

Q-P13

Imágenes de fluorescencia para el monitoreo en línea de sistemas en flujo. Generación y análisis de datos multilineales

M. Alcaraz^{a,c}, E. Morzán^b, C. Sorbello^a, H. Goicoechea^c, R. Etchenique^a

^a Laboratorio de Dispositivos Moleculares, INQUIMAE-UBA-CONICET, Buenos Aires, Argentina, C1428EGA.

^b Comisión Nacional de Energía Atómica, CNEA- Buenos Aires, Argentina, B1650KNA.

^c Laboratorio de Desarrollo Analítico y Quimiometría, FBCB-UNL, Santa Fe, Argentina, S3000ZAA.

* e-mail: malcaraz@fbc.unl.edu.ar

Entre las técnicas analíticas tradicionales, la espectroscopia de fluorescencia es quizás la más versátil y sensible para el análisis de una gran variedad de muestras. Las técnicas de fluorescencia en estado estacionario no convencionales, entre ellas, la espectroscopia de excitación-emisión de fluorescencia, se han convertido en poderosas herramientas de análisis para sistemas de múltiples fluoróforos, para experimentos estáticos en cubetas o en configuración en flujo, por ejemplo, acoplados a análisis de inyección en flujo (FIA) o cromatografía de líquidos (LC). En fluorescencia molecular, los espectros de excitación y emisión son particularmente anchos, lo que resulta un inconveniente para los análisis de muestras complejas, siendo la calibración multivariada una excelente alternativa para extraer la información más relevante del sistema, en términos cuantitativos o cualitativos. Para sistemas en flujo o cinéticos, un objetivo muy difícil de lograr es la independencia entre modos instrumentales, debido a que las señales cambian en el tiempo. Si bien la instrumentación moderna permite la adquisición de datos de orden superior, el principal inconveniente se basa en la velocidad de registro de los detectores, que generalmente es menor a la variación de la medida observable. La solución más obvia a este problema es realizar las mediciones de una manera más rápida, incrementando la velocidad de adquisición de las señales analíticas. En este trabajo se presenta un espectrógrafo simple, económico y de rápido registro para la adquisición de matrices de excitación-emisión (EEM) de fluorescencia en sistemas en flujo acoplado a resolución quimiométrica de datos.

El espectrógrafo desarrollado se utilizó en la adquisición de datos multidimensionales y los datos generados se evaluaron de manera cuantitativa y cualitativa en términos de capacidad predictiva de un modelo de calibración de segundo orden y trilinealidad de los datos generados. Este último parámetro se evaluó para un arreglo de datos de 3-vías construidos con varias EEM registradas para diferentes muestras (modelo de calibración de segundo orden) y para un dato de tercer orden obtenido por adquisición de EEM a cada tiempo de elución de una corrida cromatográfica. Ambos modelos fueron construidos para mezclas de analitos fluorescentes.

Los resultados demostraron que el espectrógrafo desarrollado permite la adquisición de EEM lo suficientemente rápida que permite lograr la obtención de datos perfectamente trilineales tanto para análisis cuantitativo mediante calibración multivariada de segundo orden, como también, en el monitoreo de sistemas en flujo, superando satisfactoriamente el inconveniente de dependencia tiempo-detección. Esta contribución representa una valiosa y poderosa herramienta para la obtención de datos de orden superior sin pérdida de multi-linealidad, significando un gran paso para la quimiometría, la química analítica y otras áreas de investigación esencialmente, en el campo de la fisicoquímica y la biología.

¹ M.R. Alcaraz, E. Morzán, C. Sorbello, H.C. Goicoechea, R. Etchenique, Anal. Chim. Acta 1032 (2018) 32-39.

Agradecimientos: Universidad Nacional de Buenos Aires, Universidad Nacional del Litoral, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica