

Kilian Castellví Alonso

**DESENVOLUPAMENT D'UN MÈTODE QUALITATIU MULTIVARIANT
PER LA DETERMINACIÓ D'ADULTERANTS EN PEBRE VERMELL**

TREBALL DE FI DE GRAU

dirigit per la Dra. Maria Pilar Callao Lasmarias

Grau de Química



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Tarragona

2016

Agraïments

En primer lloc, agrair a la directora del treball, Dra. Maria Pilar Callao, per haver-me donar l'oportunitat de realitzar el treball en el seu departament i per la seva paciència, dedicació i aportacions.

En segon lloc, a la Facultat de Química de la Universitat Rovira i Virgili per proporcionar les instal·lacions i l'equip utilitzats.

Per últim, a la meua companya Cristina Márquez, pels seus coneixements i l'ajuda proporcionada, que ha fet possible aquest treball.

Abstract

The main objective of this work has been the development and validation of a qualitative multivariate method in order to determine the adulteration in paprika with Sudan I. Well known quality parameters such as sensibility, specificity and efficiency have been used to validate the method.

All the data has been obtained from UV-Vis and fluorescence.

PCA and SIMCA have been modelled with 2 classes (unadulterated and 5 mg of Sudan I /g paprika). The prediction in SIMCA has been made with samples adulterated with various concentrations of Sudan I. PLS has been used due to the results in SIMCA and two methods of validation have been used (cross validation leave one out and T test).

Índex

1. Objectiu	10
2. Introducció.....	10
3. Fonaments teòrics	11
3.1. Tècniques instrumentals	11
3.1.1. Espectroscòpia ultraviolada-visible molecular	11
3.1.2. Fluorescència molecular	12
3.2. Tractament de dades	13
3.2.1 Pretractaments	13
3.2.2. Anàlisi exploratori de dades: descomposició per components principals (PCA).....	15
3.2.3. Tècniques de classificació: Soft Intedependent Modelling of Class Analogy (SIMCA).....	15
3.2.4. Validació creuada	17
3.2.5. Estimació dels paràmetres de qualitat del mètode de classificació	17
3.2.7. Regressió PLS (mínims quadrats parcials).....	19
3.2.8. Validació del model quantitatiu: Regió de confiança conjunta de pendent i ordenada a l'origen	20
4. Part experimental.....	21
4.1. Mostres	21
4.1.1. Establiment del protocol d'extracció	23
4.1.2. Preparació dels extractes de pebre vermell.....	23
4.1.3. Preparació de la solució de Sudan I.....	23
4.1.4. Adulteració de les mostres.....	24
4.2 Instrumentació	24
4.3. Software.....	24
5. Resultats i discussió.....	25
5.1. Pretractaments	25
5.2. Anàlisi exploratori de les dades.....	26
5.3. Modelització SIMCA	28
5.3.1. Establiment del model	28
5.3.2. Validació del mètode	31
5.3.3. Paràmetres de qualitat.....	31
5.3.4. Predicció	32
5.6. Modelització per PLS	33
6. Conclusions	35

7. Bibliografia.....	36
8. Autoavaluació de les competències B i C	38
Annex I	40

1. Objectiu

L'objectiu d'aquest treball és desenvolupar un mètode qualitatiu multivariant per determinar l'adulteració en pebre vermell amb Sudan I (estructura i fitxa de seguretat en Annex I) per mitjà de l'anàlisi per UV-Vis i fluorescència.

Aquest treball té els següents subobjectius:

- ▲ Estudi de la fusió de les dades de les dues tècniques.
- ▲ Anàlisi quantitatiu multivariant.

2. Introducció

El frau alimentari o adulteració és l'activitat d'enganyar als compradors d'aliments o ingredients amb l'objectiu d'obtenir un benefici econòmic.[2]

El frau alimentari es pot dividir en 3 categories:[3]

- *Canvi*: canvi parcial o complet d'un dels ingredients o d'un valor afegit (p. ex. Productes amb denominació d'origen) per un més barat.
- *Addició*: addició de substàncies per difuminar o amagar la baixa qualitat dels aliments.
- *Eliminació*: eliminació d'un component o valor afegit sense l'addició d'un altre, com en el cas del canvi.

El frau alimentari no és una pràctica moderna, ja que s'han trobat evidències en àmfores romanes d'oli d'oliva i vi adulterat (Mello i altres 1982; Purcell 1985; Armstrong 2009).[4]

Un dels incidents més conegut, relacionat amb problemes sanitaris, és el cas de l'addició de melamina en la llet. Durant els anys 2007 i 2008 es va descobrir que diversos distribuïdors de llet addicionaven melamina per evitar que es detectés la dilució amb aigua que se n'havia fet. La llet és un compost ric en nitrogen i, l'anàlisi del mateix s'utilitzava per a la determinació de la possible adulteració. Amb l'addició de melamina, un compost ric en nitrogen, evitaven que detectessin el frau alimentari que s'estava cometent. El desconeixement del frau i del perfil de toxicitat del compost adulterant van ser la causa de centenars de milers de casos de problemes renals entre nens a Xina.[5]

Un dels majors problemes que hi ha en la detecció del frau alimentari és la gran quantitat d'adulterants que s'utilitzen, siguin de base sintètica o natural i és, en els últims anys, que s'estan trobant tots aquests fraus gràcies al gran desenvolupament tecnològic que ha sofert l'àmbit de la química.

La caracterització dels aliments i ingredients es pot fer mitjançant diverses tècniques analítiques tals com la cromatografia de gasos i líquids o l'espectroscòpia de masses entre altres. Aquestes tècniques són molt utilitzades, ja que ofereixen informació selectiva sobre la mostra però requereixen una preparativa complexa el que dificulta que petites institucions puguin aplicar els mètodes. En canvi, les tècniques d'UV-Vis, infraroig o fluorescència requereixen una preparativa simple obtenint resultats molt bons però poc selectius. Per aquest motiu se solen utilitzar juntament amb tècniques multivariants per obtenir els resultats desitjats.

Una anàlisi qualitatiu és molt útil en els casos d'adulteració per la resposta que s'espera d'ells. En lloc de buscar una concentració exacta, s'espera saber si hi ha un compost o no, o es determinen paràmetres no mesurables de naturalesa qualitativa, com la denominació d'origen en vins.

Les tècniques quimiomètriques d'anàlisi multivariants requereixen un gran volum de dades per poder obtenir informació útil. Per aquest motiu s'utilitzen amb tècniques espectroscòpiques, ja que, a més a més de les característiques mencionades anteriorment, ofereixen el volum de dades adequat.

L'aplicació desenvolupada en aquest treball, té el seu origen en un frau detectat l'any 2003, on la UE sospitava que hi podia haver una possible adulteració en espècies alimentàries pel que va obligar a la comunitat científica a desenvolupar un mètode ràpid i senzill per detectar-ho. Un d'aquests estudis, "*Determining the adulteration of spices with Sudan I-II-III-IV dyes by UV-visible spectroscopy and multivariate classification techniques*"[1], ha servit de base per aquest treball.

3. Fonaments teòrics

3.1. Tècniques instrumentals

3.1.1. Espectroscòpia ultraviolada-visible molecular

Quan la radiació electromagnètica incideix sobre una mostra pot succeir el fenomen de la reflexió, absorció o transmissió. Una part de la radiació inicial (R_0) és reflecta en la superfície del material (R_r), una altra part és absorbida (R_a) mentre que la resta és transmesa a l'altra banda (R_t) tal com es mostra a la Figura 1.

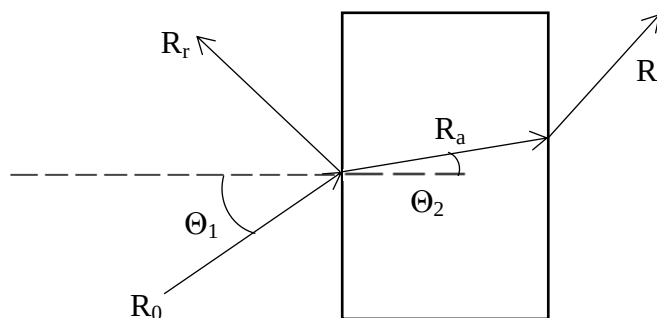


Figura 1. Esquema dels fenòmens de reflexió, absorció i transmissió

El fenomen més important en l'àmbit analític de l'espectroscòpia UV-Vis és l'absorció. El rang de longitud d'ona de la radiació en la zona de l'espectre és 190 a 900 nm. Si la radiació electromagnètica és de la longitud d'ona adequada causa una transició de l'estat electrònic fonamental de les molècules de l'anàlit promocionant un electró a un estat electrònic excitat. Hi ha diverses transicions possibles però la que correspon a aquesta zona de l'espectre és:

- Transicions $n \rightarrow \pi^*$ i $\pi \rightarrow \pi^*$ ($700 > \lambda > 200$ nm)

Són els sistemes d'electrons π (compostos amb insaturacions o sistemes aromàtics) els que sofreixen les transicions en aquest rang de longituds d'ona.

Les transicions $n \rightarrow \pi^*$ corresponen a la regió visible mentre que les altres corresponen a l'UV llunyà i pròxim.[6]

Les transicions més favorables seran aquelles que es donen entre l'orbital molecular ocupat de major energia (HOMO) i l'orbital molecular no ocupat de menor energia.

El resultat d'aquest fenomen provoca que la intensitat de la radiació final (I_f) sigui menor a la radiació inicial (I_0).

$$T = \frac{I_f}{I_0} = e^{-klc} \quad \text{Equació 1}$$

La fracció de la radiació electromagnètica que travessa la mostra s'anomena transmissió (T) (Equació 1). En l'àmbit analític, s'usa la Llei de Lambert-Beer (Equació 2), on l'absorbància ($A = -\log T$) està en funció del coeficient d'extinció (característic de cada espècie), de la longitud del tram que el feix travessa la mostra (l'ample de la cubeta) i de la concentració. [7]

$$A = \epsilon lc \quad \text{Equació 2}$$

On:

- ▲ ϵ : és el coeficient d'extinció,
- ▲ l : és la longitud del feix de llum en la mostra,
- ▲ c : és la concentració de la mostra.

3.1.2. Fluorescència molecular

La fluorescència utilitza la radiació electromagnètica que la mostra emet després d'un procés d'excitació.

Algunes substàncies tenen components amb la capacitat d'absorbir l'energia d'una longitud d'ona específica i emetre'n una altra a una longitud d'ona diferent, sempre de menor energia i de longitud d'ona superior. A aquests compostos se'ls anomena fluoròfors.

Principi de Franck-Condor

Quan el nombre d'àtoms que forma el fluoròfor és elevat, més de 30 àtoms com en el cas de colorants orgànics, els modes normals de vibració de diferents freqüències es troben acoblats als nivells electrònics i, a causa de les col·lisions amb altres molècules i el solvent, les bandes de vibracions s'eixamplen. A més a més, cada nivell vibracional de cada estat electrònic està dividit en subnivells d'estats rotacionals que pels mateixos motius estan eixamplats. Això resulta en un pseudocontinuu d'estats superposats en cada estat electrònic. La població d'aquests nivells segueix la distribució de Boltzmann. En mecànica quàntica, aquests nivells vibracionals i funcions d'ona estan descrits per oscil·ladors harmònics quàntics i rotors rígids juntament amb les correccions adients. Una d'aquestes correccions és el potencial de Morse, que ens indica l'anharmonicitat real del sistema d'estudi, únic per cadascun d'ells (Figura 2).

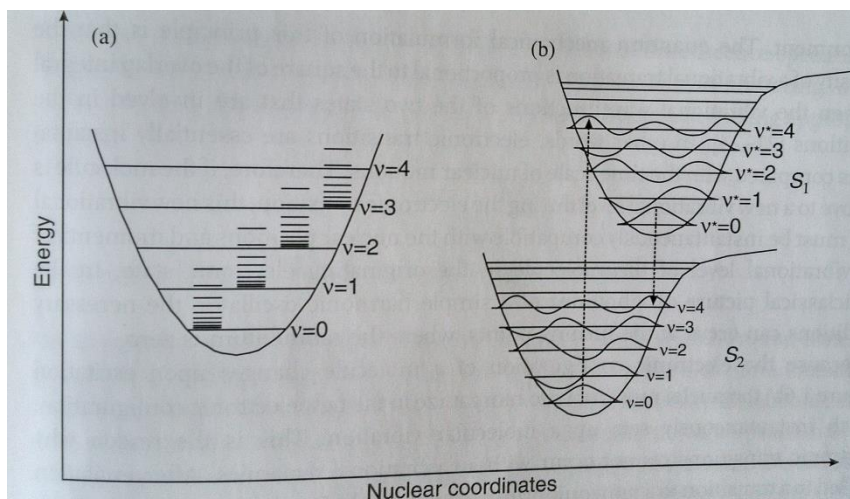


Figura 2. a) corba de potencial ideal per una molècula diatòmica. b) potencials de Morse pel nivell base S_2 i el primer nivell excitat S_1 . [8]

Els estats electrònics de la majoria de compostos orgànics estan dividits en singlets i triplets. En excitar els fluoròfors amb llum de longitud d'ona adequada, aquests tenen tendència a quedar-se en un estat vibracional concret de l'estat singlet excitat (Figura 3). L'ocupació de l'estat singlet és controlada per les interaccions de l'electró implicat en la transició amb el camp elèctric de la llum d'excitació. Juntament amb els relaxaments radiatius, també es donen relaxacions no radiatives que redueixen l'eficiència.

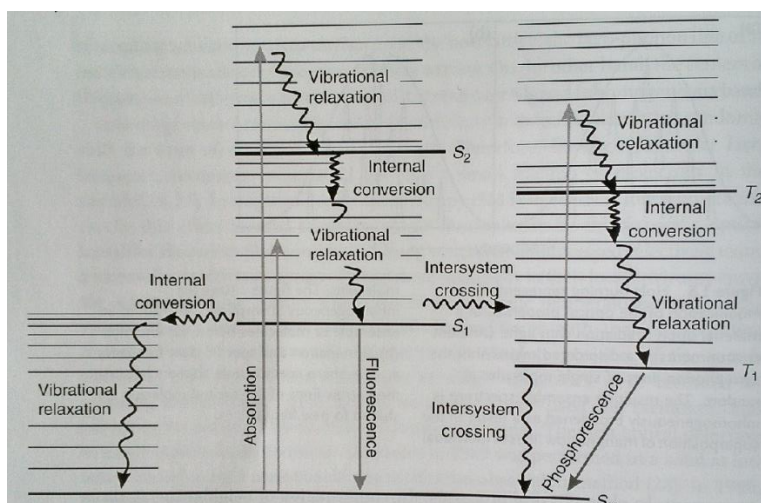


Figura 3. Diagrama de Jablonski descrivint els nivells electrònics i les possibles transicions entre ells. [8]

3.2. Tractament de dades

3.2.1 Pretractaments

Un espectre pot incorporar components no relacionades amb la informació d'interès tant d'alta freqüència com el soroll, com de baixa freqüència com la deriva o desplaçaments de la línia base.

Correcció de la línia base

Per tal de corregir aquest efecte s'utilitza una correcció de la línia base on s'ajusta la línia base amb un polinomi, normalment de primer o segon grau. [9]

El programari utilitzat ofereix dues opcions per realitzar la correcció de la línia base: aplicar un model matemàtic basat en mínims quadrats a tot l'espectre o només a una zona determinada.

Suavitzat per Savitzky Golay

Els mètodes de suavitzat tenen l'objectiu de reduir variables d'alta freqüència a partir d'eines matemàtiques que proporcionant una major relació senyal/soroll.

El suavitzat per Savitzky Golay es basa en substituir els valors centrals, dins una finestra definida, que es desplaça per l'espectre, pels corresponents predits per un polinomi establert ajustat pel mètode dels mínims quadrats. [10]

És necessari ajustar dos paràmetres per realitzar el suavitzat: l'amplada de la finestra i l'ordre del polinomi la qual s'ajusta.

La transformació que s'utilitza és la mostrada en l'Equació 3.

$$y'_i = \frac{\sum_{j=-m}^m c_i \cdot y_{i+j}}{NORM} \quad \text{Equació 3}$$

On:

- ▲ y'_i : Resultat suavitzat
- ▲ y_{i+j} : Senyal original
- ▲ c_i : Coeficient tabulat en funció de l'ample de la finestra ($2m + 1$)
- ▲ **NORM**: Constant de normalització. Està en funció del sumatori dels valors de c_i .

Variant els paràmetres es pot aconseguir optimitzar la relació senyal/soroll. Encara així s'ha de tenir cura, ja que si s'aplica massa suavitzat, es pot perdre resolució i produir una disminució de la intensitat respecte de l'espectre original.

Un exemple de l'efecte del suavitzat es pot veure en la Figura 4.

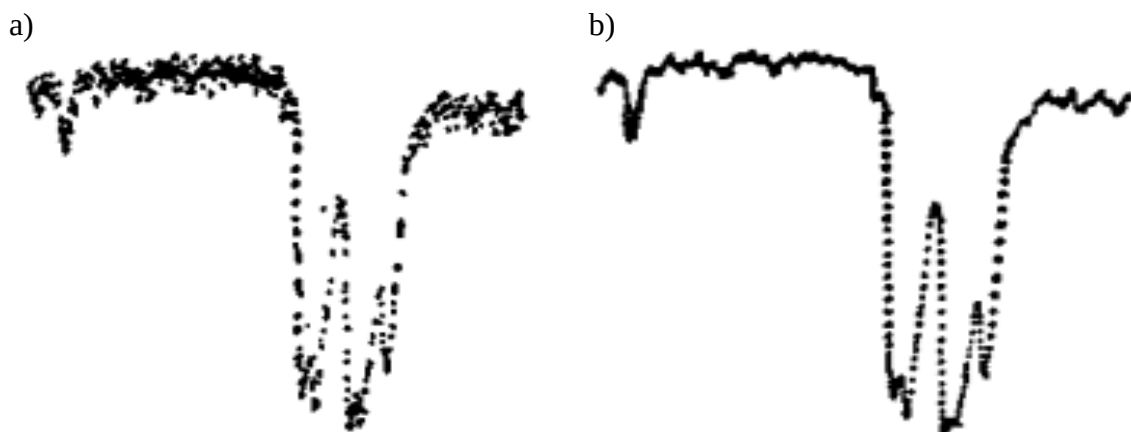


Figura 4. a) Espectre abans d'aplicar el suavitzat, b) Espectre després del suavitzat. [10]

Centrat

Per evitar que dades que estan més lluny de l'origen obtinguin una importància major que les altres, es realitza un centrat d'aquestes. Per fer aquesta tasca s'aplica l'Equació 4. [11]

$$x_{nj}^{cen} = x_{nj} - \bar{x}_j \quad \text{Equació 4}$$

On:

- ▲ x_{nj}^{cen} : Dades ja centrades.
- ▲ x_{nj} : Dades originals.
- ▲ $\bar{x}_j$: Mitjana de les dades originals.

3.2.2. Anàlisi exploratori de dades: descomposició per components principals (PCA)

A causa de l'alt nombre de variables que les tècniques espectroscòpiques proporcionen, és necessari reduir-ne la dimensionalitat si se'n vol fer una anàlisi exploratòria. Una de les eines més conegudes i aplicades és la descomposició per components principals, PCA.

Aquesta descomposició implica calcular noves variables, anomenades components principals (PCs), combinació lineal de les originals. Aquests segueixen la direcció de màxima variància en les dades, ergo, retenen la màxima informació. Els PCs estan jerarquitats, on el primer PC té molta més variància explicada que el següent, pel que amb pocs PCs es té molta informació.

Els PCA consisteixen en la descomposició de la matriu original de dades X (de dimensions $I \times J$, on I són les mostres i J les variables) en dues matrius.

$$X = T_k P_k^T + E \quad \text{Equació 5}$$

On T_k és la matriu *d'scores* que conté tantes files com té la matriu original, P_k és la matriu de *loadings* amb tantes columnes com la matriu original, k és el nombre de component principals considerats (on el màxim és el mínim entre mostres i variables) i E és la matriu de residuals, informació no contemplada.

La matriu *d'scores* ens informa dels valors de cada mostra i els *loadings* ens informen de la influència de les variables. Al mateix temps, PCA ens permet fer una representació bidimensional de les dades.

3.2.3. Tècniques de classificació: Soft Intedependent Modelling of Class Analogy (SIMCA)

Les tècniques de classificació tenen com a objectiu assignar la pertinència de les mostres a classes prèviament definides. Per exemple, si tenim 2 classes definides (mostres adulterades i no adulterades) es pot analitzar per la mateixa tècnica instrumental una mostra del mateix tipus i interpolar en els models de les dues classes per a predir si està o no dins el model.

SIMCA estableix un model basat en l'anàlisi de components principals, on cada classe és modelada independentment.

El primer pas és determinar el nombre òptim de PCs. Per tal d'avaluar-ne el nombre òptim, per a models amb nombres creixents de PCs, es calcula l'error (RMSECV) enfront del nombre de PCs considerats (Figura 5).

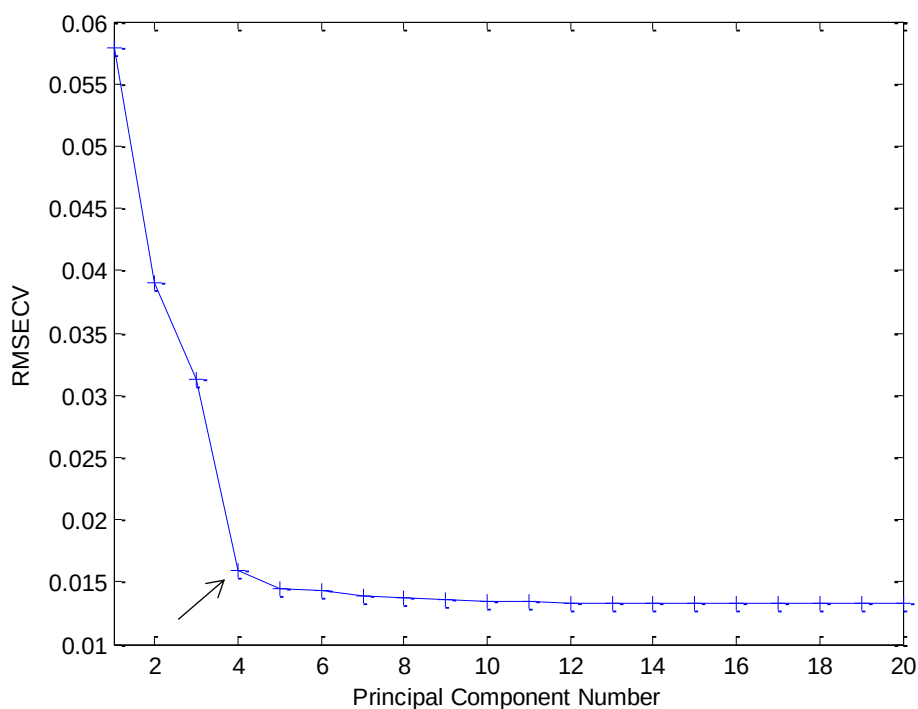


Figura 5. Representació de l'error en funció del nombre de PCs.

En l'exemple de la figura superior, s'escolliria treballar amb 4 PCs degut que l'error del següent PC no varia considerablement.

Les mostres queden caracteritzades en relació al model per dos estadístics: Q i T^2 .

L'estadístic Q es defineix com la suma dels quadrats dels residuals (Equació 6), per tant, està relacionada amb la quantitat d'informació original de la mostra no inclosa en el model.

$$Q_i = e_i e_i^T \quad \text{Equació 6}$$

On e_i és el residual de la mostra i després d'aplicar el model SIMCA. L'estadístic T_i^2 Hotelling mesura la informació de cada mostra dins el model (Equació 7), proporciona un valor de com bé cada mostra encaixa en el model.

$$T_i^2 = I(x_i - \bar{x})S^{-1}(x_i - \bar{x})' \quad \text{Equació 7}$$

On I és el nombre de mostres en el grup de prova, x_i és la mesura multivariant de la mostra i , $\bar{x}$ és el valor mitjà de la columna del grup de prova i S és la desviació estàndard corresponent.

Considerant un nivell de significació α , de 0.05, s'estableixen les fronteres del model mitjançant els paràmetres estadístics $Q_{\text{límit}}$ i $T_{\text{límit}}^2$ Hotelling.

Per una assignació més fàcil, es pot treballar amb la forma reduïda de T^2 Hotelling i l'estadístic Q . T_r^2 i Q_r poden ser calculats a partir de la relació entre el corresponent estadístic de la mostra i i el seu límit (Equació 8).

$$T_r^2 = \frac{T_i^2}{T_{\text{límit}}^2} ; Q_r = \frac{Q_i}{Q_{\text{límit}}} \quad \text{Equació 8}$$

Segons la “SIMCA bàsica”, els límits del model estan definits per aquests estadístics reduïts. Una mostra ha de tenir un valor inferior a 1 per poder-la considerar dins el model.

També hi ha la “SIMCA restrictiva”, on s'avalua la distància entre una mostra i i el model j definida en l'Equació 9. Igual que en el cas anterior, qualsevol mostra amb valor inferior a 1 es considera dins el model.[13]

$$d_{ij} = \sqrt{(Q_r)^2 + (T_r^2)^2} \quad \text{Equació 9}$$

3.2.4. Validació creuada

Un cop establir el model de classificació, és necessari validar-lo per comprovar l'habilitat de classificació. Amb aquest objectiu es pot realitzar una validació creuada si el nombre de mostres disponibles és poc elevat.

Hi ha diversos processos de validació, però l'utilitzat en aquest treball és *leave one out*. Es realitza un model amb $n - 1$ mostres i s'utilitza la restant per ser predita. Iterativament es canvia la mostra externa al model fins a haver-ho fet un total de n vegades. S'assumeix que el model amb $n - 1$ mostres té característiques similars amb el realitzat amb totes.

3.2.5. Estimació dels paràmetres de qualitat del mètode de classificació

Després d'establir un model de classificació és necessari avaluar-n'hi els paràmetres de qualitat.

SIMCA considera una mostra positiva quan entra dins el model de la classe avaluada i negativa quan no entra.

Amb aquesta possibilitat binària de respostes, i considerant un model *2 Class*, es poden donar els següents casos:

- Conclusius:
 - ▲ Verdader positiu (TP): quan el mètode dona la mostra com positiva quan ho és realment.
 - ▲ Fals positiu (FP): quan el mètode dona la mostra com positiva quan no ho és realment.
 - ▲ Verdader negatiu (TN): quan el mètode dona la mostra com negativa quan ho és realment.

- ▲ Fals negatiu (FN): quan el mètode dona la mostra com a negativa quan no ho és realment.
- Inconclusius:
 - ▲ Doble assignació: quan el mètode dona la mostra com positiva en les dues classes.
 - ▲ Cap assignació: quan el mètode dona la mostra com negativa en les dues classes.

En predir totes les mostres per cada classe s'obté els resultats com els representats en la Taula 1 (taula de contingència).

Taula 1. Taula de contingència

		Pertinència real de les mostres	
		Positiva	Negativa
Predicció de els mostres	Positiva	TP	FP
	Negativa	FN	TN
	Mostres totals analitzades	TP+FN	FP+TN

A partir de les dades de la taula s'obtenen els paràmetres de qualitat (Taula 2).

La sensibilitat ens defineix el percentatge de mostres que pertanyen al model que ell mateix reconeix (TP). L'especificitat indica quantes mostres que no pertanyen al model estan reconegudes com fora del model (TN). Finalment, l'eficiència és una mesura general de la qualitat del mètode, en avaluar de forma global el nombre de TN i TP d'un model respecte al total. També hi ha altres paràmetres de qualitat menys comuns com l'índex *Youden's* i l'índex *Likelihood*.

Taula 2. Paràmetres de qualitat

Sensibilitat	$\frac{TP}{TP + FN}$
Índex de fals negatiu (FN) (1-sensibilitat)	$\frac{FN}{TP + FN}$
Especificitat	$\frac{TN}{TN + FP}$
Índex de fals positiu (FP) (1-especificitat)	$\frac{FP}{TN + FP}$
Eficiència	$\frac{TN + TP}{TN + FP + TP + FN}$

3.2.7. Regressió PLS (mínims quadrats parcials)

La regressió de mínims quadrats parcials és model de regressió lineal (Equació 10) que relaciona les variables predites amb les observables.

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots \quad \text{Equació 10}$$

On:

- ▲ **y**: variable predita (habitualment concentració).
- ▲ **b_i**: coeficient del model.
- ▲ **x_i**: variable observada (absorbància a la λ_i).

L'enfocament més utilitzat d'aquest mètode s'anomena PLS1. Hi ha múltiples algoritmes però el principal és de *Wold i Martens*. En lloc de modelar exclusivament la variable x , dos sets de models s'obtenen segons les Equacions 11 i 12.

$$X = T \cdot P + E \quad \text{Equació 11}$$

$$c = T \cdot q + f \quad \text{Equació 12}$$

Les matrius es troben en la Figura 6.

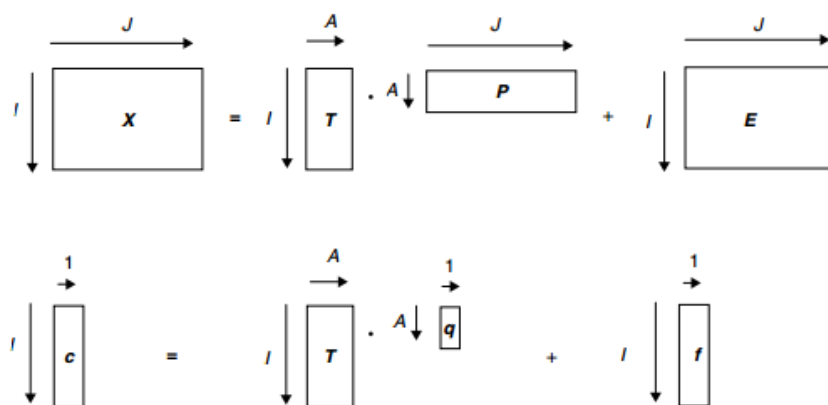


Figura 6. Representació de les matrius en PLS1

La matriu **q** és anàloga als *loadings* però sense normalització. Com que PLS té en compte la concentració, és possible obtenir una matriu d'*scores* que sigui comuna per concentracions (c) i mesures (x). A diferència de PCA, en aquesta tècnica s'obté un únic set de *loadings* i *scores* per cadascun dels components en les dades. En cada component de PLS hi haurà:

- ▲ Vector d'*scores* **t**
- ▲ Vector de *loadings* de l'espectre **p**.
- ▲ Un *loadings* escalar de concentració **q**

L'Equació 13 mostra la fórmula que utilitza PLS per predir concentracions.

$$\hat{c}_{in} = \sum_{a=1}^A t_{ian} q_{an} + \bar{c}_n \quad \text{Equació 13}$$

On $\bar{\mathbf{c}}_n$ és el vector de la mitjana de concentracions. Per ell, els *scores* de cada component de PLS és proporcional a la contribució de cada component a la concentració estimada.[17][18]

3.2.8. Validació del model quantitatiu: Regió de confiança conjunta de pendent i ordenada a l'origen

Durant l'obtenció d'un model quantitatiu és necessari seleccionar el nombre òptim de LV (latent variables), homòlegs als PCs en PCA, i analitzar si hi ha *out-layers*. Després és necessari validar aquest model. Hi ha diverses opcions per fer-ho però en aquest treball s'ha utilitzat el test conjunt de pendent i ordenada a l'origen.

Del model de PLS s'obtenen les concentracions predites, que juntament amb les dades prèvies de concentracions conegudes es pot realitzar una regressió en forma d'una recta, amb pendent pròxim a 1 i ordenada a l'origen proper a 0.

L'objectiu és veure si l'equació de recta de les mostres predites és comparable a la recta de predicció ideal, amb pendent (β_1) d'1 i ordenada a l'origen (β_0) de 0, amb un nivell de significació concret ($\alpha = 0.05$) i el valor de $F_{\alpha;2;n-2}$.

Hi ha dos mètodes per saber si són comparables o no. El primer és fer la representació de l'el·lipse de confiança conjunta, on es busquen els valors de b_0 i b_1 . En el gràfic que s'obté (Figura 7), s'avalua si el punt (0,1) està dins l'el·lipse, on es determina que ambdues rectes són comparables, ergo el model quantitatiu és adient. Per altra banda es pot determinar mitjançant l'Equació 14. Si el valor F_{calculat} és menor del F_{tabulat} s'afirma que son comparables.[19]

$$F = \frac{(\beta_0 - b_0)^2 + 2\bar{x}(\beta_0 - b_0)(\beta_1 - b_1) + \left(\sum \frac{x_i^2}{n}\right)(\beta_1 - b_1)^2}{\frac{2s_e^2}{n}} \quad \text{Equació 14}$$

On:

- ▲ β_0 : ordenada a l'origen ideal
- ▲ b_0 : ordenada a l'origen del model
- ▲ β_1 : pendent ideal
- ▲ b_1 : pendent del model
- ▲ $\bar{x}$: mitjana de les variables observades
- ▲ x_i^2 : quadrat de les variables observades
- ▲ s_e^2 : variància de les variables observades
- ▲ n : nombre de variables

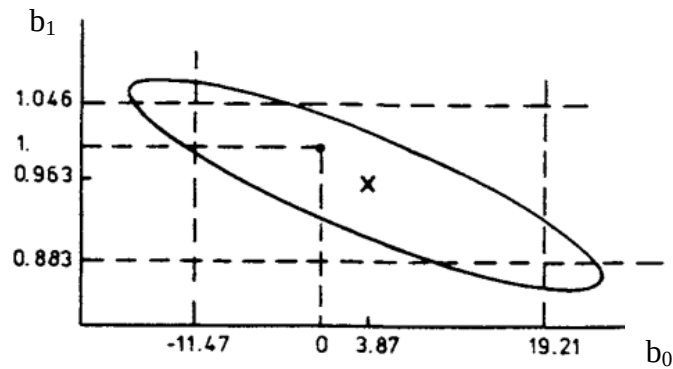


Figura 7. Regió de confiança conjunta [19]

4. Part experimental

L'experimentació realitzada es detalla en l'Esquema 1.

Esquema 1. Experimentació realitzada



4.1. Mostres

Les mostres de pebre vermell s'han obtingut d'establiment d'alimentació i grans superfícies. El codi utilitzat com la descripció de totes les mostres i de l'adulterant es pot trobar en la Taula 3.

Taula 3. Nom, codi i descripció de cada mostra i dels adulterants

Nom	Codi	Descripció
Mostra 1	M1	Pebre vermell dolç Carmencita
Mostra 2	M2	Pebre vermell dolç Ducros
Mostra 3	M3	Pebre vermell dolç Alex
Mostra 4	M4	Pebre vermell dolç De La Vera
Mostra 5	M5	Pebre vermell dolç Coaliment
Mostra 6	M6	Pebre vermell dolç Kania
Mostra 7	M7	Pebre vermell dolç Burriac
Mostra 8	M8	Pebre vermell dolç Dani
Mostra 9	M9	Pebre vermell dolç Bonpreu
Mostra 10	M10	Pebre vermell dolç Coviran
Mostra 11	M11	Pebre vermell dolç Hacendado
Mostra 12	M12	Pebre vermell picant Ducros
Mostra 13	M13	Pebre vermell picant Coaliment
Mostra 14	M14	Pebre vermell picant Coviran
Mostra 15	M15	Pebre vermell picant Kania
Mostra 16	M16	Pebre vermell picant Burriac
Mostra 17	M17	Pebre vermell picant Carmencita
Mostra 18	M18	Pebre vermell picant Hacendado
Mostra 19	M19	Pebre vermell picant Appetita
Mostra 20	M20	Pebre vermell picant De La Vera
Mostra 21	M21	Pebre vermell picant Dani
Mostra 22	M22	Pebre vermell dolç La Noveldensa
Mostra 23	M23	Pebre vermell picant La Noveldensa
Mostra 24	M24	Pebre vermell dolç Vivochef
Mostra 25	M25	Pebre vermell picant Alex
Adulterant Sudan I	S1	

4.1.1. Establiment del protocol d'extracció

Per tal de poder analitzar les mostres s'ha necessitat una etapa d'extracció dels colorants de les espècies. Per establir les condicions d'aquesta etapa s'ha realitzat diferents proves. Els paràmetres que s'han avaluat són:

- ▲ Volum d'acetonitril (6, 8 i 10 ml)
- ▲ Temps d'extracció (5 i 10 minuts)
- ▲ Nombre d'extraccions (6 i 8 vegades)
- ▲ Quantitat d'espècia (100 i 250 mg)
- ▲ Nivell d'agitació magnètica (mitjà i mitjà-alt)

En la primera prova s'ha determinat que amb 6 extraccions és suficient per extreure els components de 100 mg d'espècia. També s'ha vist que 6 ml no són suficients en espessir-se l'acetonitril en incorporar l'espècia.

