidad y de trazabilidad a lo largo de toda la cadena de producción. Dada la dificultad de abordar esto con estrategias clásicas de inspección y control documental, la tecnología NIRS se plantea como una alternativa que podría jugar un papel relevante en el control global del proceso, proporcionando una huella espectral digital y singular que, tratada de forma adecuada mediante métodos multivariantes, proporcionaría información cuantitativa y cualitativa relevante de materias primas y productos en diferentes puntos de la cadena de producción, sin necesidad de preparación ni destrucción de muestra (Garrido et al., 2003). Con el objetivo de demostrar el potencial del espectro de infrarrojo cercano para su uso on-line a lo largo de la cadena de transformación-producción, y su implementación en sistemas de trazabilidad en la industria de la alimentación animal, se plantea la tesis titulada “Control de materias primas, productos y procesos en la industria de la alimentación animal mediante espectroscopía de infrarrojo cercano”. En la citada Tesis Doctoral se enmarca el presente trabajo, el cual pretende mostrar la viabilidad de la tecnología NIRS para el control *on-line* de la composición y formulación de piensos a nivel de la mezcladora.

### *2. Material y métodos*

Se utilizaron cuatro muestras de piensos destinadas a distintas especies (ave, vacuno, porcino y ovino), procedentes de una fábrica de piensos compuestos con la que se mantiene una estrecha colaboración. De cada muestra se recibieron dos cantidades: 1Kg de muestra recogida a la salida de la mezcladora y 1Kg de muestra de producto final. Todas las muestras fueron analizadas por un espectrofotómetro de infrarrojo cercano y se obtuvo el espectro característico de cada una de ellas.



Los espectros obtenidos se utilizaron para la predicción de dos constituyentes analíticos (proteína y fibra bruta), así como del porcentaje de inclusión de dos ingredientes (harina de soja 44 y salvado). La ecuación desarrollada para dicha predicción contenía 433 muestras de piensos compuestos acabados (producto final) incluyendo una amplia variedad tanto en especies para las que fueron formulados como en formas de presentación (pellets, harina, migajas, galletas).

### 3. Resultados y discusión

La Tabla 1 presenta los resultados obtenidos para la predicción de los parámetros indicados. Como se observa, el análisis del pienso a nivel de mezcladora produce una información similar a la que se obtiene finalmente en el producto acabado. La estrategia hasta aquí expuesta exige el disponer de modelos quimiométricos cuantitativos y/o cualitativos para la obtención de información de la mezcla y del producto final, y que todavía precisan de ser mejorados, especialmente, para el caso de la predicción del porcentaje de ingredientes. Sin embargo, una estrategia menos costosa, desde el punto de vista analítico y metodológico, podría ser la basada en el uso de la información espectral *per se*, junto con información de control del proceso, para producir una respuesta *on-line* a nivel de la mezcladora, de forma que permita realizar correcciones a nivel de la misma que aseguren que el producto acabado cumple con las especificaciones. Esto, que es una realidad en la industria farmacéutica (Ritchie et al., 2003, Swarbrick, en prensa), precisa aún de un gran trabajo de I+D+i y de evaluación de metodologías analíticas ya contrastadas y estandarizadas, antes de ser implementado en la industria de la alimentación animal. Además, no es tarea fácil si tenemos en cuenta que un pienso es una matriz compleja, y que una determinada fórmula de un pienso, de una determinada composición química y con un valor energético y proteico concreto, puede obtenerse utilizando múltiples combinaciones de más de una decena de ingredientes individuales, todos ellos a su vez de composición variable debido principalmente a los factores agro-climáticos bajo los cuales se realizó su producción.

Tabla 1- Valores predichos para muestras a la salida de la mezcladora y producto final

<b>Muestras</b>	<b>Proteína</b>	<b>Fibra</b>	<b>Soja 44</b>	<b>Salvado</b>
Mezcla 1	14.66	6.88	4.14	10.28
Pienso 1	14.53	6.72	2.96	12.16
Mezcla 2	17.02	3.92	26.14	2.84
Pienso 2	17.07	3.73	21.12	4.74
Mezcla 3	16.60	3.97	23.95	1.51
Pienso 3	14.26	1.94	21.25	2.03
Mezcla 4	15.86	6.64	9.09	11.44
Pienso 4	15.66	6.69	6.02	11.74

A pesar de ello, quisimos conocer el potencial del análisis multivariante y, particularmente, el cálculo de distancias espectrales para proporcionar información de la consonancia de la mezcla y del producto acabado. Para ello se procedió a la realización de un análisis de Componentes Principales (CPs) y al posterior cálculo de la distancia Global (GH) y la distancia de vecinos (NH) de las muestras tomadas a nivel de mezcladora y a nivel de producto acabado (Tabla 2).

Tabla 2. Valores de GH y NH de las muestras de pienso recogidas a la salida de la mezcladora y antes de ensacar el producto final.

<b>Muestras</b>	<b>GH</b>	<b>NH</b>
Mezcla 1	1.417	0.880
Pienso 1	1.300	0.792
Mezcla 2	1.434	0.724
Pienso 2	0.610	0.389
Mezcla 3	1.315	0.881
Pienso 3	1.888	0.856
Mezcla 4	1.136	0.516
Pienso 4	1.067	0.801

Los resultados de la Tabla 2 indican que a nivel espectral las muestras de mezclas y el producto final son similares, lo cual permitiría actuar en el punto de salida de mezcladora en caso de que no se cumpliera las especificaciones de producto, y así corregir los posibles errores antes de obtener el producto final. Los estadísticos GH y NH pueden ser asimismo utilizados para la verificación de la conformidad entre mezcla y producto acabado, si bien, aún son numerosos los aspectos a conocer y optimizar para dicho fin.

#### 4. Referencias

Garrido A., Pérez-Marín D., Guerrero J.E., Gómez A., De Paz F. and Delgado N. 2002. Near infrared reflectance spectroscopy as an essential tool in food safety programmes: predicting ingredients in commercial compound feed. In: Near Infrared Spectroscopy: Proceedings of the 10th International Conference. Davies A.M.C. and Cho R.K. (Eds.). NIR Publications, Chichester, West Sussex, UK pp. 145-150.

Garrido A., Pérez Marín D., Guerrero Ginel J.E., y Gómez Cabrera A. 2003. Avances en la utilización de la tecnología NIRS. Aplicaciones en producción animal. Avances en Nutrición y Alimentación Animal. FEDNA. P. G<sup>a</sup> Rebollar, C. de Blas Beórlegui y G.G. Mateos. FEDNA. 200, pp: 3-27.

Paul C. 2004. Shaping the future use of NIR sensors on agricultural harvester. In: Embedded Near Infrared Spectroscopy, NIR goes to the fields. 2nd International Conference on Embedded NIR. CRA-W, Gembloux. Belgium.

Pérez Marín D., Garrido Varo A., Guerrero Ginel J.E., Gómez Cabrera A. 2004. Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) for the mandatory labelling of compound feedingstuffs: chemical composition and open declaration. *Animal Feed Science & Technology*, Vol.(116) 333.

Ritchie G.E., Mark H. and Ciurczak E. W. 2003. Evaluation of the Conformity Index and the Mahalanobis Distance as a tool for Process analysis: A technical note. *AAPS PharmSciTech*. 4 (2) Article 24.

Sahni N.S., Isaksson T. and Naes T. 2004. In-line near infrared spectroscopy for use in product and process monitoring in the food industry. *J. Near Infrared Spectrosc.* 12, pp. 77-83.

Shenk J.S. 2004. Are we there yet?. In: Embedded Near Infrared Spectroscopy, NIR goes to the fields. 2nd International Conference on Embedded NIR. CRA-W, Gembloux. Belgium.

Swarbrick, B. Process analytical technology: A strategy for keeping manufacturing viable in Australia. *Vibrational Spectroscopy* (in press).

## **Optimización y transferencia computerizada de separaciones en HPLC**

J. García-Lavandeira, J. A. Martínez-Pontevedra, M. Lores, R. Cela

*Universidad de Santiago de Compostela. Instituto de investigación y análisis alimentarios.  
Departamento de Química Analítica*

En el momento actual, la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es una técnica firmemente establecida. La automatización del desarrollo de los métodos de trabajo y su optimización, es un objetivo importante. Sin embargo, el desarrollo de los métodos analíticos por HPLC requiere un alto grado de conocimiento especializado debido al número tan elevado de parámetros de tipo físico-químico y operacional controlables por el operador que, paradójicamente, a la vez que dotan a la técnica de unas posibilidades prácticas excepcionales para resolver una enorme variedad de problemas, complican también de forma excepcional su optimización.

Una de las líneas de trabajo que desde hace ya un buen número de años se desarrolla en el laboratorio de Química Analítica del Instituto de Investigación y Análisis Alimentarios, consiste en el desarrollo de herramientas quimiométricas eficientes en la optimización off-line de separaciones por cromatografía líquida. En particular, el trabajo se ha orientado hacia la creación de modelos de retención robustos como pieza clave para el desarrollo de procedimientos de optimización computerizada realmente prácticos y versátiles.

Existen actualmente aplicaciones comerciales para efectuar el desarrollo de métodos asistido por computador, aunque su aceptación dista mucho de ser mayoritaria, quizás porque se perciben como oscuras herramientas quimiométricas que exigen al cromatografista un conocimiento especializado adicional en esta rama de la química, lo que complica todavía más el problema. Una de las dificultades que se presentan en el desarrollo de estos sistemas computerizados es la necesidad de expresar numéricamente la calidad de una separación, de modo que la computadora pueda distinguir entre separaciones “más y menos” buenas para guiarnos hacia el óptimo. Otro tipo de limitaciones obvias es que asumen ciertas simplificaciones y exigencias que no siempre son coincidentes con las circunstancias del problema analítico a resolver. Debido a estos problemas, en general, está bastante extendida en los laboratorios la idea de que los sistemas de desarrollo computerizado de métodos “sólo funcionan con los ejemplos del manual del programa, pero no con problemas reales”. Se trata pues de un campo en el que existen un buen número de opciones y posibilidades todavía por explorar y donde es necesario efectuar un esfuerzo considerable no solamente para desarrollar nuevas herramientas más eficaces y soportarlas mediante una base teórica sólida, sino también para que estas nuevas herramientas sean “aceptables” para los cromatografistas prácticos. Solo cumpliendo estas dos condiciones se lograrán avances reales en este campo.

Intentando tener siempre presente estas dos premisas, hemos desarrollado PREGA, un paquete de aplicaciones informáticas capaz de simular cualquier tipo de separación tanto isocrática como

mediante gradiente, independientemente del perfil de elución seleccionado, que ha venido siendo desarrollado y distribuido gratuitamente durante este tiempo.

Algunas de las aplicaciones que se han implementado en PREGA:

Para realizar la optimización con PREGA lo primero que hay que hacer es generar un proyecto que contenga las especificaciones necesarias para la generación y utilización de modelos de retención. Para ello se gestionan los datos de inicialización mediante una base de datos en la que hay que introducir los parámetros referidos al sistema instrumental, los nombres de los compuestos que forman la mezcla y los tiempos de retención isocráticos de cada compuesto con los que se construirá el modelo de retención. Una vez introducidos los datos del proyecto, el programa construye los modelos de retención para cada pico; y una vez construidos, se lleva a cabo el proceso de validación, que consiste en verificar que el sistema es capaz de predecir con exactitud los tiempos de retención de las especies de la mezcla para eluciones programadas. Una vez tenemos el modelo creado y validado, PREGA utiliza un modelo matemático basado en algoritmos evolutivos genéticos como motor de búsqueda de gradientes de separación óptimos. Cuando finaliza el proceso de búsqueda, podemos abrir la ventana del “manipulador de gradientes”, donde podemos realizar simulaciones utilizando cualquier curva de perfil de gradiente, escoger la composición inicial y final, la temperatura, y también como novedad en este tipo de herramientas, programar cambios de flujo.

1. Combinación simultánea de programación de disolventes y programación de flujo para la resolución de mezclas complejas:

La influencia de un cambio de flujo en eluciones isocráticas puede preverse de modo inmediato ya que existe una relación lineal entre el flujo de fase móvil y la retención del compuesto.

La programación de flujo en eluciones isocráticas no plantea mayores problemas puesto que los cambios de flujo en el sistema no alteran la selectividad en la separación. De este modo, las consecuencias de las modificaciones introducidas pueden ser fácilmente previstas y con ello, aprovechar las ventajas de dicha posibilidad.

Sin embargo, la programación de flujo en eluciones por gradiente no mantiene la selectividad, ya que ésta, generalmente, está cambiando al hacerlo la fuerza eluyente de la fase móvil y por tanto, en muchas ocasiones, los resultados no son previsibles. La opción de prueba y error es siempre poco aconsejable y raramente el cromatografista está dispuesto a perder el tiempo necesario para comprobar esta opción, lo que hace que la posibilidad de modificar el flujo durante la ejecución de un gradiente sea una opción prácticamente inexplorada tanto en la bibliografía como en la práctica usual del laboratorio. No obstante, la posibilidad de simular este tipo de eluciones ahorra mucho trabajo y permite evaluar en qué circunstancias un cambio de flujo puede ser realmente útil para el cromatografista y todo ello, sin necesidad de realizar ningún experimento adicional.

2. Transferencia de programas de elución de unos equipos a otros de diferentes características instrumentales y/o columnas logrando mantener la separación original

Tal y como se ha comentado anteriormente, la optimización de un método para obtener las separaciones deseadas puede ser en ocasiones una tarea tediosa y complicada. Por ello, una vez que el cromatografista logra optimizar un método, le sería de gran ayuda poder conservar las separaciones aunque se varíe de equipo.

Al cambiar de equipo cromatográfico, se produce una variación del volumen de desfasaje, lo que provoca notables cambios en los tiempos de retención de los compuestos. Para dar solución a este problema se ha desarrollado TRANSFER, una aplicación que, partiendo de un modelo de retención creado previamente en PREGA, permite modificar el programa de elución automáticamente para mantener los tiempos de retención de una determinada separación al cambiar de un equipo a otro de volumen de desfasaje diferente, tanto de mayor como de menor volumen que el inicial, de cualquier tipo de elución en gradiente.

Para conservar los tiempos de retención de una determinada separación al pasar a un volumen de desfasaje superior, la búsqueda de las nuevas condiciones se hace también en este caso empleando algoritmos genéticos, ya que es imposible disminuir el volumen de desfasaje intrínseco del equipo.

Cuando se trata de cambiar a un volumen de desfasaje inferior al original, simplemente se adiciona el nuevo volumen de desfasaje a la primera etapa del gradiente.

3. Simulaciones con columnas cromatográficas de diferentes dimensiones (diámetro interno y longitud), a partir de datos experimentales de sólo una de ellas.

Los modelos de retención generados con PREGA, no quedan restringidos a la columna e instrumento con los que fueron adquiridos los datos isocráticos iniciales, sino que puede desarrollarse para otras columnas, lógicamente equivalentes en cuanto a selectividad, aunque no necesariamente en cuanto a retención y desde luego, con dimensiones e instrumentos diferentes. Este nuevo planteamiento se ha validado y verificado experimentalmente realizando simulaciones con columnas cromatográficas de diferentes dimensiones (diámetro interno y longitud), a partir de datos experimentales de columnas con el mismo relleno y pertenecientes al mismo lote.

Los resultados, con los distintos modelos de retención generados son satisfactorios, lo que supone una reducción sustancial tanto de tiempo como de costo para resolver problemas de separación en cromatografía líquida.

## **In situ quantitative monitoring of epoxy resins reactions by near infrared spectroscopy and multivariate curve resolution.**

M. Garrido, M. S. Larrechi, F. X. Rius

*Universitat Rovira i Virgili*

Epoxy-amine polymers are often used in the industry and medicine because of their good mechanical and physical properties. In these applications, the curing process of the epoxy resins affects the network structure and, hence, determines the final physical properties [1]. Consequently, there is a need for a more detailed understanding of the structure-property relationship in order to control the curing economically and to optimise the properties of the final product. Near infrared spectroscopy (NIR) in combination with multivariate curve resolution methods, has demonstrated to have a great potentiality for monitoring epoxy resins reactions, so the concentration profiles of each species involved in the reaction and the corresponding pure spectra can be estimated [2]. In this study, the model reaction between phenylglycidylether (PGE) and aniline was monitored in situ by NIR. Five different process runs starting from different initial conditions, by modifying PGE/aniline molar ratio, were designed (1:1, 1.25:1, 1.5:1, 1.75:1, 2:1). Multivariate Curve Resolution-Alternating Least Squares (MCR-ALS) was used to simultaneously analyze the five sets of NIR data in order to obtain the corresponding kinetic profiles and the only one spectral profile, in common for the five experiments. The recovered spectral profile was used as a calibration model to predict, at any time, the concentration of the species in new reactions eventually performed with any PGE/aniline molar ratio (between 1:1 and 2:1). The simple procedure consists of recording, at a certain time, a single spectrum for the reacting mixture and using the model to obtain the concentration of each species. The same samples were analyzed by both the proposed method and HPLC, and the results were statistically comparable ( $\alpha = 5\%$ ).

### *References*

- [1] C. A. May, Epoxy Resins, Marcel Dekker, New York, 1988.
- [2] Izquierdo-Ridora A, Saurina J, Hernandez-Cassou S, Tauler R. Chemom. Intell. Lab. Syst. 38 (1997) 183.

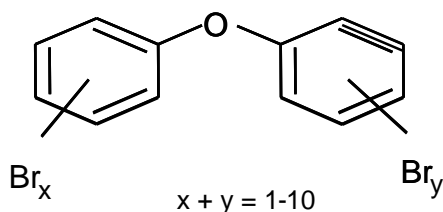
## Estudi de la fotodegradació del decabromodifenil èter mitjançant Espectrofotometria UV i resolució multivariant de corbes amb modelatge híbrid (flexible- rígid).

Sílvia Mas<sup>1</sup>, Anna de Juan<sup>2</sup> and Romà Tauler<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dept. Of Environmental Chemistry. IIQAB-CSIC i <sup>2</sup> Chemometrics group. Universitat de Barcelona

Els difenil èters polibromats (PBDEs) són compostos químics manufacturats que retarden el foc i que s'addicionen a productes de polièster, plàstic i escumes per tal de dificultar la seva combustió. Aquests compostos no s'uneixen químicament als materials als que s'addicionen i, en conseqüència, migren lentament cap el medi ambient. El seu elevat consum comporta que aquests compostos es distribueixin de forma difusa, començant a representar un problema greu per al medi ambient i una potencial amenaça per a la salut pública <sup>1</sup>.

Els PBDEs constitueixen una sèrie de compostos aromàtics bromats d'estructura bàsica formada per dos anells benzènics units per un àtom d'oxigen. El patró de substitució bromat per a cadascun dels anells pot variar i donar lloc a un total de 209 possibles congèneres que es divideixen en deu grups d'homòlegs segons el grau de bromació de la molècula (**Figura 1.**). Donada la seva similitud estructural amb la família dels PCBs, els diferents congèneres de PBDEs són numerats segons el sistema proposat per la IUPAC.



**Figura 1.**

El difenil èter decabromo (BDE-209) és actualment el PBDE més utilitzat <sup>2</sup>, però els congèneres amb un nombre més petit de broms són els més trobats en el medi ambient. Per tant, existeix una certa evidència de que els PBDEs amb un nombre elevat de broms es degraden a congèneres amb un nombre més petit de broms sota certes condicions, com ara l'exposició a la llum <sup>3</sup>.

Atenent aquesta evidència, s'ha estudiat la fotodegradació del BDE-209 mitjançant espectrofotometria d'absorció UV per tal d'avaluar la seva cinètica i la formació de congèneres amb un nombre més petit de broms. Amb la finalitat d'estudiar l'efecte de la polaritat en la cinètica de degradació, s'han dut a terme els experiments utilitzant diferents proporcions d'aigua en el solvent. D'aquesta manera s'intenta incrementar el coneixement del mecanisme de degradació i de la distribució del BDE-209 en el medi ambient. Per altra banda, s'han iniciat simultàniament estudis d'interpretació i determinació dels productes de degradació mitjançant GC-MS.

S'ha aplicat un mètode d'anàlisi multivariant de dades mitjançant tècnica de modelatge híbrid (rígid i flexible) <sup>4</sup> per a la resolució dels perfils de concentració i dels espectres purs de les espècies



formades, així com per avaluar els paràmetres cinètics. Aquest mètode és una variant del mètode clàssic de resolució multivariant de corbes per mínims quadrats alternats (MCR-ALS)<sup>5</sup>, el qual aplica restriccions de tipus flexible. En aquest treball, aquest mètode clàssic incorpora una nova restricció de tipus rígid que força alguns o tots els perfils de concentració de les espècies formades a seguir un model cinètic. En aquest cas, el model cinètic proposat es basa en un sistema de reaccions consecutives de primer ordre a partir de la successiva pèrdua d'un o diversos broms.

El modelatge híbrid combina els avantatges que presenten el modelatge rígid i el modelatge flexible i supera algunes de les limitacions que presenten aquestes metodologies quan s'utilitzen individualment. Així, aconsegueix: a) disminuir les ambigüitats rotacionals associades als perfils de concentració, b) modelar de forma flexible la presència d'aquelles espècies que no estan presents en el model cinètic, però que presenten resposta instrumental i c) realitzar l'anàlisi simultània d'experiments cinètics realitzats sota condicions diferents (amb constants cinètiques diferents).

Els resultats preliminars obtinguts en aquest estudi són:

1. La descripció de la fotodegradació del BDE-209 a partir de la variació amb el temps dels espectres UV-DAD i dels cromatogrames GC-MS .
2. L'estimació dels perfils de concentració i dels espectres purs dels diferents productes de degradació, així com les constants de velocitat associades al procés, a partir de l'aplicació del mètode de resolució híbrid (rígid-flexible) proposat. També s'han pogut modelar espècies que no estan involucrades dins el model cinètic proposat.
3. A partir de l'anàlisi simultània d'experiments realitzats a diferents proporcions d'aigua en el solvent, s'ha pogut estimar l'efecte de la polaritat del solvent en la fotodegradació del BDE-209. S'observa una petita disminució de les constants de velocitat quan augmenta la proporció d'aigua en el solvent.

### References

- 1 De Wit. C. A. ; *Chemosphere* **2002**, 46, 583-624.
- 2 Bromine Science and Environmental Forum (BSEF) website: [http:// www.bsef.com](http://www.bsef.com)
- 3 G. Söderström, U. Sellström, C.A. De Wit and M Tyskilind; *Environ. Sci. Technol.* **2004**, 38, 127-132
- 4 A. de Juan, M. Maeder, M. Martínez and R. Tauler; *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2000**, 54, 123-141
- 5 R. Tauler, B.R. Kowalski, S. Flemming *Anal. Chem.* **1993**, 65, 2040-2047

## Internal Quality Control Harmonized for Validated Analytical Methods

E. Bonet-Domingo <sup>a</sup>, L. Escuder-Gilabert, M.J. Medina-Hernández, S. Sagrado \*

*Departamento de Química Analítica, Universitat de València y <sup>a</sup> General de Análisis Materiales y Servicios (GAMASER) S.L., Valencia*

### 1. Introduction

Among others, three main quality aspects for analytical laboratories are (internal) method validation, sample result uncertainty and (internal) quality control (IQC). <sup>1,2</sup> The most used IQC tools are the control charts, mainly the control chart for the mean (also known as X-bar, Shewhart or simply mean chart). <sup>3</sup> Critic aspects of the mean chart with chemical analysis data have been deeply revised. <sup>3</sup> Concretely, using classical IQC criteria the false alarm probability (to declare that the method is out-of-control when in fact is in-control) becomes too large. As a result, the quality managers tend to avoid using such control charts. In the past, these quality aspects have been treated separately. Fortunately, approaches to harmonize the internal validation-uncertainty process have been reported, <sup>4,5</sup> however, there is a lack of harmonization on the validation-control-uncertainty one.

An optimized experimental design for assessing accuracy (bias and intermediate precision) is performing  $N_r$  replicates along  $N_s$  series (involving different days and/or analysts and/or equipments etc.; usually referred as 'runs'). The analyses of the  $\mathbf{X}_{N_r \times N_s}$  data matrix by means of ANOVA allows precision statistics estimation ( $s_r, s_{run}, s_\mu = s_{mean}$ ) <sup>5</sup>. To assessing bias, references provide an accepted true value and its associated uncertainty. For instance, if a CRM ( $\mu_{CRM} \pm u_{RM}$ ) used in the method validation stage, the contribution of bias and traceability to CRM can be joined to the repeatability and run effects, to calculate the 'absolute uncertainty' ( $u$ ) <sup>2,4,5</sup>. Traditionally, some preliminary IQC work ('training stage' or 'phase I') must be undertaken to establish reliable estimates of the process mean and standard deviation ( $\mu, S$ ). The estimation of  $CL$  (i.e.  $CL = \mu$  <sup>3</sup> or  $CL = \mu_{CRM}$  <sup>6</sup> strategies) and  $S$  (i.e. classical <sup>7</sup>, eqs. 1-3 in Table 1, or the RSC Analytical Methods Committee <sup>8</sup> proposal from the moving range,  $MR$ , Nelson's suggestion <sup>9</sup>, eq. 4 in Table 1) still deserves more attention.

### 2. Results and discussion

We propose an approach (the  $u$ -approach, eq 5 in Table 1) to estimate  $S$  that allows to harmonize the validation-control-uncertainty process. Some changes have to be made respect to classical

approaches: (i) The phase I-control data should be avoided by using the validation data (**X** matrix). (ii) the same CRM used for assessing accuracy must be used as control material. (iii) The same between-run variables (say day, analyst, equip) used along sample routine analyses must be accounted in the validation and phase II-control stages. (iv) *S* has to be estimated from uncertainty information, which comes from validation data, and *Nrc* (replicates in the phase II-control stage).

Table 1 summarizes the main conclusions obtained after simulation, bibliographic<sup>6</sup> and real laboratory data analyses by all the approaches.

**Table 1.** Comparison of some approaches to control validated methods by means the mean chart

Name and Eq.	Uncertainty sources	Limitation	Recommendation
SEM-approach: $S = \sqrt{\frac{\sum (SEM_j)^2}{N_s}}$ (1)	Repeatability	High $RSD_{run}$ methods	Avoid its use for chemical analysis data
Range-approach: $S = \left( \frac{\sum Range_j}{N_s} \right) / (d_2 \times \sqrt{Nr})$ (2)	Repeatability	High $RSD_{run}$ methods	Avoid its use for chemical analysis data
s-approach: $S = \left( \frac{\sum s_j}{N_s} \right) / (c_4 \times \sqrt{Nr})$ (3)	Repeatability	High $RSD_{run}$ methods	Avoid its use for chemical analysis data
MR-approach: $S = \left( \frac{\sum MR_j}{N_s - 1} \right) / 1.128$ (4)	Runs	High- $RSD_r/RSD_{run}$ methods	Use it strictly combined with $CL = \mu$ . Contrast it with <i>u</i> -approach.
<i>u</i> -approach (proposed): $S = u = \sqrt{s_{run}^2 + s_r^2 / Nrc + s_\mu^2 / N_s + u_{CRM}^2}$ (5)	Intermediate precision (repeatability and run) Trueness assessment Reference material	None	Use it, optionally, combined with $CL = \mu_{CRM}$

## References

- (1) ISO/IEC 17025. *General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories*; ISO, Geneva, 1999.
- (2) Sagrado, S.; Bonet, E.; Medina, M. J.; Martín, Y. *Manual Práctico de Calidad en los Laboratorios. Enfoque ISO 17025*; Ediciones AENOR, 2<sup>nd</sup> Ed.: Madrid, 2005.
- (3) Mullins, E.; *Statistics for the Quality Control Chemistry Laboratory*; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2003.
- (4) Hund, E.; Massart, D. L.; Smeyers-Verbeke, J. *Trends Anal. Chem.* **2001**, *8*, 394-406.
- (5) Maroto, A.; Riu, J.; Boqué, R.; Rius, F.X. *Anal. Chim. Acta* **1999**, *391*, 173-185.
- (6) Miller, J.N.; Miller, J.C. *Statistics and chemometrics for analytical chemistry*. Prentice Hall: Harlow, 2000. (p. 85-87).
- (7) Massart, D.L.; Vandeginste, B.M.G.; Buydens, L.M.C.; De Jong, S.; Lewi, P.J.; Smeyers-Verbeke, J. *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics*, part A. Elsevier: Amsterdam, 1997.

