

DESARROLLO DE UNA PLATAFORMA UNIVERSAL PARA LA ELIMINACIÓN DE EFECTOS MATRIZ EN EL ANÁLISIS DE MUESTRAS BIOLÓGICAS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS Y ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Encarnación Romera-García, Noelia Caballero-Casero, Soledad Rubio

Departamento de Química Analítica, Instituto Universitario de Química Fina y Nanoquímica
Universidad de Córdoba, Campus Universitario de Rabanales, 14071, Córdoba.
e-mail: q02rogae@uco.es

Uno de los principales retos de la aplicación de cromatografía de líquidos y espectrometría de masas (LC-MS) en bioanálisis, especialmente cuando se utilizan fuentes de electrospray (ESI), es la eliminación de los efectos matriz producidos por sustancias endógenas tales como fosfolípidos, proteínas y polisacáridos. La eliminación de proteínas mediante precipitación o exclusión en materiales de acceso restringido se realiza con éxito de forma rutinaria en bioanálisis. Sin embargo, dado el carácter anfífilo de los fosfolípidos, ninguno de los tratamientos generalmente aplicados a muestras biológicas (ej. extracción líquido-líquido o extracción en fase sólida) son eficaces en su eliminación.

Los fosfolípidos se acumulan en la superficie de las gotas de electrospray y originan la supresión de la ionización en LC-ESI-MS de los analitos con los que co-eluye debido a que inhiben la liberación de éstos a la fase gaseosa. Por otro lado, se adsorben fuertemente a la fase estacionaria de LC y producen cambios en los tiempos de retención de los analitos, incrementos en la línea de base del cromatograma y curvas de calibración divergentes.

En este trabajo se propone una estrategia general para la eliminación de proteínas, polisacáridos y fosfolípidos en bioanálisis, basada en el uso de disolventes supramoleculares volátiles con propiedades de acceso restringido (RAM-VOL-SUPRAS). El disolvente se sintetiza in situ, mediante procesos espontáneos de autoensamblaje y coacervación, al añadir hexanol y tetrahidrofurano a la muestra biológica. Las propiedades RAM del SUPRAS permiten la exclusión de proteínas y polisacáridos mediante mecanismos químicos y físicos, respectivamente. Los fosfolípidos se extraen en el SUPRAS y, una vez evaporado el extracto, permanecen en el residuo cuando éste se reconstituye con un disolvente apropiado. La capacidad de eliminación de interferentes, junto con la elevada eficacia de extracción del SUPRAS, permiten la integración de la etapa de extracción de compuestos en un amplio intervalo de polaridad y la purificación de la muestra.

La estrategia descrita se ha aplicado al tratamiento de muestra en la determinación de 13 bisfenoles y derivados en saliva humana mediante LC-ESI-MS/MS. La saliva es una muestra biológica no invasiva, ampliamente utilizada en el control de drogas y cuyo uso en estudios epidemiológicos para determinar la exposición humana a contaminantes está adquiriendo cada vez mayor importancia. El procedimiento consiste en la adición de hexanol (45 μL) y tetrahidrofurano (450 μL) a la muestra de saliva (1005 μL) y después de agitar y centrifugar la mezcla, se evapora el extracto de SUPRAS y el residuo se reconstituye con 300 μL de agua: metanol (50:50, v:v). Los límites de detección (4 - 32 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$) y cuantificación (11 - 48 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$) alcanzados para los 13 bisfenoles son muy bajos y las recuperaciones de los mismos se encuentran en el intervalo del 83% al 105%. El método desarrollado, una vez validado, se ha aplicado a una población de un número restringido de individuos, seleccionados al azar, para conocer la concentración basal de bisfenoles y derivados y cómo varía dicha concentración tras la ingesta de determinados alimentos y tras fumar tabaco. En todos los casos, las concentraciones halladas se encuentran por debajo de los 2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Agradecimientos: Los autores agradecen al MINECO (CTQ2014-53539-R) y a los Fondos FEDER la financiación recibida. Encarnación Romera-García agradece al MECD la beca FPU15/03704.