S'ha realitzat una segona prova per saber si la concentració d'espècia a la qual es vol treballar, 100 mg en 100 ml d'acetonitril, és l'adequada pels límits de detecció de l'instrument i si l'enràs amb aigua és viable. S'ha analitzat la mostra per UV-Vis en el rang de 260-600 nm. La dilució preparada amb aigua ha quedat tota la superfície del matràs amb bombolles d'aire. A causa d'aquest fet s'ha desestimat la idea de fer els enrasats amb aigua.

S'ha considerat fer l'extracció a 250 mg d'espècia que s'enrasarien a 250 ml. Considerant l'augment d'espècia s'ha decidit augmentar el volum durant l'extracció a 10 ml d'acetonitril. S'han necessitat 7 extraccions.

4.1.2. Preparació dels extractes de pebre vermell

Després de realitzar totes aquestes proves, les extraccions s'han realitzat amb els següents paràmetres:

- ▲ 7 extraccions
- ▲ 250 mg d'espècia
- ▲ 5 minuts d'extracció
- ▲ 10ml d'acetonitril
- ▲ Intensitat d'agitació mitja-alta

L'extracte resultant s'obté amb una concentració aproximada de 1000 ppm. Per evitar possible degradació dels compostos orgànics presents, s'han transvasat tots els extracte a envasos hermètics i s'han guardat a la nevera.

4.1.3. Preparació de la solució de Sudan I

La solució de Sudan I s'ha realitzat a partir d'una més concertada per reduir l'error de pesada que obtindríem si es fes directament. Aquesta última s'ha fet enrasant la massa adient en un matràs aforat de 250 ml.

Posteriorment d'aquesta solució concentrada s'ha fet una dilució 1/10 pipetejant 25 ml en un matràs aforat de 250, volum adequat per totes les adulteracions que realitzarem i per possibles equivocacions que puguin ocórrer. D'aquesta manera s'ha obtingut la solució de S1 de 50 ppm adequada per fer les adulteracions.

4.1.4. Adulteració de les mostres

Per fer les mostres s'han utilitzat 5 ml de la solució de l'extracte que s'han enrasat a 25 ml amb acetonitril després d'agregar l'adulterant adequat. La quantitat aproximada d'espècia extreta en cada mostra és de 50 mg.

En la Taula 4 es presenten les característiques de les mostres analitzades.

Taula 4. Característiques de les mostres

Mostra	Concentració objectiu (mg Sudan/g espècia)	Concentració final Sudan (ppm)
No adulterada	0	0
Adulteració 1	1	0.2
Adulteració 2	2	0.4
Adulteració 3	3	0.6
Adulteració 4	4	0.8
Adulteració 5	5	1.0
Adulteració 6	6	1.2
Adulteració 7	7	1.4
Adulteració 8	8	1.6
Adulteració 9	9	1.8
Adulteració 10	10	2.0
Adulteració 11	11	2.2
Adulteració 12	12	2.4

4.2 Instrumentació

Per dur a terme l'anàlisi de les mostres s'han utilitzat els instruments UviLine 9400 de SI Analytics i RF-5301 PC Spectrofluorophotometer de Shimadzu i una cubeta de quars per evitar l'absorció a les longituds d'ona de treball. Es van recollir els espectres en el rang de 260 a 600 nm per UV-Vis i per fluorescència s'ha utilitzat l'opció síncron en el rang de 420 a 710 nm, una finestra de 3 per excitació i emissió i un temps de resposta de 0.25 segons.

4.3. Software

Totes les dades obtingudes dels instruments s'han preparat amb Microsoft Excel 2010 per posteriorment introduir-les amb el format correcte al programari anterior.

El tractament quimiomètric de les dades s'ha dut a terme amb el programa *Matlab*[®] 12.0 i la *PLS Toolbox* 4.0.

5. Resultats i discussió

5.1. Pretractaments

En la Figura 8 a) i c) es poden observar els espectres originals de les mostres no adulterades obtinguts a partir de les tècniques d'UV-Vis i fluorescència respectivament. En UV-Vis s'aprecia que al final de l'espectre hi ha una zona amb desplaçament vertical. En fluorescència s'observa una deriva lleugera de la línia base. En ambdós espectres també es veu un soroll al llarg de tot l'espectre. Per millorar els espectres s'ha decidit realitzar els següents pretractaments.

Correcció de la línia base

S'ha realitzat una correcció de la línia base a partir d'un model matemàtic basat en mínims quadrats pels espectres de fluorescència amb un polinomi d'ordre 1. S'ha provat el polinomi d'ordre 2 però s'obté el mateix resultat. Per UV-Vis s'ha realitzat una correcció de la línia base per una zona determinada. S'ha experimentat agafant els dos extrems de l'espectre però el resultat ha sigut un espectre molt deformat i on es perd la informació de l'inici. La millor opció ha estat elegint només la part final de l'espectre amb ordre 0 en el polinomi.

Suavitzat

S'han realitzat diversos suavitzats pel mètode Savitzky Golay variant l'amplada de la finestra i l'ordre del polinomi (Taula 5). Els resultats són els mateixos per ambdues tècniques.

Taula 5. Variables de suavitzat

Prova	Amplada de la finestra	Ordre del polinomi	Característiques del espectre final
1	15	0	Pèrdua informació
2	4	2	Massa soroll
3	11	2	Bona relació senyal/soroll
4	9	3	Bona relació senyal/soroll
5	9	6	Massa soroll

S'ha decidit utilitzar una amplada de finestra d'11 amb l'ordre de polinomi de 2 en lloc dels paràmetres de la prova 4 perquè visualment no eren tan bons. En la Figura 8 b) i d) es pot veure els espectres corregits amb els pretractaments aplicats. L'eix de les abscisses no correspon, hauria de ser longitud d'ona, però no s'ha pogut obtenir els espectres amb aquest eix.

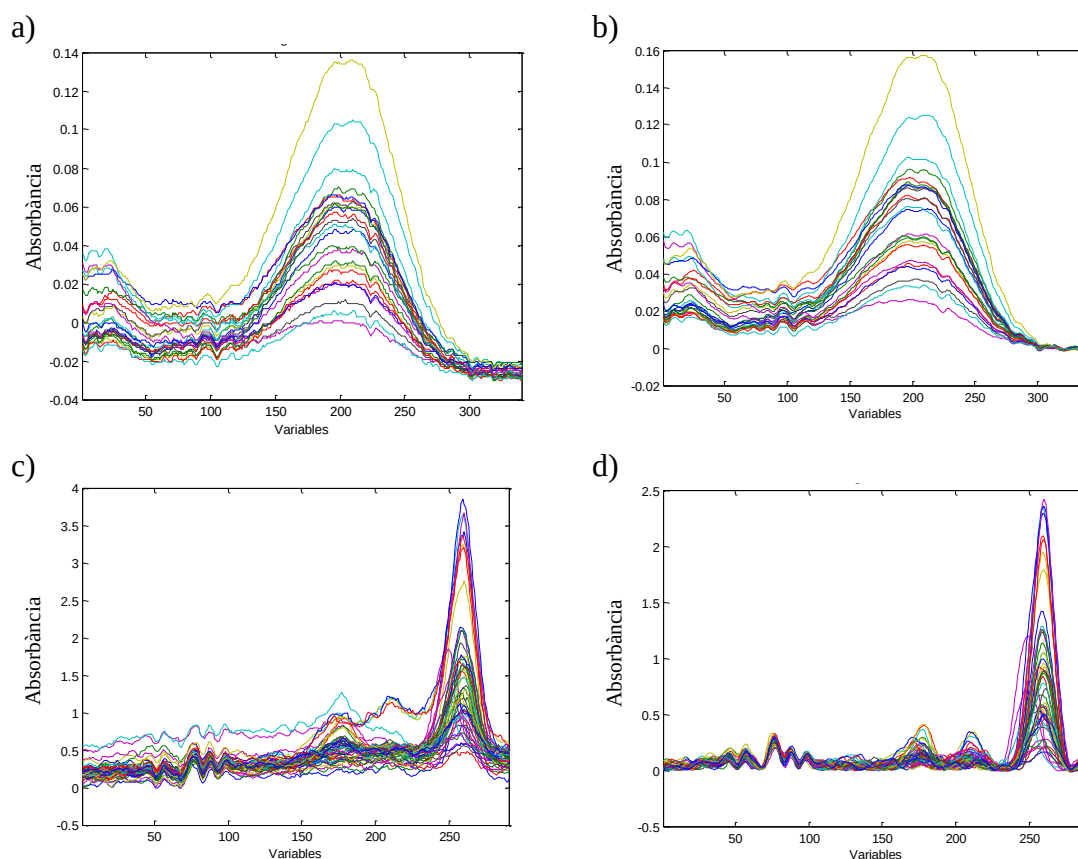


Figura 8. Espectres UV-Vis de la mostra no adulterada. a) UV-Vis original, b) UV-Vis amb els pretractaments, c) Fluorescència original i d) Fluorescència amb els pretractaments.