- (8) RSC Analytical Methods Committee. AMC Technical Briefs No. 12, March 2003. Available from:  
[http://www.rsc.org/lap/rsccom/amc/amc\\_techbriefs.htm](http://www.rsc.org/lap/rsccom/amc/amc_techbriefs.htm)
- (9) Nelson L. S. *J. Quality Technol.* **1982**, *14*, 172-173.

## **Description of olfactory perception space by multivariate analysis of odor profiles**

Manuel Zarzo, David T. Stanton

*Departamento de Estadística e Investigación Operativa Aplicadas y Calidad, Universidad Politécnica de Valencia*

Smell is very difficult to describe, measure and predict, and consequently perfume research is still rather empirical. Odor profile databases contain valuable information that may lead to certain standards in odor description and classification if they are properly analyzed. The most comprehensive databases publicly available are based on semantic profiles, that describe odors by means of odor character descriptors. In a previous study we applied Principal Component Analysis (PCA) to a database of 881 perfume materials. Each material was described with a few terms out of a list comprising 82 odor descriptors. The results suggested the classification of descriptors into 17 odor classes (Zarzo and Stanton, 2006).

Another method of odor description is rating on a numeric scale the applicability of a set of descriptors. This is the case of the Dravnieks' Atlas, that comprises 160 odorant samples (138 pure chemicals and some mixtures) selected to develop a varied odor character information ranging from very pleasant to very unpleasant odors. Data were collected from 120-140 panelists, that were provided with a list of 146 commonly used odor descriptors. Each panelist smelled the sample and produced a numeric odor profile by assigning a score to each descriptor (Dravnieks, 1985). The same 146 terms were used in a similar study. A factorial analysis of that database allowed the classification of attributes into 17 clusters, and 10 descriptors were considered as intermediate of two odor classes (Jeltema and Southwick, 1986). The Dravnieks' Atlas may provide valuable information regarding the dimensionality of odor perception. However, although this database was published 3 decades ago, few statistical efforts have been conducted to analyze the data.

In the present work we applied PCA to Dravnieks' odor profiles. Data were arranged in a matrix of 160 observations (odorant samples) by 146 variables (odor descriptors). The inspection of loading plots using different combinations of components allowed the identification of similar odors. Only 7 components were statistically significant according to cross-validation criterion, and accounted for about 44% of the total data variance. Further components were associated to a number of observations too low to define a significant component. In these cases, the results were compared with similar studies reported in the literature in order to determine if the information reflected by the loading plots was relevant. As a result, 95 descriptors were regrouped in 23 odor classes. Most of the remaining descriptors were considered as odors intermediate of two or three classes. The similarities between classes were studied with a further multivariate analysis based on latent variables. Our results are consistent with other reported statistical analyses of odor profile databases, revealing that olfactory perception is governed by about 20-30 dimensions and it is better described as a continuum rather than as a segmented space. Thus, any consensus to classify odors in a restricted number of classes seems difficult to achieve. Instead, we propose some clusters of similar odor descriptors,

regarding the rest as intermediate smells. This idea may guide further studies towards the development of a better description of olfactory perception space.

### *References*

Dravnieks, A. (1985) Atlas of Odor Character Profiles, Data Series DS 61. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA.

Jeltema, M.A. and Southwick, E.W. (1986) Evaluations and application of odor profiling. J. Sens. Stud., 1, 123-136.

Zarzo, M. and Stanton, D.T. (2006) Identification of latent variables in the odor perception space with principal component analysis. Chem. Senses, 31, 713-724.

## **PÓSTERES**





## **Caracterización de fármacos inestables mediante valoraciones espectro-fotométricas en flujo continuo y posterior tratamiento quimiométrico de los datos**

Anna Argemí, Javier Saurina

*Departament de Química Analítica. Universitat de Barcelona.*

En este trabajo, proponemos un sistema para la realización de valoraciones en flujo continuo para el estudio de las propiedades ácido-base de fármacos inestables. Este tipo de caracterizaciones son de gran interés en el campo farmacéutico y clínico, ya que el comportamiento ácido-base determina la absorción del fármaco. En este estudio hemos elegido como fármaco modelo la 5-azacitidina, un nucleósido análogo de la citidina usado como anticancerígeno. La 5-azacitidina es inestable en disoluciones acuosas [1] y descompone rápidamente en medio básico. De este modo, las valoraciones ácido-base convencionales no son adecuadas para la determinación de constantes de acidez, ya que se produce la degradación del fármaco durante la realización del experimento.

La valoración propuesta se realiza en un sistema en flujo continuo mediante el cual se mezcla una disolución acuosa de 5-azacitidina recién preparada con la disolución valorante [2]. La composición de ésta se modifica en línea durante el experimento mediante la variación de la proporción de las soluciones ácida y básica. De esta manera, el tiempo de contacto entre el analito y la disolución valorante es suficientemente corto para evitar cualquier descomposición, incluso a valores de pH básicos. Mediante este sistema, el valor de pH puede variarse fácilmente en un intervalo de 1 a 13, aproximadamente.

Se han comparado los resultados de las valoraciones espectrofotométricas en flujo continuo con aquéllos obtenidos mediante valoraciones espectrofotométricas convencionales. La resolución multivariante de curvas por mínimos cuadrados alternados se ha usado para explorar los datos y conocer las contribuciones asociadas a las diferentes especies. El número de especies presentes en las valoraciones convencionales es más alto que en las valoraciones en flujo continuo. Así pues, se confirma la presencia de especies adicionales correspondientes al proceso de degradación que ocurre en paralelo a la valoración convencional. En conclusión, la viabilidad, robustez y exactitud de los valores de  $pK_a$  calculados en las valoraciones en flujo continuo son superiores a aquéllos obtenidos a partir de otros métodos convencionales [3].

### *Referencias*

[1] Beisler J. A., Journal of Medicinal Chemistry, 1978, Vol. 21, 204.

[2] Saurina J., Hernández-Cassou S., Tauler R., Analytica Chimica Acta, 312 (1995) 189.

[3] Romanová D., Novotný L., Journal of Chromatography B, 675 (1996) 9.

## **Determinació mitjançant anàlisi per injecció en flux amb generació de gradient de pH i tractament quimiomètric de les dades de fàrmacs antirretrovirals en mesclades d'interès clínic i farmacèutic**

Antonio Checa, Ramon Oliver, Santiago Hernández-Cassou, Javier Saurina

La teràpia contra el VIH es basa en la combinació de tres o més fàrmacs antiretrovirals. Això fa que es requereixin mètodes analítics per a un eficient control dels pacients. Amb aquest propòsit s'han desenvolupat mètodes basats en la cromatografia de líquids amb detecció UV i espectrometria de masses i electroforesi capil·lar [1,2,3].

En aquest estudi es desenvolupa un mètode d'anàlisi per injecció en flux per a la determinació de mesclades de fàrmacs d'interès terapèutic. Aquest mètode està basat en les diferències espectrals entre les espècies àcida i bàsica dels fàrmacs. En particular s'estudia la caracterització i quantificació de mesclades de fàrmacs pertanyents a diferents grups terapèutics com els inhibidors de la transcriptasa inversa (ITANs, ITINNs) i de la proteasa (IPs). Per exemple s'han analitzat, mesclades binàries de zidovudina + didanosina i ternàries de zidovudina + zalcitabina + nevirapina en matrius aquoses, plasmàtiques i d'orina.

El muntatge d'anàlisi per injecció en flux utilitzat consisteix en un sistema de dos canals en el qual s'injecten 200 µl de mostra en un transportador. La dissolució àcida es mescla a la dissolució de bases i tenen lloc processos de neutralització en un helicoide de reacció de 100 cm x 0.5 mm de diàmetre intern acoblat a una cel·la de detecció de flux continu. Les reaccions àcid-base entre el transportador i la dissolució bàsica són les responsables de la generació del gradient de pH. Amb aquest disseny, el pH mínim s'assoleix als extrems de la mostra i creix fins a un màxim al centre del pic[4].

Les dades espectroscòpiques generades han estat tractades mitjançant un mètode de resolució multivariant de corbes basada en mínims quadrats alternats (MCR-ALS). S'han avaluat diverses estratègies de calibratge. Els errors de quantificació de mostres binàries i ternàries es troben al voltant del 5-10% [5].

### *Referències*

- [1] A.S. Pereira, et al., J. Chromatogr. B, 764 (2001) 327.
- [2] V. Bezy, et al., J. Chromatogr. B, 821 (2005) 132.
- [3] W. Gutleben, et al., Electrophoresis, 24 (2003) 662.
- [4] J. Saurina, et al., Anal. Chim. Acta, 408 (2000) 135.
- [5] A. Checa, et al., Anal Chim Acta, 572 (2006) 155.

## **Nuevas estrategias destinadas a tratar problemas de no linealidad, multicolinealidad y ruido en calibración multivariada. Aplicación a problemas de calibración en la espectroscopía NIR.**

C. Sáenz-González, I. Esteban-Díez, J.M. González-Sáiz, C. Pizarro-Millán

*Universidad de La Rioja*

El objetivo del presente trabajo es proponer nuevas metodologías de calibración y pre-procesado de datos destinadas a tratar ciertos problemas normalmente encontrados en calibración multivariada (no linealidad, multicolinealidad y/o presencia de variación sistemática no relacionada con la respuesta a modelar) que afectan significativamente a la calidad de los modelos de regresión finalmente construidos. Las prestaciones de cada una de las estrategias propuestas se han testado mediante su aplicación a diversos problemas NIR de calibración multivariada. Las aplicaciones concretas consideradas fueron específicamente seleccionadas para evaluar el funcionamiento de los nuevos métodos dado que, en todas ellas, surgió la necesidad de recurrir a técnicas de regresión o de pretratamiento de datos alternativas a los métodos convencionales, ya sea debido a la existencia de una no linealidad apreciable en el sistema como a la presencia de un elevado grado de colinealidad entre medidas espectrales y/o de fuentes sustanciales de variación sistemática no significativa, con el fin de mejorar la fiabilidad y robustez de los modelos de calibración resultantes.

En las últimas décadas, los modelos lineales han dominado indiscutiblemente la mayor parte de las aplicaciones de calibración multivariada bajo la suposición de que los fundamentos físico-químicos subyacentes al modelo de regresión construido mostraban una relación lineal con la respuesta. No obstante, en la práctica, existen numerosas situaciones en las que la presencia de no linealidad (intrínseca o extrínseca) requiere la aplicación de métodos de calibración específicamente no lineales (o de corrección de no linealidades). En este contexto, la técnica de regresión no lineal conocida como el método de las esperanzas condicionales alternadas (Alternating Conditional Expectations, ACE) no ha sido prácticamente utilizada en aplicaciones de modelado no lineal (a pesar de ser una herramienta muy potente y con un gran potencial) puesto que, para ser capaces de obtener resultados fiables con el método ACE original, el número de objetos de entrenamiento utilizados en la construcción del modelo debe superar ampliamente el número de variables considerado. Por lo tanto, resulta factible plantearse el desarrollo de un método basado en el algoritmo ACE pero incluyendo ciertas modificaciones destinadas a solventar las limitaciones de aplicabilidad asociadas a la técnica original. A tal efecto se ha desarrollado un nuevo método de regresión no lineal, denominado regresión sobre esperanzas condicionales alternadas con selección de predictores significativos mediante algoritmos genéticos (Alternating Conditional Expectations regression with selection of significant predictors by Genetic Algorithms, GA-ACE). Uno de los aspectos cruciales del método GA-ACE radica en la aplicación conjunta del algoritmo ACE original y una técnica de compresión de datos eficaz como GAs. El método GA-ACE supone una generalización del método ACE original, y permite abordar un determinado problema de calibración

no lineal a través de dos posibles aproximaciones (incluso en conjuntos de datos con un bajo valor de la relación objetos/variables): NIPALS-GA-ACE, que permite llevar a cabo una compresión de los datos mediante NIPALS previa a la aplicación del procedimiento de calibración; y GA-ACE que trabaja directamente sobre las variables predictoras originales. En lo que respecta al conjunto de datos considerado para evaluar las prestaciones de la técnica, la naturaleza intrínsecamente no lineal de algunas de las bandas NIR atribuibles a absorciones del agua y los lípidos contenidos en muestras de café tostado, así como la contribución de efectos de dispersión asociados a la espectroscopía NIR de reflectancia difusa (fuente adicional de no linealidad extrínseca) justificaron la aplicación de una técnica de regresión no lineal como GA-ACE. Para ambas respuestas y entre los diversos métodos de calibración testados, los mejores resultados se consiguieron al aplicar las dos aproximaciones de calibración no lineal que permite adoptar el método GA-ACE sobre las señales previamente transformadas en sus espectros derivados, logrando una considerable disminución de los errores mostrados tanto en calibración como en predicción externa. Merece especial mención la calidad sustancialmente mejorada de los modelos GA-ACE no lineales construidos para predecir ambas respuestas en base a un reducido número de longitudes de onda seleccionadas mediante GAs, no sólo debido a la optimización conseguida en términos de capacidad predictiva y a la ausencia de un apreciable grado de sobre-ajuste, sino también debido a la simplificación que suponen en términos de complejidad.

Por otra parte, el método de pre-procesado de señales denominado método de corrección ortogonal mediante wavelet (Orthogonal WAVElet Correction, OWAVEC) se desarrolló en un intento por satisfacer conjuntamente dos necesidades cruciales en calibración multivariada: la corrección de señales y la compresión de datos. Las características específicas que diferencian OWAVEC de otros métodos de pre-tratamiento comúnmente aplicados (por ejemplo, el cálculo de derivadas de distintos órdenes, SNV o MSC, o los métodos de corrección ortogonal de la señal tales como OSC y DOSC) se derivan de la unificación, en un mismo método, del enorme potencial que ha demostrado el análisis wavelet en el procesado de señales (ya sea con fines de suavizado de señales, de eliminación de ruido o de compresión de datos) junto con la aplicación de un algoritmo particular de corrección ortogonal de las señales en un dominio wavelet, con el claro objetivo de potenciar una mejora significativa de la calidad de los modelos de regresión finalmente construidos. La primera versión presentada de OWAVEC se centraba principalmente en la corrección de las señales en un dominio wavelet, es decir, en la eliminación de información no correlacionada con la respuesta a modelar (ortogonalización) y en la aplicación de técnicas de eliminación de ruido de la matriz de coeficientes wavelet. Sin embargo, teniendo en cuenta la creciente necesidad actual de disponer de métodos de compresión de datos realmente efectivos, en gran parte debido a la naturaleza redundante de muchas de las señales registradas (problemas de colinealidad), se propuso una evolución posterior de OWAVEC para, simultáneamente, eliminar el ruido presente en las señales, corregir la información ortogonal contenida y lograr una compresión eficaz de los datos. En esta segunda versión de OWAVEC resulta posible adoptar una doble vertiente en el proceso de compresión de los coeficientes, en función del criterio preferido para seleccionar los coeficientes relevantes una vez completada la etapa de ortogonalización incluida en OWAVEC: el espectro de la

varianza de la matriz de coeficientes o los coeficientes de correlación calculados entre la variable respuesta y los coeficientes wavelet. A pesar de los elevados porcentajes de compresión alcanzados mediante la aplicación de esta actualización de OWAVEC y de la mejora observada en la calidad de los modelos obtenidos, debe tenerse en cuenta que un proceso de selección secuencial de coeficientes wavelet puede ser demasiado tedioso en sistemas complejos, de forma que sería conveniente implantar en OWAVEC un procedimiento alternativo de selección de coeficientes basado en un método automatizado de optimización. Por esta razón, la última modificación del método presentada hasta el momento, GAOWAVEC, incorpora una etapa de compresión de datos mediante GAs, mediante la cual se selecciona un reducido sub-conjunto de coeficientes wavelet significativos, que será utilizado en el paso final de regresión, sin modificar el resto de etapas implicadas en el procedimiento (descomposición wavelet de las señales y corrección ortogonal). Resulta profundamente significativa la considerable mejora obtenida en los modelos de calibración desarrollados tras la aplicación de esta estrategia de pre-procesado combinada, junto con los excelentes grados de compresión logrados. Los estudios llevados a cabo sobre la determinación de dos parámetros cruciales en el proceso de tostación del café (contenidos en cenizas y ácidos clorogénicos) y la predicción de la viscosidad en muestras de combustibles diesel han servido para demostrar la eficacia de OWAVEC como método de corrección y compresión de señales, potenciando una importante mejora en la calidad de los modelos de regresión resultantes no sólo respecto a los modelos obtenidos en base a datos no tratados, sino también en comparación con los modelos desarrollados en base a los datos previamente filtrados mediante otros métodos de corrección ortogonal de la señal.

## **Response surfaces and Pareto-optimal front methodologies working together to optimize the experimental conditions in a flow system**

R. Díez <sup>1</sup>, L.A. Sarabia <sup>2</sup>, M.S. Sánchez <sup>2</sup>, M.C. Ortiz <sup>1,2</sup>

*Dpto. de Química <sup>1</sup> y Dpto. de Matemáticas y Computación <sup>2</sup>, Universidad de Burgos*

Sulfonamides are a kind of antibiotics used in veterinary practices for the treatment of bacterial infections. Due to the use in animals destined to human consumption, there is a risk of presence of unwanted residues in the products which come from these animals. These substances have been classified into group B1 (veterinary drugs and contaminants) in the annex 1 of the European Directive 96/23/EC.

An optimization of a flow technique with amperometric detection has been done for the determination of three sulfonamides (sulfadiazine, sulfamerazine and sulfamethazine) choosing as factors the pH and percentage of methanol of the carrier solution. To solve a problem with the shift of the signals and to obtain an analytical signal of enough analytical quality, the net analyte signal (NAS) [2] and also its standard deviation have been taken as responses by means an experimental desing. Because both responses were in conflict, an estimation of the Pareto-optimal front [3] has been made.

Three different experimental conditions have been chosen based on the Pareto-optimal front. In each case a PLS calibration model has been carried out with the multivariate signals. In all the cases the calibrations models have been validated according to the criteria established in European Decision 2002/657/EC [1].

Taking into account the validation parameters of the calibrations models, that one with the best values has been chosen to determine sulfonamides in milk. The experimental conditions of the carrier solution which correspond to that model are pH of 5.4 and 17% of methanol. For those conditions in the range from 0 to 160  $\mu\text{g l}^{-1}$ , the decision limit is 8.25  $\mu\text{g l}^{-1}$  with 5% of probability of false positive, and the detection capability with 5% of probability of false negative is 16.16  $\mu\text{g l}^{-1}$ .

Six milk samples have been measured. Each sample has been spiked with known mixtures of one, two and three sulfonamides, always maintaining the total concentration equal to 100  $\mu\text{g l}^{-1}$  (maximum residue limit), obtaining a mean recovery of 86.5 %  $\pm$  2.4 % and a repeatability equal to 2.40  $\mu\text{g l}^{-1}$ .

### *Acknowledgments*

This work has been supported by Spanish Ministerio de Educación y Ciencia (project CTQ2004-07216/BQU) and Junta de Castilla y León (project BU06/04). R.Díez thanks JCyL for her FPU grant (ORDEN EDU/878/2004).

### *References*

1. 2002/657/EC Commission Decision of 12 August 2002, Implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. Official Journal of European Communities 17.8.2002.
2. E. Rueda, M.C. Ortiz, L.A. Sarabia, A. Herrero, *Anal. Chim. Acta*, 2003, 498, 119.
3. M.C. Ortiz, L. Sarabia, A. Herrero, M.S. Sánchez *Chemom. and Intell. Lab. Systems*, 2006, 83, 157.

## **PARAFAC modelling of excitation-emission fluorescence signals. Application to the determination of tetracycline in milk**

B.D. Real <sup>a</sup>, N. Rodríguez <sup>a</sup>, M.C. Ortiz <sup>a,\*</sup>, L.A. Sarabia <sup>b</sup> and A. Herrero <sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Dep. of Chemistry and* <sup>b</sup> *Dep. of Mathematics and Computation, University of Burgos*

Tetracyclines are a kind of antibiotics with maximum residue limit [1] used in veterinary treatments. They are fluorescent compounds that can enhance their fluorescence in the presence of several metals [2]. Depending on the metal and on its concentration, different spectra are obtained. The aim of this work is to determine the concentration of tetracycline in samples of milk. The effect of some inorganic interferents that are present in milk (Ca, K, P, Fe, Na, Zn and Mg) on the fluorescence tetracycline signal is studied. The determination of tetracycline is carried out using a PARAFAC model [3] and the standard addition method (SAM).

Aqueous standards of tetracycline were prepared containing tungsten reagent and different amounts of each inorganic interferent. Two kinds of milk were analysed: breast-milk substitute and semi-skimmed milk. Since milk samples cannot be measured directly, a previous step to remove the proteins was needed. Two procedures were applied. Procedure A: tungsten was added to milk reagent, the solution being filtered to obtain the whey. Standard solutions were prepared with buffer solution, whey and the desired amount of tetracycline for both breast-milk substitute and semi-skimmed one. Procedure B: a quantity tetracycline and tungsten reagent was added to milk, obtaining the whey after filtration. Standard solutions were prepared by adding buffer solution and increasing amounts of the whey depending on the desired antibiotic concentration. Spectra were recorded on a Perkin Elmer LS50B Luminescence Spectrometer from 440 to 560 nm for emission and from 320 to 400 nm for the excitation one.

Trilinearity of tetracycline signals. To reproduce the pretreatment conditions needed for milk, a calibration is carried out, with the aqueous samples with no interferents, in the presence of tungsten reagent. The PARAFAC model built shows one factor whose correlation between its loadings of sample mode and the true concentration of tetracycline is 0.98, being the mean of the absolute value of relative errors of estimations 6.28 % (n = 8).

Interferents study. The seven interferents study has been carried out using a D-optimal experimental design [4] that allows reducing the number of experiments from 37 (2187) to 21. Three levels of concentration (zero, middle and high) have been considered in the aqueous samples for each interferent since an effect due to concentration is expected. The presence of these interferents and their level of concentration have a double effect, it modifies both the shape and the magnitude the signal of tetracycline. This means that, even if the excitation-emission matrix is considered in the PARAFAC model, it is not possible perform the calibration of tetracycline in the presence of different concentrations of these interferents. For comparative purposes, the correlation coefficient is, in this



case, -0.17. So, for analysing a sample of milk, containing different and characteristic amounts of these interferents, the standard addition method (SAM) must be used.

Determination of tetracycline in samples of milk. When interferents concentration is fixed, that is the case of a certain sample of milk when standard addition method is used, the trilinearity of the tetracycline signal is maintained, so the PARAFAC method is suitable to obtain the loadings in the sample mode that will be related to concentration in SAM. In this analysis, the spectra obtained through procedures A and B have to be arranged in the data array since they together contain the necessary information for suitably extracting the information related to tetracycline. Spiked samples of breast-milk substitute and semi-skimmed milk containing 75  $\mu\text{g l}^{-1}$  were successfully analysed using this methodology (relative errors being -3.07 and -19.07 % respectively).

Validation of the analytical method. In order to estimate some performance characteristics of the analytical method, a calibration using a PARAFAC model was carried out for each kind of milk. The two analytical procedures carried out fulfil the property of trueness; the means of the absolute value of relative errors from 3 to 13% are inside the interval let by the Decision (2002/657/EC). The capabilities of detection ( $\text{CC}\beta$ ) found for these procedures were 23.52 and 45.33  $\mu\text{g l}^{-1}$  (for  $\alpha = \beta = 0.05$  and one replicate); decision limits ( $\text{CC}\alpha$ ) of 12.18 and 23.38  $\mu\text{g l}^{-1}$  for  $\alpha = 0.05$ ; and  $\text{CC}\beta$  values at the permitted limit (100  $\mu\text{g l}^{-1}$  in milk) of 105.95 and 142.20  $\mu\text{g l}^{-1}$  (for  $\alpha = \beta = 0.05$  and one replicate) for breast-milk substitute and semi-skimmed milk respectively. Values of recovery higher than 95% were obtained in all cases.

#### *Acknowledgements*

The authors thank the Ministerio de Educación y Ciencia (Project CTQ2004-07216/BQU) and the Junta de Castilla y León (Project BU06/04) for financial support. N. Rodríguez thanks the University of Burgos for the FPI Grant.

#### *References*

1. Commission Regulation 281/96 of 14 February 1996, OJ L 37, 2/15/1996, p. 9–11.
2. Li H.X., Zhang J.J., He X.W., Li G.J., Chin. J. Chem., 2004; 22: 177-183.
3. Wise B.M., Gallagher N.B., Bro R., Shaver J.M. PLS Toolbox 3.02 for MATLAB© version 6.5, Eigenvector Research Inc., Manson, WA, 2003.
4. Mathieu D., Nony J., Phan Tan Luu R., NemrodW, Ver. 2000, LPRAI, Marseille, 2000.

## Determination of sulfadiazine in milk. Optimization of signal and variability of a FIA system

C. Reguera <sup>1</sup>, M.C. Ortiz <sup>1</sup>, A. Herrero <sup>1</sup> and L.A. Sarabia <sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Depto. de Química y* <sup>2</sup> *Depto. de Matemáticas y Computación, Universidad de Burgos*

Sulfadiazine is a synthetic agent classified as antibacterial compound used in the veterinary practice as active disease treatment agent or growth promoter. Its widespread use has resulted in the risk that residues of this compound are present in foodstuffs obtained from treated animals, which may result in the emergence of antibiotic resistance in both human and veterinary bacterial populations having an impact on human health. Subsequently, the European Union establishes some maximum residue limits (MRLs) for all substances belonging to sulfonamide group in foodstuffs of animal origin in the Commission Regulation (EC) No 281/96 [1] amending Annexes I and III to Council Regulation (EEC) No 2377/90 [2]. The combined total residues of all substances within the sulphonamide group should not exceed 100  $\mu\text{g kg}^{-1}$  for target tissues (muscle, liver or kidney) and for milk from all food-producing species.

Several analytical procedures such as LC/MS and HPLC with diode array or fluorescence detection are currently available for the determination of sulfonamide residues in foodstuffs. However, in routine analysis, flow injection systems are interesting because of their fast response, low-cost instrumentation, repeatability and accuracy, in addition to the large number of samples which can be analysed in very little time. The combination of flow injection analysis with electrochemical detection provides systems that in addition are highly selective and sensitive, providing low detection limits [3].

When using this technique of analysis several experimental factors that influence and interact have to be optimized. Experimental design methodology [4] provides a useful alternative to approach this task by, for instance, the response surface methodology, being the main aim of optimization to find those experimental conditions which give the best response. A critical stage in optimization is the selection of the response. Usually it is not enough to optimize the size of the signal, and other aspects of the analytical signal have to be taken into account, such as the variability of the signal, the signal-noise ratio, etc.

In this work two analytical responses have been considered in optimization: peak height and its variability. A Doehlert design with two replicates at the central point was used to determine the effect on these responses of three experimental factors: i) the percentage of methanol, ii) the flow rate (an hydrodynamic factor which influences the dispersion of the sample injected) and iii) the pH of carrier solution. It is usual that the experimental conditions that optimize one aspect of the analytical signal (e.g. signal size) do not optimize another (e.g. variability), so a conflict between objectives can be found. To solve this conflict we propose a multicriteria optimization based on the use of a desirability function.

In the optimum experimental conditions found, the determination of sulfadiazine in milk samples is carried out, the analytical procedure being validated according to Commission Decision 2002/657/EC [5]. The decision limit at 0 and 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  are 12.3 and 111.8  $\mu\text{g L}^{-1}$  whereas the values of capability of detection,  $\text{CC}\beta$ , obtained at 0 and 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  (which is the maximum residue limit of sulfadiazine in milk) were 24.2  $\mu\text{g L}^{-1}$  and 123.3  $\mu\text{g L}^{-1}$ ,  $\alpha$  and  $\beta$  being 5%, respectively. The accuracy of the method is confirmed and the ruggedness of the procedure is evaluated by means of a Plackett-Burmann design.

### *Acknowledgments*

This work has been financed by Spanish Ministerio de Educación y Ciencia CTQ2004-07216/BQU and Junta de Castilla y León BU06/04.

### *References*

1. Commission Regulation (EC) No 281/96 of 14 February 1996 amending Annexes I and III to Council Regulation (EEC) No 2377/90 laying down a Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin, Official Journal L 37, 15/2/1996, p. 9–11.
2. Council Regulation (EEC) No 2377/90 of 26 June 1990 laying down a Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin, Official Journal L 224, 18/8/1990, p. 1–8.
3. M.E. Rueda, L.A. Sarabia, A. Herrero, M.C. Ortiz, *Anal. Chim. Acta*, 2003, 479, 173.
4. R.H. Myers, D.C. Montgomery, *Response Surface Methodology*, Wiley, New York, 1995.
5. 2002/657/EC Commission Decision of 12 August 2002. Implementing Council Directive 96/23/EC Concerning the Performance of Analytical Methods and the Interpretation of Results.