Les dades s'han centrat segons indica l'Equació 4.

5.2. Anàlisi exploratori de les dades

Un cop realitzats tots els pretractaments anteriorment mencionats, s'ha realitzat una anàlisi exploratori de les dades mitjançant PCA. S'ha construït una matriu única on s'inclouen les dades de les mostres no adulterades i de 5 mg/ g d'espècia per les dues tècniques.

Com es pot observar en la Figura 9, els valors de *scores* per UV-Vis es distribueixen principalment pel PC 1 i es pot distingir dos grups, els triangles són mostres no adulterades i les estrelles són adulterades. No s'ha considerat el PC 3, ja que no ha aportat cap informació útil en aquesta etapa per cap de les dues tècniques. En UV-Vis s'ha observat una clara distribució de les mostres adulterades i no adulterades al llarg del PC1. També s'ha observat que el PC2 no conté informació important. En el cas de fluorescència, els valors dels *scores* de les mostres adulterades i no adulterades estan distribuïdes sense una tendència clara en el PC 1. També s'ha vist que tres mostres no adulterades es dispersen en el PC 2, corresponent a una espècia de la classe dolç i dos de picant i 4 mostres d'ambdues classes en un *score* molt més alt que la resta sense unes característiques comunes entre elles, dues dolces i dos picants.

No s'ha observat una diferència clara entre les mostres d'espècia picant i les dolces en les dues tècniques.

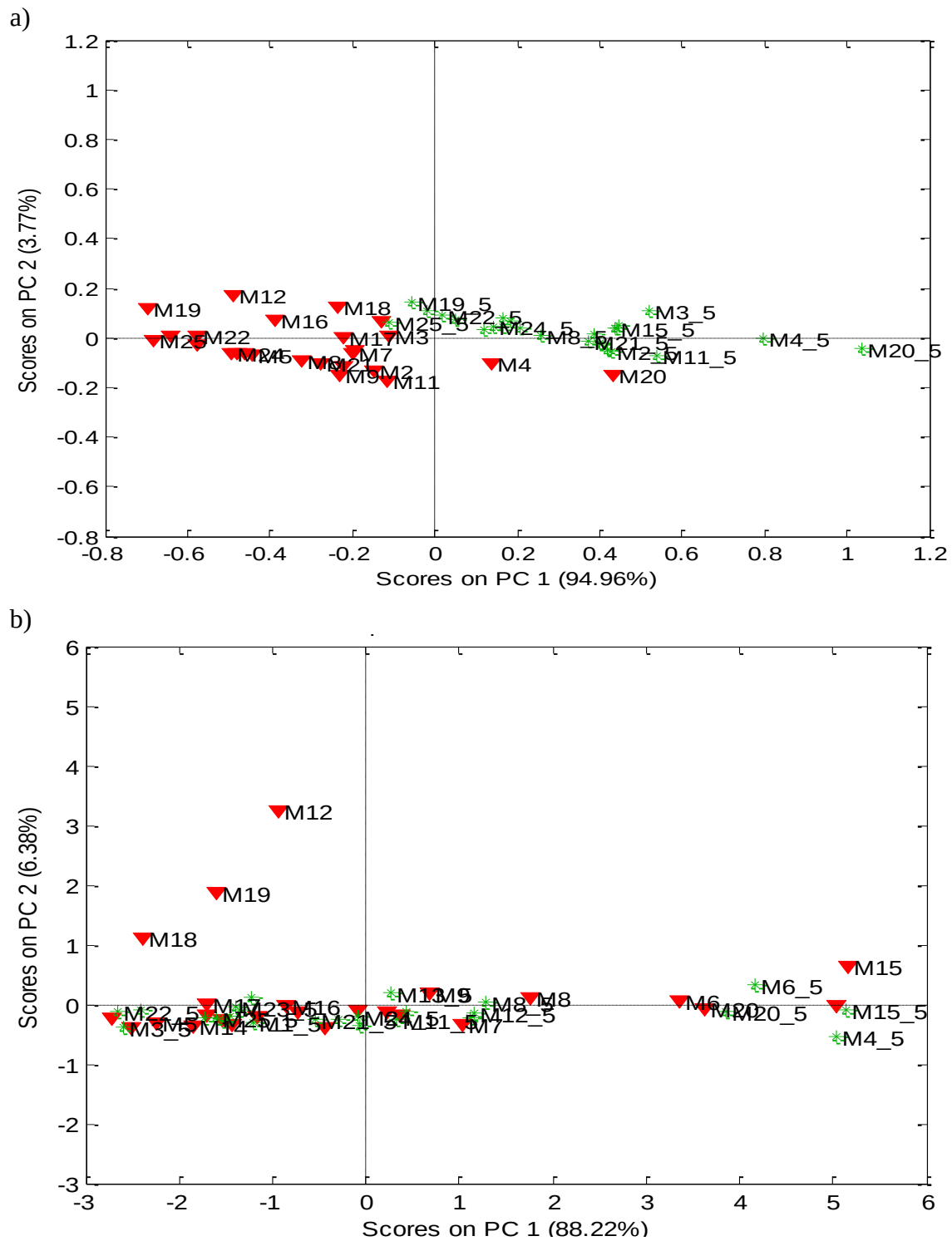


Figura 9. a) Scores amb PC1 i PC2 per UV-Vis, b) Scores amb PC1 i PC2 per fluorescència.

5.3. Modelització SIMCA

5.3.1. Establiment del model

S'ha modelitzat amb 3 PCs i 4 PCs per la primera (no adulterada) i segona classe (adulterada) respectivament per UV-Vis i per 6 PCs i 5 PCs per fluorescència.

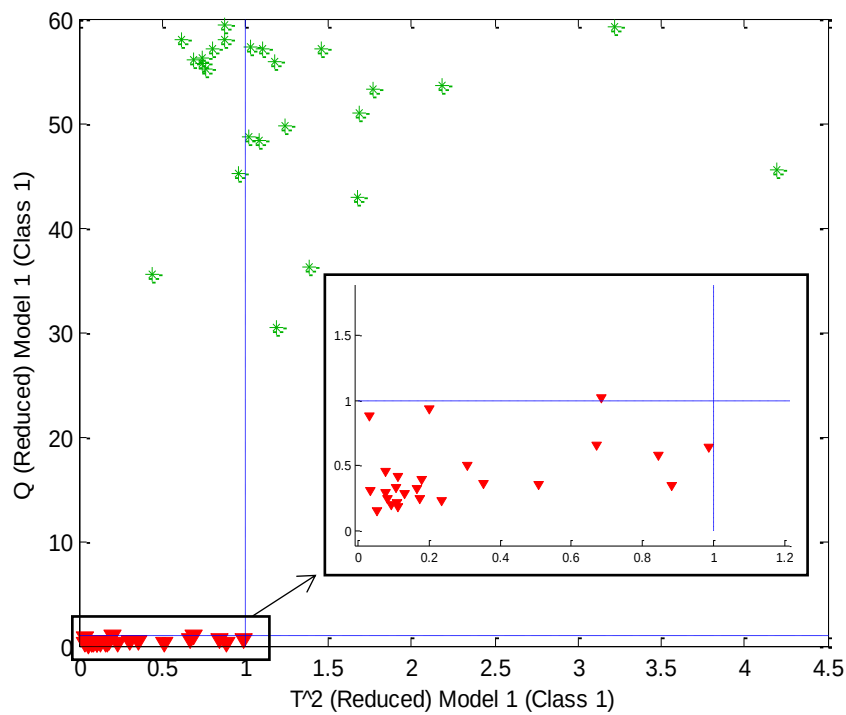
Amb l'establiment les fronteres del model amb un nivell de significació del 95% (marcat amb una línia blava discontinua) i la representació de dos estadístics reduïts, T^2 Hotelling i Q estadístic, s'ha vist la distribució de les mostres adulterades i no adulterades per UV-Vis i fluorescència (Figura 10 i 11 respectivament). Els triangles representen les mostres no adulterades mentre les estrelles les adulterades.

En la Figura 5 a), corresponent a la classe 1 (no adulterada) d'UV-Vis, s'observa que totes les mostres menys una queden recollides dins dels límits del model, i que aquesta mostra s'exclou per informació que no està inclosa en el model. La classe 2 (adulterada) està fora del model per ambdós eixos, indicant que s'ha exclòs del model per informació inclosa en el model i per aquella informació original no inclosa.