## **Identificación de las fuentes de Compuestos Orgánicos Volátiles (COV) medidos durante primavera en un área suburbana**

Débora Pérez Rial <sup>1</sup>, Romà Tauler <sup>2</sup>, Purificación López Mahía <sup>1,3</sup>, Soledad Muniategui Lorenzo <sup>1</sup>, Darío Prada Rodríguez <sup>1,3</sup>.

<sup>1</sup> *Departamento de Química Analítica, Universidad de A Coruña*, <sup>2</sup> *Departamento de Química Ambiental, IIQAB-CSC* y <sup>3</sup> *Instituto Universitario de Medio Ambiente*

Bajo la denominación Compuestos Orgánicos Volátiles (COV) se agrupa un conjunto de sustancias de naturaleza hidrocarbonada caracterizadas por su elevada presión de vapor. Estos compuestos son liberados a la atmósfera principalmente como consecuencia de procesos de combustión en los que intervienen combustibles fósiles, evaporaciones de disolventes, fugas de petróleo y sus derivados, etc. Algunos hidrocarburos ligeros son emitidos desde fuentes naturales, destacando entre ellas las plantas, los océanos y los volcanes (Hakola, 2006). Cuando los COV están presentes en la atmósfera actúan como precursores de un gran número de contaminantes secundarios como el nitrato de peroxiacilo (PAN), aerosoles orgánicos y ozono troposférico (Buzcu, 2006).

El objetivo de este trabajo es intentar identificar las principales fuentes de 51 COV de diferente naturaleza (alifáticos, aromáticos, biogénicos y halogenados) en un área suburbana situada en las afueras de la ciudad de A Coruña durante la primavera del año 2006 mediante el empleo de técnicas quimiométricas multivariantes como el Análisis de Componentes Principales (PCA). La toma de muestra se realizó empleando un equipo secuencial equipado con 24 tubos portaadsorbentes rellenos de Tenax TA®. Las muestras se tomaron durante 19 días diferentes y cada uno de estos días se recogieron 24 muestras mediante el bombeo de aire a través de los lechos adsorbentes con un caudal de aspiración de 100 mL min<sup>-1</sup> durante una hora. El análisis de COV se realizó mediante desorción térmica en dos etapas acoplada con cromatografía de gases con detección de espectrometría de masas (TD/GC/MSD). Los límites de detección y cuantificación en el modo de análisis full scan fueron inferiores a 9 ng para todos los compuestos objeto de estudio.

Además de los valores de concentración para los COV analizados, el Instituto Nacional de Meteorología facilitó los valores de ciertas variables meteorológicas que también fueron incluidos en la matriz de datos a tratar mediante PCA. El pretratamiento previo de los datos consistió en el autoescalado de las variables mayoritarias y en el centrado de las minoritarias. Con el objetivo de comparar si existen diferencias sustanciales entre la aplicación del pretratamiento de los datos cuando se considera la matriz formada por la totalidad de las variables de manera simultánea y cuando se agrupan los datos obtenidos en función del día de muestreo, se crearon dos matrices diferentes con los datos pretratados sobre los que aplicar el PCA.

El análisis de componentes principales de las dos matrices de datos permitió obtener en ambos casos un primer PC en el que la mayoría de las variables presentan loadings positivos elevados. Mientras que los tres siguientes PC permiten discernir distintas fuentes de origen para los COV

halogenados, los COV biogénicos y la suma de COV alifáticos y aromáticos. Respecto a la influencia de las variables meteorológicas sobre estas fuentes cabe destacar la buena correlación entre temperatura y radiación y la fuente de COV biogénicos y la de COV aromáticos y alifáticos, mientras que la emisión de hidrocarburos de naturaleza halogenada parece verse más afectada por la humedad relativa. La dirección de los vientos predominantes durante los días y horas de los diferentes muestreos no difiere lo suficiente como para permitir señalar de manera concluyente la procedencia de los COV medidos.

Para los dos PCA realizados se hizo la representación gráfica de los scores obtenidos para cada PC frente a los scores del PC que explica un mayor porcentaje de la varianza. Estas representaciones permiten observar que existen importantes diferencias en función de si el tratamiento de los datos se hace de manera simultánea o con los datos agrupados en función del día de muestreo, ya que en el primero de los casos las representaciones gráficas de los scores permiten diferenciar claramente los diferentes muestreos, mientras que en el segundo de los casos los scores muestran una distribución más homogénea.

En la actualidad se está completando el estudio e interpretación de los resultados obtenidos a partir del análisis de una serie de datos anual medidos en el mismo punto de muestreo.

#### *Referencias*

Buzco B. and Fraser M. P. (2006) Source identification and apportionment of volatile organic compounds in Houston, TX. *Atmospheric Environment*, 40: 2385-2400.

Hakola H., Hellèn H. and Laurila T. Ten years of light hydrocarbons (C2-C6) concentration measurements in background air in Finland. *Atmospheric Environment*, 40: 3621-3630.

## Calculation of the Reliability of Classification for Discriminant Partial Least Squares (DPLS)

Néstor F. Pérez, Ricard Boqué\*, Joan Ferré

*Department of Analytical Chemistry and Organic Chemistry. Rovira i Virgili University*

In this work potential functions are used to determine the reliability of classification in Discriminant Partial Least Squares (DPLS) [1]. When DPLS is calculated to distinguish between two classes (A,B), a "0" is used to denote a sample of class A and a "1" is used to denote a sample of class B. For a sample to be classified, DPLS will yield a predicted value close to 0 if the sample belongs to class A or 1 if it belongs to class B. In fact, values around 0 or 1 are obtained and a threshold (usually 0.5) [2] is used to classify the sample either in class A or in class B. Hence, all samples below 0.5 will be classified as class A. However, no indication of the reliability of the classification is given. A sample with a predicted value close to 0.4 will be classified as class A with less confidence than a sample with a predicted value close to 0. In this work we propose a measure of classification reliability for a sample. This measure takes into account the prediction uncertainty (caused by the uncertainty of the variables measured in the sample and of the uncertainty of the model calculated by DPLS [3]).

The reliability of classification is calculated as follows: For each training sample, its prediction and the standard error of prediction is calculated for the DPLS model by cross-validation. A Gaussian ("potential" [4]) function is calculated centered at the predicted value and with standard deviation equal to the standard error of prediction. A global potential function for class A is calculated as the sum of the potential functions of the samples of class A. The procedure is repeated for the sample of class B. For an unknown sample to be classified, the value predicted by the model and its standard error of prediction are calculated. This interval allows us to define two areas: one below the potential function of class A, and one below the potential function of class B. A relation between both areas provides the reliability of classification.

The results of the methodology will be shown for different data sets, some of them provided by partners of the TRACE European Project.

### *Acknowledgment.*

Project TRACE: Tracing Food Commodities in Europe (EU IP 006942) from the Sixth Framework Programme of the European Union is gratefully acknowledged.

### *References*

1. Kowalski B. R.; Wold S.; Albano C. *Chemometrics Mathematics and Statistics in Chemistry*. D. Reidel Publishing Company: Dordrecht, Holland. 1983, 87-88.

2. Reid L. M.; O'Donnell C. P.; Kelly J. D.; Downey G.; J. Agric. Food Chem 2004, 52, 6891-6896.
3. N.M. Faber., F. H. Schreutelkamp., H. W. Vedder. Spectroscopy Europe.  
<http://www.spectroscopyeurope.com/articles.html> [11 May 2006].
4. M. Forina.; C. Armanino.; R. Leardi.; G. Drava. Journal of Chemometrics 1991, 5, 435 – 453.

## Estimación de la incertidumbre de clasificación en métodos del vecino más cercano utilizando bootstrap

Joe Luis Villa Medina\*, Joan Ferré, Ricard Boqué

*Department of Analytical Chemistry and Organic Chemistry. Rovira i Virgili University*

Proponemos la modificación del método clásico de los  $k$ - Vecinos más cercanos ( $k$ -NN, del inglés *k-Nearest Neighbours*) para estimar la incertidumbre de clasificación de un objeto en particular. El método combina el  $k$ -NN con *bootstrap*.  $k$ -NN es uno de los métodos de clasificación más estudiados [1], por ser muy simple, fácil de implementar y altamente eficiente. *Bootstrap* es una técnica de remuestreo que permite estimar los parámetros que definen a una población, sin realizar asunciones distribucionales de ésta [2]. El método propuesto, genera  $B$  nuevos conjuntos *bootstrap*, muestreando con reemplazo el conjunto de datos originales [3] de tamaño  $n$ , el cual está formado por  $C$  clases. En cada uno de los nuevos conjuntos *bootstrap*, se buscan, utilizando  $k$ -NN, los vecinos más cercanos del objeto  $\mathbf{x}$  que deseamos clasificar, a cada clase,  $\omega_c$ , de la matriz de datos originales. Luego se calcula el promedio de los  $k$  vecinos más cercanos ( $k_{bc}^*$ ) a  $\omega_c$ , dividiendo la sumatoria de todos los vecinos más cercanos obtenidos en cada *bootstrap* para cada clase ( $k_{bc}$ ) entre el número de *bootstrap*  $B$  realizados (Ec 1):

$$k_{bc}^* = \frac{\sum_{b=1}^B k_{bc}}{B} \quad \text{Ec 1.}$$

Este  $k_{bc}^*$  se utiliza para calcular la probabilidad *a posteriori* de que un objeto  $\mathbf{x}$  pertenezca a la clase  $\omega_c$ , al dividir éste entre el valor de  $K$  tomado [4] (Ec 2):

$$P(\omega_c | \mathbf{x}) = k_{bc}^* / K \quad \text{Ec 2.}$$

Finalmente el objeto  $\mathbf{x}$  es asignado a la clase en la que la probabilidad *a posteriori* es mayor.

El método propuesto se comparó con otros dos: 1) el método  $k$ -NN clásico y 2) el estimador, por remuestreo, de  $P(\omega_c | \mathbf{x})$  [5], en el que  $\mathbf{x}$  se clasifica en cada conjunto *bootstrap* utilizando  $k$ -NN y luego se cuenta el número de veces en que  $\mathbf{x}$  es asignado a cada clase  $\omega_c$  y dicho valor se divide entre el número de conjuntos *bootstrap* realizados. La comparación se realizó con datos artificiales y datos reales suministrados por el proyecto europeo TRACE.

### Agradecimientos

Los autores agradecen el soporte del Departamento de Universidades, investigación y Sociedad de la Información de la Generalidad de Cataluña por proveer la beca predoctoral de Joe Luis Villa Medina y al Proyecto TRACE: Tracing Food Commodities in Europe (EU IP 006942) del sexto programa marco de la Unión Europea por suministrar los conjuntos de datos.



### *Referencias*

1. Holmes C.; Adams N.; Journal of the Royal Statistical Society: Series B **2002**, *64, Part 2*, 295-306.
2. Mooney C.; Duval R.; Bootstrapping. A Nonparametric Approach to Statistical Inference. Sage University Paper series on Quantitative Applications in the Social Sciences, 07-095. Newbury Park, CA, USA, **1993**.
3. Wehrens R.; Putter H.; Buydens L.; Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems **2000**, *54*, 35-52
4. Duda, R.O.; Hart P.E.; and Stork D.G.; Pattern classification, 2nd ed., Wiley-Interscience, USA, **2001**.
5. Steele B.; Patterson D.; Statistics and Computing, **2000**, *10*, 349-355

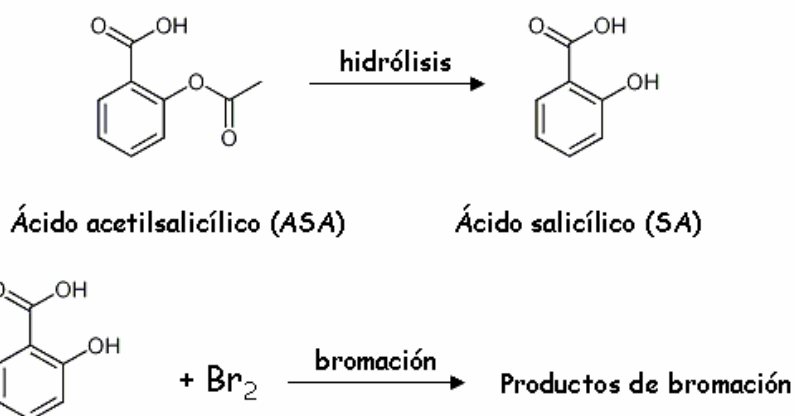
## **Análisis cuantitativo simultáneo de mezclas de ácido acetilsalicílico y ácido salicílico. Estudio preliminar con MCR-ALS y HS-MCR-ALS**

Maidier Vidal <sup>1</sup>, Francisco Acha <sup>1</sup>, Miren Ostra <sup>1</sup>, Carlos Ubide <sup>1</sup>, Felicitat Franch-Lage <sup>2</sup>, José Manuel Amigo <sup>2\*</sup>, Jordi Coello <sup>2</sup>, Santiago Maspocho <sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Departamento de Química Aplicada, Universidad del País Vasco-Euskal Herriko Unibertsitatea y*

<sup>2</sup>*Departament de Química, Universitat Autònoma de Barcelona*

El ácido acetilsalicílico (ASA) y el ácido salicílico (SA) presentan un gran interés farmacéutico debido a sus propiedades analgésicas y anti-inflamatorias. Es sabido que el ASA se hidroliza en medio ácido a SA. También se conocen las reacciones de bromación del SA, así como que en unas determinadas condiciones de trabajo el ASA no sufre reacciones de bromación.



El objetivo principal de este trabajo es la determinación simultánea de mezclas de ASA y SA en medio ácido. Para ello se monitorizan las cinéticas simultáneas de hidrólisis y bromación mediante Espectrofotometría Ultravioleta-visible. La bromación se lleva a cabo mediante la técnica de generación in-situ de Bromo en el seno de la reacción (adición continua de bromato a las diferentes mezclas de ácidos carboxílicos conteniendo bromuro en exceso).

La metodología de trabajo es la siguiente:

- Establecimiento de un modelo cinético global para las reacciones simultáneas (hidrólisis y bromación en continuo) mediante MCR-ALS
- Una vez establecido el modelo cinético, uso de HS-MCR-ALS para la determinación cuantitativa de mezclas de los dos ácidos carboxílicos.