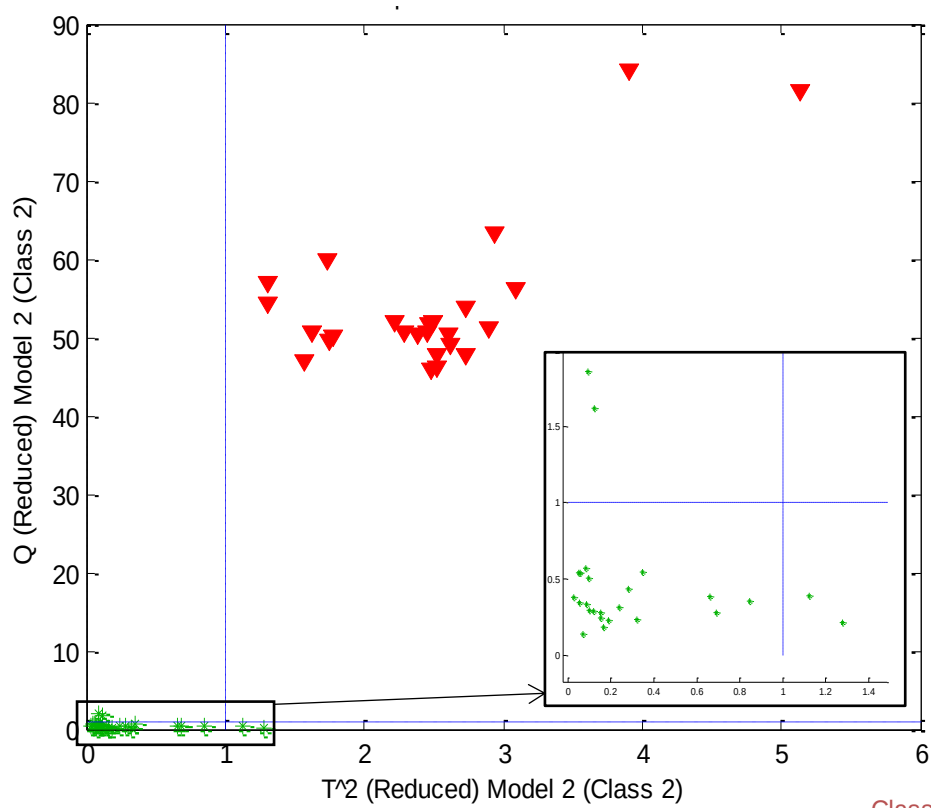
Per la classe 2 (Figura 10 b), totes les mostres queden dins el model menys 4 mostres, dues d'elles excloses per l'estadístic T^2 i les altres dos per Q. La classe 1 (no adulterada) està fora per informació externa al model com també interna.

Per fluorescència (Figura 11), es veu que no hi ha una clara separació entre les dues classes ni que el model pot classificar les del propi model. En la classe 2 (adulterada) (Figura 11 b) hi ha 3 mostres que discrepen molt de la resta, com també succeïa en PCA (Figura 9 b) on aquestes tres mostres es dispersen en el PC2.

a)



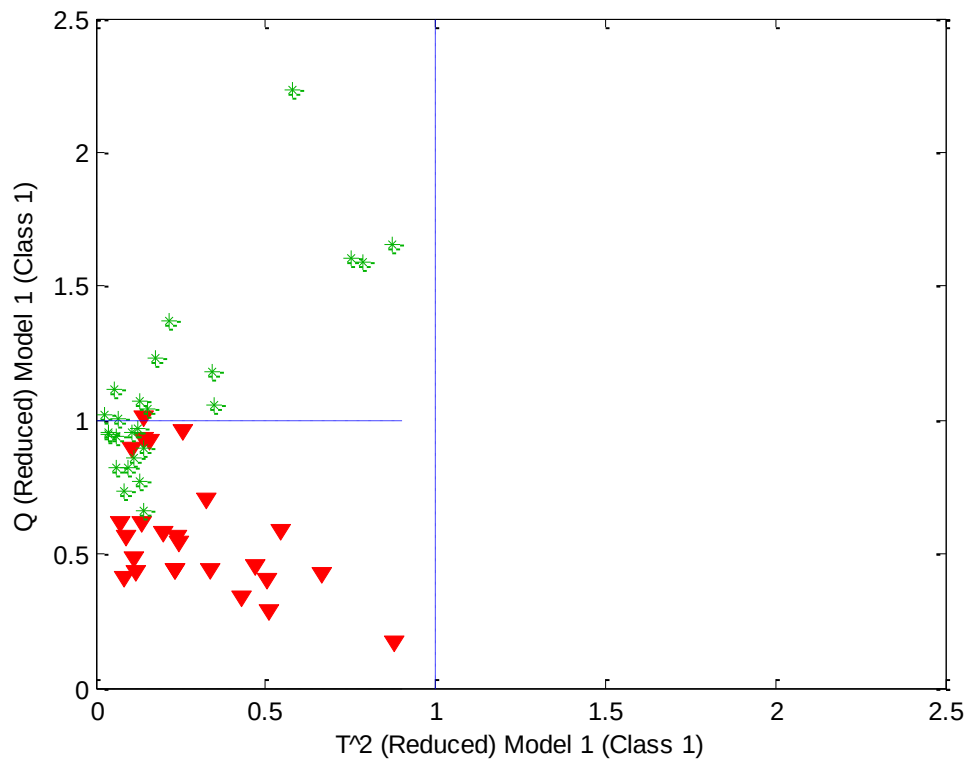
b)



Class Set: #1

Figure 10. a) Class 1 model UV-Vis, b) Class 2 model UV-Vis.

a)



b)

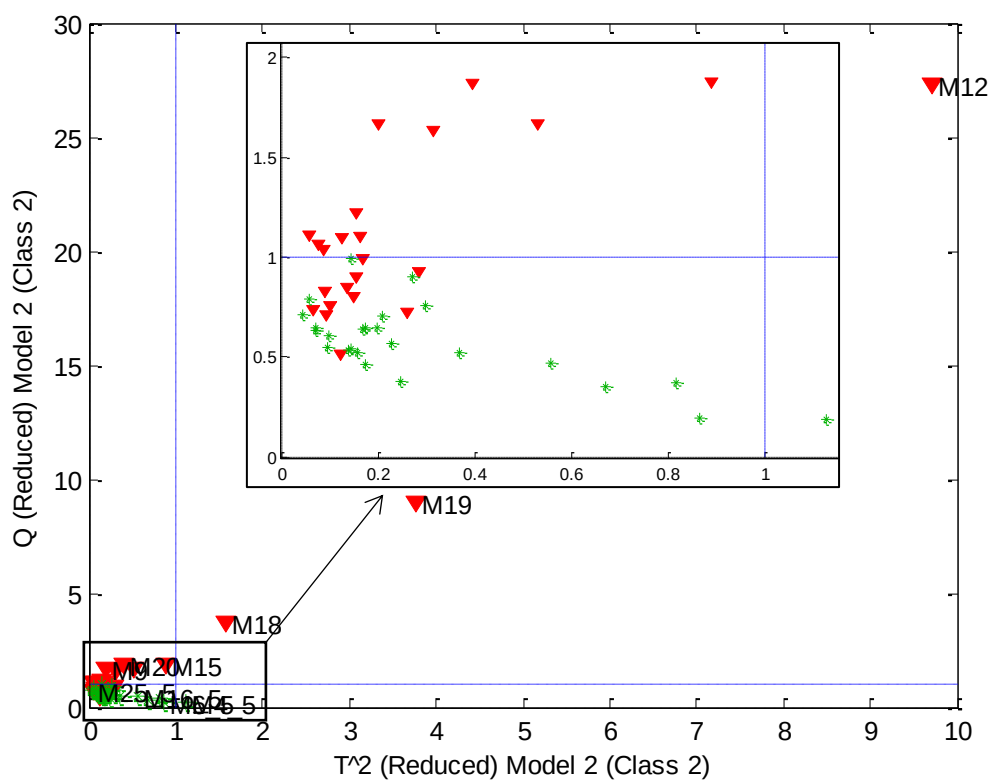


Figura 11. a) Class 1 model fluorescència, b) Class 2 model fluorescència.

5.3.2. Validació del mètode

Amb l'objectiu de validar el model SIMCA, s'ha realitzat una validació creuada pel mètode *leave one out*.

En estudiar la sensibilitat de cada model s'ha vist que UV-Vis dona un 88 % per la classe 1 i un 84% per la classe 2 mentre fluorescència només un 56% per la primera classe i un 44 % per la segona classe.

S'ha observat que el model realitzat a partir d'UV-Vis classifica molt bé les mostres adulterades i no adulterades, separant-les majoritàriament per la informació no inclosa en el model, estadístic Q, contràriament al succeït en PCA, on es formaven dos grups per la informació inclosa en el PC1, dins el model.

Igual que en PCA, el model realitzat per SIMCA mitjançant fluorescència no ha donat resultats acceptables al no formar una separació clara entre les dues classes. Però, les mostres 12, 18 i 19 tenen el mateix comportament, allunyant-se de la resta.

5.3.3. Paràmetres de qualitat

Els paràmetres de qualitat es presenten en la Taula 6, per UV-Vis, i en la Taula 7, per fluorescència.

Per UV-Vis, els valors de sensibilitat, o índex de fals negatiu, que s'han obtingut per ambdues classes són adequats per l'objectiu amb una certesa absoluta d'especificitat, o d'índex de fals positiu. Per UV-Vis s'obté un mètode molt rígid que només prediu les mostres del propi model, també reflectit en l'eficiència.

En el cas de fluorescència, hi ha valors de sensibilitat i especificitat al voltant de 50 % indicant que el mètode no és adequat.