Los resultados preliminares muestran la gran aportación cualitativa del MCR-ALS a la hora de dilucidar el comportamiento de cada uno de los analitos en la muestra y permitir la elucidación de un modelo cinético global.

## **Spectro-textural MIA for location and isolation of randomly distributed defects on artificial stone**

José Manuel Prats-Montalbán y Alberto Ferrer

*Universidad Politécnica de Valencia*

The detection of defects in final parts is a big concern in manufacturing organizations such as artificial stone industries. Both quantity and spatial distribution of defects are needed to identify the severity of the fault and provide useful information for fault diagnosis.

This task has been traditionally performed on the basis of visual inspection by well trained operators. Reproducibility problems are quite often with this approach. More recently, imaging technology has been introduced as an efficient tool to automates the inspection process.

Unlike traditional image analysis techniques the Multivariate Image Analysis (MIA) methods extract product quality relevant information directly from the pixels of the digital images [1].

Digital image analysis exploits two different sources of information: spectral and textural information. For the analysis of spectral information, MIA has been extensively applied to RGB or multispectral images. [2]. On the other hand, the defects of the parts can be studied attending to their surface texture (related to textural characteristics), which can transmit some kind of internal defect, or simply indicate some external characteristic or defect. Traditional textural methods have been successfully applied when texture characteristics somehow follow a deterministic pattern, but their efficiency decreases when dealing with random textures in parts coming from manufacturing processes. Quite recently Bharati and MacGregor [3] have proposed a new methodology that seems to be effective for random textures. Generally, textural analysis is linked to grey level images, which is becoming a little old-fashioned in modern industries equipped with RGB cameras.

The goal of this work is to illustrate an easy procedure for locating and isolating randomly distributed defects on artificial stone parts. The approach is based on the integration of the spectral information provided by the RGB cameras, and expanding it with the textural information by means of the method proposed by [3]. This leads to a 3-way internal variation structure of data, corresponding to the pixels (unfolded into one column); the textural information related to texture (different colour intensity levels of the neighbouring pixels to the one that constitutes the sample); and the spectral information provided by channels R, G and B. This particular data structure is modelled via MIA using multiway models.

Once a multiway model is built on reference or Normal Operation Conditions (NOC) images, new artificial stone images which contain several types of defects, such as dirty areas and scratches, are projected on to it.

From the projection of the reference images on to the NOC model we get the T2–Hotelling and Residual Sum of Squares (RSS) corresponding values for each pixel, being possible in these cases

to determine the percentage of them that exceeds the established control limits for a certain type I risk, associated to T2 and RSS control charts. However, when inspecting an image, it is not only the percentage of pixels beyond the limits, but also its spatial location and clustering which actually determines the final quality of the image and the possible detection of defects. In fact, there may exist situations where the percentage of pixels beyond the limits coming up from an image does not exceed the maximum pre-established, but this should be considered as a defective image due to the particular spatial location of the pixels beyond limits.

In order to avoid these situations, it is possible to place those pixels beyond the limits into their original spatial location, isolating them from the rest and, moreover, being able to visualize the type of existing defect, if it is the case.

New images based on the T2 and RSS statistics are introduced as a clear way of locating and visualizing the possible defects existing in images taken from new parts. The T2 and RSS images are created by folding the pixels into the original image dimensions. Once they have been relocated, the new intensity value for a particular pixel is no longer its R, G or B intensity values, but the T2 or RSS value (if that pixel exceeds the pre-established limits), or zero (if not). This way, the isolation and the visualization of the possible defects is achieved, and the different nature of the defect can also be analysed in terms of the different meaning of both the T2 or RSS statistics.

We also compare the use of uncompressed images versus images compressed by wavelets (Discrete Wavelet Transform), when trying to find an efficient way of compressing and de-noising an existing image, and evaluate if this compression improves the detection power of the application, both in terms of modeling computing time and detection ability.

### *References*

1. Bharati MH. Multivariate Image Analysis and Regression for Industrial Process Monitoring and Product Quality Control, Ph.D. Thesis, McMaster University, Hamilton (Ontario), Canada, 2002.
2. Geladi P, Grahn H. Multivariate Image Analysis. Wiley: Chichester, England, 1996.
3. Bharati MH, MacGregor JF. Texture analysis of images using Principal Component Analysis, SPIE/Photonics Conference on Process Imaging for Automatic Control, Boston, MA, 2000, 27-37.

## Análisis híbrido *hard-soft modelling* para datos de espectroscopia de diferencia resuelta en el tiempo

L. Blanchet <sup>1,2</sup>, A. Mezzetti <sup>1</sup>, A. de Juan <sup>2</sup>, C. Ruckebusch <sup>1</sup>, J.P. Huvenne <sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Laboratoire de spectrochimie infrarouge et Raman (LASIR), UMR CNRS 8516, Université des Sciences et Technologies de Lille (USTL) y* <sup>2</sup> *Departament de Química Analítica, Universitat de Barcelona*

La aplicación de métodos espectroscópicos diferenciales conoce un desarrollo importante desde hace algunos años, en particular, en los ámbitos vinculados a la biología. Técnicas como la espectroscopia IRTF rapid-scan o el dicroísmo circular permiten el seguimiento de distintos mecanismos de reacción, reacciones fotosintéticas o desnaturalización de proteínas en función del tiempo. Los datos de espectrales de diferencia permiten seguir variaciones espectroscópicas muy pequeñas. La interpretación de los datos obtenidos de segundo (*2-way*), o incluso de tercer orden (*3-way*), requiere un análisis quimiométrico. Idealmente, el rango de una matriz de datos espectrales corresponde químicamente al número de especies absorbentes, y matemáticamente, al número de valores singulares significativos. En los espectros de diferencia, la dificultad procede de la sustracción del espectro que corresponde al tiempo  $t = 0$  de la experiencia. Esto reduce obligatoriamente el rango de la matriz de datos obtenida [1]. La deficiencia de rango significa que el rango de la matriz es inferior al número de especies absorbentes.

El problema del análisis de datos de diferencia se muestra con un ejemplo de espectroscopia IRTF rapid-scan. El experimento consiste en registrar el espectro del centro fotosintético de una bacteria en función del tiempo [2]; en primer lugar, bajo iluminación, y luego, en la oscuridad. La acción de la luz provoca la reducción de las moléculas de ubiquinona a ubiquinol, proceso cinético que sigue un mecanismo de primer orden. En la oscuridad, ocurre el proceso contrario. También se sabe que la conformación del entorno proteico de la muestra condiciona la reacción. Ha sido demostrado anteriormente que la estructura de proteína varía de manera casi instantánea bajo la exposición luminosa [3]. Esta variación espectral no podrá, pues, someterse a un modelo cinético. Dos problemas se plantean en el estudio de este sistema, el primero es el de la deficiencia de rango debida a la naturaleza de los datos de espectroscopia de diferencia resueltos en el tiempo; y el segundo problema deriva de que una parte de la señal registrada no sigue un modelo cinético. Esta parte de la señal solo puede modelarse utilizando restricciones resultantes del *soft modelling*.

La variante híbrida *soft-hard* del método de Resolución Multivariante de Curvas por Mínimos Cuadrados Alternados (MCR-ALS) [4] permite gestionar estos problemas al mismo tiempo. La aplicación simultánea de un modelo cinético, como en *hard modelling*, y las restricciones habituales del *soft modelling* permitan utilizar los conocimientos a priori relativos al mecanismo de reacción, y al mismo tiempo seguir la evolución de otras especies que no responden al modelo cinético o de interferentes inesperados. En la interpretación de los perfiles resueltos, se debería tener en cuenta que proceden de espectros de diferencia que proceden de espectros de diferencia. Por lo tanto,

cada perfil reflejaré simultáneamente la desaparición de una especie para dar lugar a otra nueva (ubiquinona → ubiquinol, conformación proteica en la oscuridad → conformación proteica bajo la acción de la luz).

### *Referencias*

1. L. Blanchet, A. de Juan, C. Ruckebusch, J.P. Huvenne (in preparation)
2. A. Mezzetti, W. Leibl, J. Breton, E. Navedryk FEBS Letters 537, 161-165 (2003)
3. L. Blanchet, A. Mezzetti, C. Ruckebusch, J.P. Huvenne, A. de Juan, Anal. Bioanal. Chem. (in press)
4. R. Tauler, A. Smilde, R. Kowalski, J. of Chemometrics 9, 31-58 (1995)

## **Rapid monitoring of phenol photodegradation process. Quantitative determination of phenol, catechol and its isomers**

M.V. Bosco and M.S. Larrechi\*

*Department of Analytical and Organic Chemistr, Rovira i Virgili University*

Phenol is a compound that is widely used in the chemical industry for various purposes [1] and as a result it is found in a wide range of effluents and has a direct or indirect effect on the ecosystem [2]. Photodegradation is one of the advanced oxidation processes more effective for organic pollutants treatment, as phenol [2-5]. Through the process of degradation, phenol decomposes completely to CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O following a mechanism of hydroxylation of the aromatic ring [1,2,6]. Hydroquinone, catechol and resorcinol were the dihydroxyderivative intermediates although in lower concentrations than phenol.

Nowadays, developing catalysts that can be used to degrade organic polluting agents and optimizing these processes is a subject of particular interest in the field of catalysis. The degradation kinetics of a polluting agent and the yield of the degradation process require the polluting agent being studied to be quantitatively determined. UV-visible spectrophotometry with univariate calibration is the common method for organic pollutants analysis, but this methodology requires previous pretreatment.

The photodegradation process of phenol using ZnO as catalyst was studied and monitored by fluorescence excitation–emission matrix (EEM). We are trying to analyze using partial least squares regression extended to multiway data (N-PLS)[7]. The procedure is asses using as calibration set, synthetic samples prepared following the reaction model proposing for Mylonas et al. [6]. The results will be analyzed in terms of overall RMSEP for the overall data set. Afterwards, the obtained model will be used to predict and to quantify phenol and its intermediates in photodegradation samples.

The present study is part of our research group's general objective, which is to develop analytical methods based on EEM and chemometric tools, to find practical uses for quantitative, in-situ monitoring of photodegradation reactions of organic pollutant agents, such as phenol.

### *Referencias*

1. M. Peiró, J. A. Ayllón, J. Peral, X. Doménech, *Appl. Catal. B* 30 (2001) 359
2. G. Sivalingam, M.H. Priya, Giridhar Madras, *Appl. Catal. B* 51 (2004) 67
3. Ö. E. Kartal, M. Erol, H. Oğuz, *Chem. Eng. Technol.* 24 (2001)645
4. M. de1 Olmo, C. Diez, A. Molina, I. de Orbe, J.L. Vilchez, *Anal. Chem. Acta* 335 (1996) 23
5. S. Lathasree, A. Nageswara Rao, B SivaSankar, V. Sadasivam, K. Rengaraj, *J. Mol. Catal. A* 223 (2004) 101
6. A. Mylonas, E. Papaconstantinou, V. Roussis, *Polyedron* 15 (1996) 3211
7. R. Bro, *J. Chemom.* 10 (1996) 47

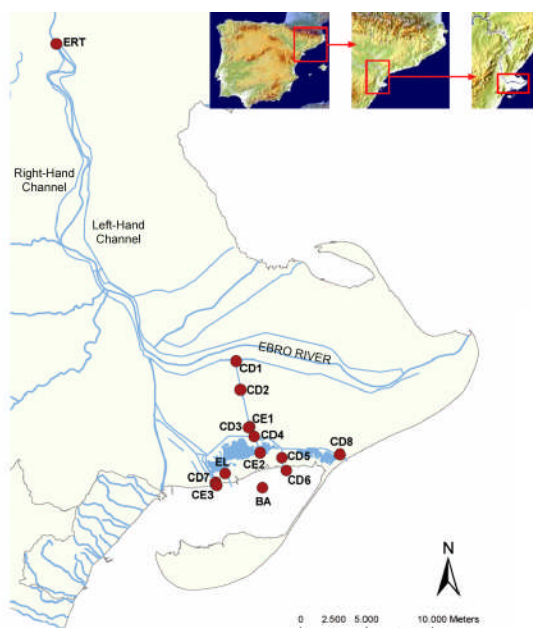
## Avaluació de la contaminació de pesticides als canals del delta de l'Ebre durant la principal estació de creixement de l'arròs mitjançant mètodes quimiomètrics i geostatístics

Marta Terrado<sup>1</sup>, Marina Kuster<sup>1</sup>, Demetrio Raldúa<sup>2</sup>, Miren Lopez de Alda<sup>1</sup>, Damià Barceló<sup>1</sup> and Romà Tauler<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departament de Química Ambiental, IIQAB-CSIC y <sup>2</sup> Laboratori de Toxicologia Ambiental, UPC

La contaminació difosa que prové de la utilització de pesticides en l'agricultura és una qüestió preocupant, ja que la seva presència a les aigües, sediments i sòls pot tenir efectes negatius sobre la salut humana, la fauna i el medi ambient [1]. Les fonts de contaminació no puntuals (entre aquestes, els pesticides) són generalment detectades a mitjanes o baixes concentracions en els diversos compartiments ambientals, però el seu ús extensiu i comportament, fa que siguin àmpliament distribuïdes i que sigui difícil traçar una font específica i localitzada per elles. Tot i l'augment del coneixement i la preocupació en relació als potencials efectes perjudicials de la contaminació per pesticides, grans quantitats de productes químics continuen sent introduïts en els ecosistemes i, en particular, en el delta del riu Ebre (Catalunya, NE Espanya), cada any [2].

El delta de l'Ebre és una regió de 20.600 ha. de superfície principalment utilitzada per al cultiu de l'arròs, encara que també s'hi troben altres cultius com horta i fruiter. Es tracta d'una zona ocupada per una xarxa de canals d'irrigació i drenatge d'aigua que es destina al cultiu de l'arròs (*Figura 1*). A través dels canals d'irrigació, l'aigua arriba als camps, i posteriorment és recollida pels canals de drenatge. Aquests canals són de gran importància per al transport de pesticides des dels camps de cultiu de l'arròs fins al mar (Badia d'Alfacs), on es troben granges de musclos de producció important.



**Figura 1:** Identificació dels punts de mostreig: ERT, Riu Ebre a Tivenys; CD1, Canal de drenatge 1; CD2, Canal de drenatge 2; CD3, Canal de drenatge 3; CD4, Canal de drenatge 4; CD5, Sèquia de l'Ala-Abans de Gates; CD6, Sèquia de l'Ala-Després de Gates; CD7, Sèquia de Campredó; CD8, Sèquia de Baladres; CE1, canal d'irrigació 1; CE2, Canal d'irrigació 2; CE3, Canal d'irrigació 3; EL, Llac de l'Encanyissada; BA, Badia d'Alfacs.



Quatre campanyes de presa de mostres s'han dut a terme mensualment en el delta de l'Ebre durant la principal època de creixement de l'arròs, de maig a agost del 2005. A través de programes de control ambiental, s'ha obtingut una gran quantitat de valors de concentració de diferents pesticides (ng/L), analitzats mitjançant SPE-LC-MS/MS [3]. Els pesticides estudiats han estat: organofosfats (fenitrothion, malathion i diazinon), triazines (simazine, atrazine i cyanazine), fenilurees (chlortoluron, isoproturon i diuron), anilides (propanil), cloracetanilides (alachlor i metolachlor), herbicides àcids (bentazone, MCPA, 2,4-D i mecoprop) i tiocarbamats (mollinate). Per tal de derivar informació ambiental útil d'aquestes dades, la utilització de mètodes quimiomètrics basats en noves eines multivariants d'Anàlisi de Factors ha estat proposat. Aquests mètodes, aplicats a taules de dades ambientals, suposen que cada valor d'una variable mesurada en una mostra concreta, és el resultat de la suma de contribucions de fonts de contaminació independents i d'origen diferent. La distribució de la contaminació sobre el territori pot ser coneguda amb l'ajuda de Sistemes d'Informació Geogràfica (GIS) [4]. A partir de tècniques d'interpolació geostatística és possible la creació de mapes de distribució de la contaminació [5].

La combinació de mètodes quimiomètrics i geostatístics ha estat utilitzada per identificar les principals fonts de contaminació que afecten la regió estudiada i conèixer la seva distribució geogràfica. Els mètodes quimiomètrics utilitzats han estat l'Anàlisi de Components Principals (PCA) [6] i la Resolució Multivariant de Corbes utilitzant Mínims Quadrats Alternats (MCR-ALS) [7] de la matriu augmentada per als 4 mesos analitzats. Kriging [5] ha estat el mètode d'interpolació geostatística emprat per a la creació de mapes de predicció de la distribució de les fonts de contaminació investigades sobre el territori.

A partir de l'anàlisi de PCA, s'observa una diferenciació entre una font de contaminació per pesticides provinent del riu Ebre i una altra originada en els canals de rec i constituïda per pesticides típicament utilitzats en el cultiu de l'arròs (MCPA, bentazone, mollinate, fenitrothion i propanil). Juliol s'identifica com el mes més afectat per la utilització d'aquests darrers pesticides seguit del maig (en les primeres etapes del cultiu, els pesticides s'utilitzen per la preparació del sòl per a la sembra i llaurat). MCR-ALS identifica 3 fonts de contaminació diferents. Una primera font, explicant el 38.75% de la variància de les dades, presenta una tendència decreixent amb el temps d'alguns pesticides utilitzats en el cultiu de l'arròs (utilitzats en les primeres etapes) i altres no específics per aquest tipus de cultiu. La segona font de contaminació identificada, explicant el 32.04% de la variància, es caracteritza per un comportament mensual força constant. Aquesta font té el seu origen en el riu Ebre (constituïda per pesticides que no s'utilitzen específicament per l'arròs). Finalment, una tercera font de contaminació, explicant el 20.26% de la variància de les dades, ha estat identificada, amb contribució dels herbicides àcids i el diazinon. Aquesta font comença a observar-se al juny i presenta el seu pic màxim durant el mes de juliol.

### *Referències*

1. Schwedt G (2001) The essential guide of environmental chemistry. John Wiley & Sons Ltd, New York

2. Mañosa S, Mateo R, Guitart R (2001) *Environmental Monitoring and Assessment* 71: 187-205
3. Kuster M, López de Alda M, Raldúa D, Barata C, Barceló D (2006) *Journal of Chromatography* (submitted)
4. Burrough P A, McDonnell R A (2000) *Principles of Geographical Information Systems*, Oxford, New York
5. Goovaerts P (1997) *Geostatistics for natural resources evaluation*. Oxford University Press, New York
6. Jolliffe I (1986) *Principal Component Analysis*. Springer, New York
7. Jaumot J, Gargallo R, de Juan A, Tauler R (2005) *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 76:101-110

#### *Agraïments*

Aquest treball ha estat recolzat per la Unió Europea [AQUATERRA, GOCE 505428] i el Ministerio de Educación y Ciencia [CTM2005-25168-E]

## **Caracterización de vinos a través de su contenido en aminas biógenas mediante PCA y PLS**

Natividad García Villar, Javier Saurina, Santiago Hernández Cassou

*Departament de Química Analítica, Universitat de Barcelona*

Las características y la calidad del vino dependen de un número elevado de parámetros, como el clima, el suelo, la variedad de uva y ciertas prácticas enológicas. La caracterización de los vinos puede realizarse a través del uso de métodos analíticos que permitan la determinación de compuestos habitualmente presentes en el vino, entre los que están las aminas biógenas. Estos analitos, que se encuentran en bajas concentraciones en el mosto, se forman principalmente durante la fermentación alcohólica y la maloláctica y a lo largo del envejecimiento del vino en barricas y/o botellas. En general se producen por la descarboxilación de los aminoácidos correspondientes por parte de microorganismos [1].

Dada la relación del contenido de aminas biógenas con el proceso de envejecimiento del vino, estos compuestos se han utilizado en muchos casos como descriptores de las características del vino. Sin embargo, la extracción de información útil a través la determinación de aminas biógenas en el vino puede resultar una tarea complicada teniendo en cuenta la gran cantidad de factores que influyen en su formación.

Se ha desarrollado un nuevo método que permite la caracterización del vino basándose en el análisis de la composición de aminas biógenas y de los perfiles cromatográficos mediante el uso herramientas quimiométricas como el análisis por componentes principales (PCA) y la regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS). Los contenidos de aminas biógenas se han determinado mediante HPLC utilizando un método de derivatización precolumna con 1,2-naftoquinona-4-sulfonato de sodio [2]. Los datos cromatográficos se han aprovechado de para extraer información relevante acerca de las características del vino, como por ejemplo el procedimiento de elaboración, la cosecha o la región de origen. Los resultados indican que ciertas aminas pueden utilizarse como descriptores de algunas prácticas enológicas. Además, el contenido de aminas biógenas permite distinguir entre los vinos jóvenes de los vinos que han sido sometidos a periodos de envejecimiento tras su elaboración. Finalmente, el análisis de los perfiles cromatográficos obtenidos también permite caracterizar de los vinos en función de su edad, con la ventaja adicional de no es preciso cuantificar las aminas biógenas antes de realizar el tratamiento quimiométrico de los datos.

### *Bibliografía*

[1] Landete, J. M.; Ferrer, S.; Pardo, I. *Journal of Applied Microbiology*, 2005, 99, 580.

[2] Garcia-Villar, N.; Saurina, J.; Hernandez-Cassou, S. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 575, 97.

## **Kinetic and thermodynamic study of acid dyes removal using activated carbon**

V. Gómez, M.P. Callao

*Department of Analytical and Organic Chemistr, Rovira i Virgili University*

The adsorption of three acid dyes from the tanning industry, Acid Red 97, Acid Orange 61 and Acid Brown 425 onto activated carbon was studied for the removal of single acid dyes and mixtures of these three dyes from aqueous solutions.

Concentrations were evaluated with a methodology based on combined sequential injection analysis and multivariate curve resolution with alternating least squares (SIA-MCR-ALS) [1].

The adsorption of each dye with respect to contact time was measured to provide information about the adsorption characteristics of activated carbon. The rates of adsorption were found to conform to the pseudo-second-order kinetics with good correlation.

The experimental isotherms obtained, except for one dye when appears in a mixture, were of the S-type in terms of the classification of Giles and co-workers [2]. The best fit of the adsorption isotherm data was obtained using the Freundlich model.

The results indicate that activated carbon could be employed for the removal of dyes from wastewater.

### *References*

1. V. Gómez, J. Font, M.P. Callao, *Talanta*, 2006, doi:10.1016/j.talanta.2006.07.019.
2. Giles, C.H., MacEwan, T.H., Makhwa, S.N., Smith, D. *J. Colloid Interface Sci.*, 3 (1960) 3973

# Chemometrics modeling and prediction of trihalomethanes formation in Barcelona's water treatment plant

Stefan Platikanov<sup>a</sup>, Xavier Puig<sup>a</sup>, Jordi Martín<sup>b</sup>, Romà Tauler<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> IQAB-CSIC and <sup>b</sup> AGBAR

Formation, concentrations and occurrence of trihalomethane compounds (CHCl<sub>3</sub>, CHBr<sub>3</sub>, CHCl<sub>2</sub>Br, CHBr<sub>2</sub>Cl and total sum of them TTHM) are investigated in water disinfection chlorination processes in the water supply system of Barcelona metropolitan area from Llobregat River in order to minimize their possible human health risks (Simpson and Hayes, 1998). Twenty three water treatment plant (WTP) system variables were measured and were investigated for correlation with trihalomethane formation. Multivariate statistical methods including Principal Component Analysis (PCA) and multivariate regression methods like Multi Linear Regression (MLR), Stepwise MLR Regression (SWR), Principal Component Regression (PCR) and Partial Least Squares Regression (PLSR) have been used (Statistical Toolbox of MATLAB 6.5; PLS Toolbox 3.5) and compared to model and predict the complex behavior observed for the measured concentrations of trihalomethanes. The results, obtained with PCA exploratory analysis (see Fig.1) as well as the evaluation of the statistical significance of the coefficients in the linear regression vectors, revealed which were the most important WTP variables for the formation of trihalomethane compounds. Most of the selected variables have been also reported by other researchers (Garcia-Villanova et al., 1997). These influent WTP variables were water temperature, total organic carbon, added chlorine concentrations, UV absorbance and turbidity at different sites of the water treatment plant, as well as other variables like well flow supply levels and carbon filters age.

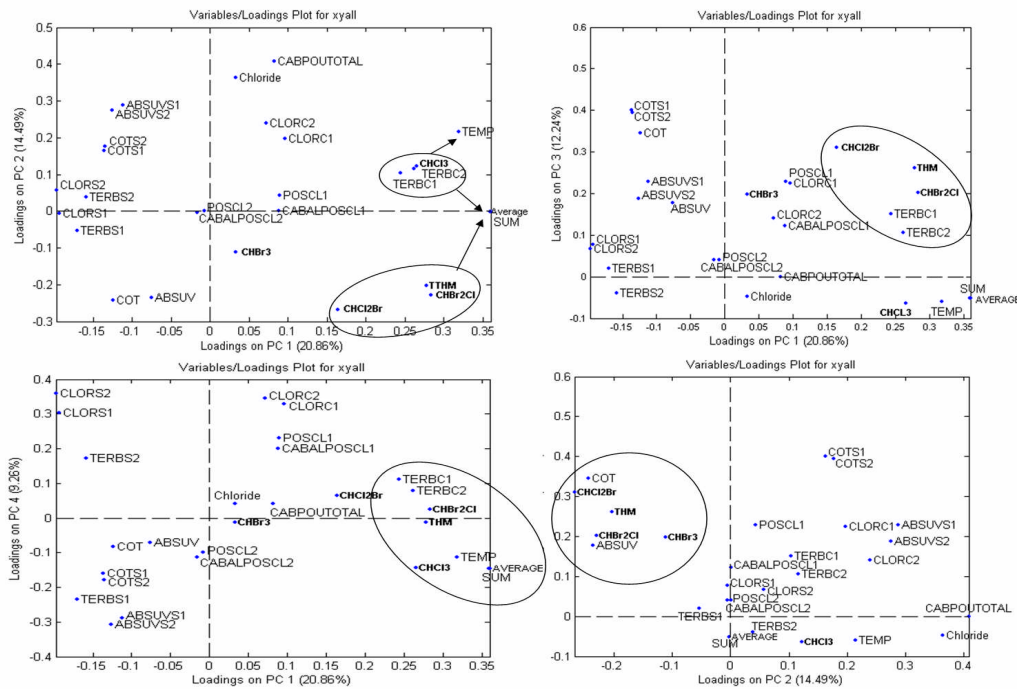


Fig. 1. Loading plots of the first PCs.

Overall, MLR and PLSR methods performed the best and gave similar good predictive properties. The errors in calibration and validation obtained by PCR and SWR were always larger than MLR and PLSR errors. Best predictions were obtained for total trihalomethane concentrations by MLR and PLSR, with average modeling and prediction relative errors of 12% and 16% respectively. The results were similar or even better than the others reported in the literature (Rodriguez et al., 2003). Fig. 2 presents predicted and actual experimental values using calibration data set and PLSR as a regression method.

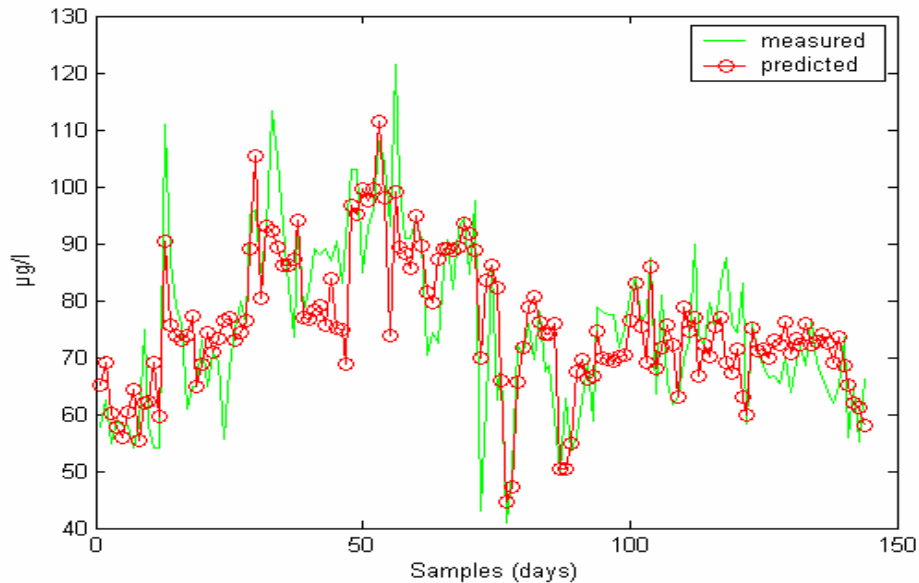


Fig. 2. PLSR prediction model on the calibration data of total trihalomethanes.

Among the individual trihalomethanes,  $\text{CHBr}_3$  was worse predicted with average modeling and prediction relative errors ranged between 21-25% and 29-31% respectively and according to the applied regression method, followed by  $\text{CHCl}_2\text{Br}$  with 23-26% and 25-27%. Better predictions were obtained for  $\text{CHCl}_3$  with relative modeling and prediction errors varied between 21-24% and 23-25% and especially for  $\text{CHBr}_2\text{Cl}$ , where the relative errors, obtained with different regression methods, were in range between 14-17% for the modeling and 21% for the prediction. Attempts of using logarithmic transformation of the data and application of genetic algorithms for variable selection did not improve the results shown previously obtained using bilinear regression methods.

### References

PLS Toolbox 3.5. Eigenvector Research, Manson, WA, USA.

Simpson, K.L., Hayes, K.P., 1998. Drinking water disinfection by-products: an Australian perspective. *Water Res.* 32, 1522-1528.

Statistical Toolbox of MATLAB 6.5. The Mathworks, Natick MA, USA.

Garcia-Villanova, R.J., Garcia, C., Gomez, J.A., Garcia, M.P., Ardanuy, R., 1997. Formation, evolution and modelling of trihalomethanes in the drinking water of a town: I. At the municipal treatment utilities. *Water Res.* 31, 1299-1308.

Rodríguez, M. J., Vunette, Y., Sérodes, J.B., Bouchard, C., 2003. Trihalomethanes in drinking water of greater Quebec region (Canada) : occurrence, variations and modelling. *Environ. Monit. Assess.* 89, 69-93.

## MLR vs PLS regression in analysing a multiresponse experimental design: A case study of tuning a multivariate predictive controller

Barceló, S.<sup>1</sup>; Sanchis, J.<sup>2</sup>; Ferrer, A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Department of Applied Statistics, Operations Research and Quality* and <sup>2</sup> *Department of Systems Engineering and Control, Technical University of Valencia (Spain)*

This research presents a comparison case study of two statistical methodologies to analyze a multiresponse two-level fractional factorial design of experiments. The two methodologies to be compared are the MLR (Multiple Linear Regression) (Draper and Smith, 1998) and PLS (Höskuldsson, 1988; Wold, *et al.*, 1984; Wold, *et al.*, 1999).

The case study that serves as the base for this comparison, involves a commercial-scale polymerization process that produces large volumes of a polymer (high-density polyethylene) with a certain grade used in many familiar consumer products. An integrated EPC/SPC (Engineering Process Control/Statistical Process Control) control system is being developed to control and monitor the process quality and productivity. The manipulated variables are the reactor temperature (T) and the ethylene flow (E) whose changes represent negligible cost when compared to off-target viscosity or low productivity. The controlled variables are the key quality characteristic, that is, polymer viscosity, which is measured by melt index (MI) and a productivity index (APRE), worked out by energy balance.

In this control framework, a discrete linear model that characterizes the process dynamics has previously been identified and estimated from data collected in closed loop operation (Barceló *et al.*, 2003).

Model Predictive Control (MPC) has been applied to develop the engineering control part of the system. MPC refers to a class of control algorithms that need an explicit model to predict the future response of a plant to be controlled. Specifically the DMC (Dynamic Matrix Control) control algorithm (Cutler and Ramaker, 1979) has been used. This represents the first generation algorithms of MPC technology developed in the industry. Key features of the DMC control algorithm include:

- a linear step response model for the plant;
- optimization of a quadratic performance objective over a finite prediction horizon;
- future plant output behavior is specified by trying to follow the set point as closely as possible subject to a move suppression term;
- the optimal inputs computed as the solution to a least-square problem.

The expression of the Quadratic Cost Index is:

$$J = \sum_{i=1}^p \alpha_i [y(k+i|k) - r(k+i|k)]^2 + \sum_{j=1}^m \lambda_j [\Delta u(k+j-1|k)]^2$$



Where,  $p$  is the prediction horizon;  $m$  is the control horizon;  $\alpha_i$  are the weighting error factors and  $\lambda_i$  are the control move suppression factors. These parameters are the DMC tuning parameters and they are related with the closed loop control performance.

Often in the industry, the DMC controller design parameters are chosen in an empirical way based on trial and error selections under closed loop simulations. This procedure does not guarantee the setting of the parameters to optimize the control performance. To avoid this drawback, experimental design techniques can be used to study the effects of the DMC tuning parameters on closed loop performance indexes. In this case these indexes are the controlled variables mean squared errors and variances, and the maximum increments and variances of the manipulated variables.

For comparison purposes, a two-level fractional factorial design (Box et al., 1978) has been carried out and two analysis methodologies have been proposed: fitting as many MLR models as response variables, and fitting a PLS model on all responses simultaneously. Although both approaches give the same results, PLS ability to handle correlated responses in the same model makes this method an easy and practical tool for setting the controller parameters to optimize the controller performance indexes. This result matches the statement that "When several responses have been measured, it is useful to fit a model simultaneously representing the variation of all responses to the variation of the factors" (Eriksson *et al.*, 1999).

#### *Keywords*

Design of experiments, multiple linear regression, partial least squares regression, DMC controllers.

#### *References*

- Barceló, S., Vidal, S., Ferrer, A. (2003). "A Case Study of Comparison of Multivariate Statistical Methods for Process Modelling". 3<sup>rd</sup> Annual Meeting of European Network of Business and Industrial Statistics and ISIS3. Barcelona, Spain. August 2003.
- Box G.E.P., Hunter, W. G., Hunter J.S. (1978). "Statistics for Experimenters". John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Cutler, C. R. Ramaker, B. L. (1979). "Dynamic Matrix Control- a computer control algorithm". AIChE National Meeting. Houston, TX. April 1979.
- Draper, N. Smith, H. (1998). "Applied Regression Analysis". 3<sup>rd</sup> edition. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Eriksson, L., Johansson, E., Kettaneh-Wold, N., Wikström, C., and Wold, S. (1999b). Design of Experiments- Principles and Applications. Umetrics AB. Umea (Sweden).
- Höskuldsson, A. (1988). "PLS Regression Methods". *Journal of Chemometrics* 2, 211-228.

Wold, S., Albano, C., Dunn, III W. J., Edlund, U., Esbensen, K., Geladi, P., Hellberg, S., Johansson, E., Lindberg, W., Sjöström, M. (1984). "Multivariate Data Analysis in Chemistry". In: B.R. Kowalski (ed)+ Chemometrics: Mathematics and Statistics in Chemistry. D. Reidel Publishing Company. Dordrecht (Holland).

Wold, S., Sjöström, M., Eriksson, L. (1999). "PLS in Chemistry". 2006-2020. In: The Encyclopedia of Computational Chemistry. Scheleyer, P.v.R.; Allinger, N.L.; Clark, T.; Gasteiger, J.; Kollman, P.A.;

## ÍNDICE DE AUTORES

<b>Autor</b>	<b>Página</b>
Acha, Francisco	49
Amigo, José Manuel	49
Andrade, José Manuel	11
Argemí, Anna	32
Arroyo, David	13
Barceló, Damià	55
Barceló, Susana	63
Blanchet, Lionel	52
Bonet, E.	26
Boqué, Ricard	45, 47
Bosco, M.V.	54
Callao, Pilar	59
Cela, R.	20
Checa, Antonio	15, 33
Coello, Jordi	49
de Juan, Anna	24, 52
Díez, R.	37
Escuder, L.	26
Esteban, I.	34
Fernández, Elvira	16
Fernández, R.	11
Ferré, Joan	45, 47
Ferrer, Alberto	50, 63
Franch-Lage, Felicitat	49
Fresco, P.	11
García, Juan	20
García, Natividad	58
Garrido, A.	16
Garrido, Mariano	23
Gómez, M.P.	11
Gómez, V.	59
González, J.M.	34
Guerrero, José Emilio	16
Hernández, Santiago	15, 33, 58
Herrero, A.	39, 41
Huvenne, J.P.	52
Kuster, Marina	55
Larrechi, Marisol	23, 54
Leardi, Riccardo	Conferencia plenaria
López, P.	43
López de Alda, Miren	55
Lores, M.	20
Martin, J.	60
Martínez, J.A.	20
Mas, Sílvia	24
Maspoch, Santiago	49
Medina, M.J.	26
Mezzetti, A.	52
Muniategui, S.	43

Oliver, R.	15, 33
Ostra, Miren	49
Ortiz, M <sup>a</sup> Cruz	13, 37, 39, 41
Pérez, Débora	43
Pérez, Dolores	16
Pérez, N.F.	45
Pizarro, Consuelo	34
Platikanov, Stefan	60
Prada, D.	43
Prats, José Manuel	50
Puig, Xavier	60
Raldúa, Demetrio	55
Real, B.D.	39
Reguera, C.	41
Rius, F.X.	23
Rodríguez, N.	39
Ruckebusch, C.	52
Sáenz, Cristina	34
Sagrado, Salvador	26
Sánchez, M.S.	37
Sanchis, J.	63
Sarabia, Luis A.	13, 37, 39, 41
Saurina, Javier	15, 32, 33, 58
Stanton, D.T.	29
Ubide, Carlos	49
Tauler, Romà	24, 43, 55, 60
Terrado, Marta	55
Vidal, Maider	49
Villa, Joe Luis	47
Zarzo, Manuel	29

## LISTA DE PARTICIPANTES

Alcalà, Manel	Universitat Autònoma de Barcelona	manel.alcala@uab.es
Amigo, José Manuel	Universitat Autònoma de Barcelona	josemanuel.amigo@uab.es
Andrade, José Manuel	Universidade da Coruña	andrade@udc.es
Argemí, Anna	Universitat de Barcelona	annaargemi@gmail.com
Arroyo, David	Universidad de Burgos	darroyo@beca.ubu.es
Barceló, Susana	Universidad Politécnica de Valencia	sbarcelo@eio.upv.es
Bautista, Manel	Universitat Autònoma de Barcelona	Manel.Bautista@uab.es
Blanchet, Lionel	Universitat de Barcelona	Lionel.Blanchet@ed.univ-lille1.fr
Boqué, Ricard	Universitat Rovira i Virgili	ricard.boque@urv.cat
Bosco, Marta	Universitat Rovira i Virgili	marta.bosco@urv.net
Botella, Cristina	Universitat Rovira i Virgili	cristina.botella@urv.cat
Cairós, Carlos	Universitat Autònoma de Barcelona	Carlos.Cairos@campus.uab.es
Callao, Pilar	Universitat Rovira i Virgili	mariapilar.callao@urv.cat
Carneiro, Renato	IIQAB-CSIC	renatolajarim@pop.com.br
Checa, Antonio	Universitat de Barcelona	toniche@gmail.com
Colon, Mireia	Universitat de Girona	mireia.colon@udg.es
de Juan, Anna	Universitat de Barcelona	annaj@apollo.qui.ub.es
del Toro, Miquel	Universitat de Barcelona	miqueldeltoro@hotmail.com
Fernández, Elvira	Universidad de Córdoba	g82feah@uco.es
Ferré, Joan	Universitat Rovira i Virgili	joan.ferre@urv.cat
Ferrer, Alberto	Universidad Politécnica de Valencia	aferrer@eio.upv.es
Franch, Felicitat	Universitat Autònoma de Barcelona	Felicidad.Franch@campus.uab.es
García, Juan	Universidad de Santiago de Compostela	juangl@usc.es
García, Natividad	Universitat de Barcelona	nati@apollo.qui.ub.es
Gargallo, Raimundo	Universitat de Barcelona	raimon@apollo.qui.ub.es
Garrido, Mariano	Universitat Rovira i Virgili	mariano.garrido@urv.cat
Güell, Raquel	Universitat de Girona	raquel.guell@udg.es
Hidalgo, Manuela	Universitat de Girona	manuela.hidalgo@udg.es
Larrechi, Marisol	Universitat Rovira i Virgili	mariasoledad.larrechi@urv.cat
Leardi, Riccardo	Università degli Studi di Genova	riclea@dictfa.unige.it
Mas, Sílvia	IIQAB-CSIC	smgqam@iiqab.csic.es
Ortiz, M <sup>a</sup> Cruz	Universidad de Burgos	mcortiz@ubu.es
Peguero, Anna	Universitat Autònoma de Barcelona	anna.peguero@uab.es
Pérez, Débora	Universidade da Coruña	dperez@udc.es
Pizarro, Consuelo	Universidad de La Rioja	consuelo.pizarro@dq.unirioja.es
Platikanov, Stefan	IIQAB-CSIC	splqam@cid.csic.es
Prat, Chantal	Universitat de Girona	chantal.prat@udg.es
Prats, José Manuel	Universidad Politécnica de Valencia	jopramon@eio.upv.es
Puy, Jaime	Universitat de Lleida	jpuy@quimica.udl.es
Ruisánchez, Itziar	Universitat Rovira i Virgili	Itziar.ruisanchez@urv.cat
Sáenz, Cristina	Universidad de La Rioja	cristina.saenz@alum.unirioja.es
Sagrado, Salvador	U. València	Salvador.Sagrado@uv.es
Sánchez, Marta	Universitat de Girona	marta.sanchez@udg.es
Sarabia, Luis A.	Universidad de Burgos	lsarabia@ubu.es
Tauler, Romà	IIQAB-CSIC	rtaqam@iiqab.csic.es
Terrado, Marta	IIQAB-CSIC	mtcqam@iiqab.csic.es
Varón, Miriam	Universitat Autònoma de Barcelona	Miriam.Varon@campus.uab.es
Villa, Joe Luis	Universitat Rovira i Virgili	joeluis.villa@urv.cat
Zarzo, Manuel	Universidad Politécnica de Valencia	mazarcas@eio.upv.es



## **COMITÉ ORGANIZADOR**

Ricard Boqué

Universitat Rovira i Virgili

Raimundo Gargallo

Universitat de Barcelona

Anna de Juan

Universitat de Barcelona

## **AGRADECIMIENTOS**

Ministerio de Educación y Ciencia

Universitat Rovira i Virgili

Universitat de Barcelona