Taula 6. Paràmetres de qualitat per les dos classes pel model d'UV-Vis.

	Classe 1 (No adulterada)	Classe 2 (Adulterada)
Sensibilitat	88 %	84 %
Índex de fals negatiu	12 %	16 %
Especificitat	100 %	100 %
Índex de fals positiu	0 %	0 %
Eficiència	94 %	92 %
Inconclusius	12 %	16 %

Taula 7. Paràmetres de qualitat per les dos classes pel model de fluorescència.

	Classe 1 (No adulterada)	Classe 2 (Adulterada)
Sensibilitat	56 %	44 %
Índex de fals negatiu	44%	56 %
Especificitat	52 %	60 %
Índex de fals positiu	48 %	40 %
Eficiència	78 %	72 %
Inconclusius	44 %	56 %

Aquestes dades remarquen la gran diferencia entre els bons resultats d'UV-Vis i els dolents de fluorescència.

També s'han realitzat els mateixos estudis per altres concentracions i s'ha observat que les tendències descrites anteriorment es mantenen obtenint resultats molt restringits per UV-Vis i sense valors clars per fluorescència.

Tenint-ho en compte s'ha decidit que no s'utilitzarà el model de fluorescència per classificar les mostres ni es farà la fusió entre els dos models.

5.3.4. Predicció

A causa dels resultats anteriors només s'ha realitzat la predicció per la tècnica d'UV-Vis.

La predicció de les mostres de diferents concentracions s'ha fet segons dos criteris: per distància (Equació 10) i per valors de T i Q reduïts (Equació 9).

En ambdós criteris les mostres tenien les següents possibles assignacions:

- Class “no adulterades”
- Class “adulterada”
- Ambdós classes
- Cap classe

Al realitzar les prediccions de totes les concentracions s'han obtingut els resultats de la Taula 8.

Taula 8. Resultats de la classificació pel mètode d'UV-Vis

<i>Predicció</i>	<u>Distancia</u>				<u>Q i T</u>			
	No adulterada	5 mg/g	Les 2	Cap	No adulterada	5 mg/g	Les 2	Cap
No adulterada	22	0	0	3	24	0	0	1
1 mg/g	0	0	0	25	0	0	0	25
2 mg/g	0	0	0	25	0	0	0	25
3 mg/g	0	0	0	25	0	0	0	25
4 mg/g	0	0	0	25	0	0	0	25
5 mg/g	0	21	0	4	0	21	0	4
6 mg/g	0	0	0	25	0	0	0	25
7 mg/g	0	0	0	25	0	0	0	25
8 mg/g	0	0	0	25	0	0	0	25
9 mg/g	0	0	0	25	0	0	0	25
10 mg/g	0	0	0	25	0	0	0	25
11 mg/g	0	0	0	25	0	0	0	25
12 mg/g	0	0	0	25	0	0	0	25

Com es pot observar, en analitzar les dades per distància s'obté una sensibilitat menor per les mostres no adulterades a causa de la seva naturalesa més restrictiva. L'especificitat del mètode és del 100 % per totes les concentracions. Les concentracions ressaltades són les que s'han utilitzat per fer el model.

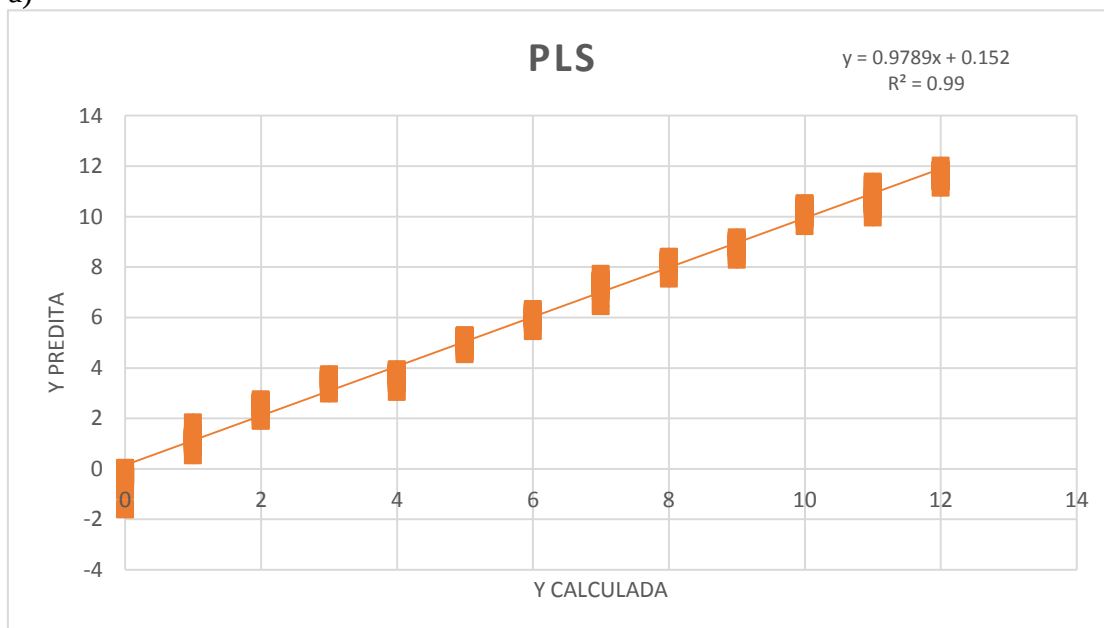
5.6. Modelització per PLS

Amb les dades a diferents nivells de concentració s'ha establert un model de calibratge multivariant PLS

S'ha realitzat la validació de dues formes diferents: per validació creuada segons el mètode *leave one out* i, pel gran nombre de dades disponibles, realitzant el model amb el 80 % de les dades i la resta com a grup de test. Aquest últim s'ha fet escollint de forma aleatòria un nombre de mostres de totes les concentracions fins a obtenir un grup significatiu.

S'ha seguit el mateix procediment que pel model SIMCA, evitant el pretractament de centrat, per avaluar els LV i s'ha determinat que per les dues formes de validació és suficient amb 3 LV. En la Figura 12 s'observa els resultats.

a)



b)

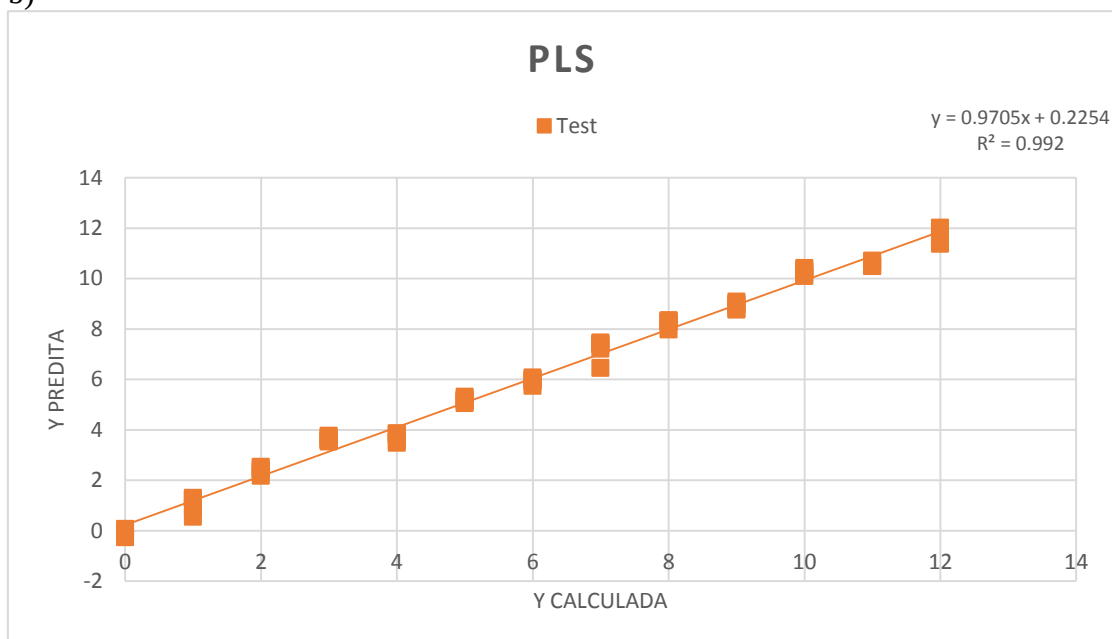


Figura 12. a) Model per validació creuada, b) Model amb grup de test.

S'ha observat que la quantificació de les mostres test en ambdues validacions és bona, s'ha utilitzat un test conjunt de pendent i ordenada en l'origen per avaluar si les rectes de predicció són estadísticament comparables a la recta de predicció ideal amb pendent 1 i ordenada a l'origen 0.

S'han realitzat els càlculs i s'ha obtingut un valor de $F_{\text{calculada}}$ per el conjunt T test de 0.17 i per validació creuada de 0.08. En comparar-ho amb el valor de F_{tabulada} de 3.03 s'ha establert que els dos mètodes de validació són comparables, demostrant l'eficàcia del mètode per anàlisi quantitatiu.

Els resultats per fluorescència obtinguts no són significatius.

6. Conclusions

I have been taught various techniques in UV-Vis and fluorescence as well as new ways to prepare and process the data obtained. Using these techniques has allowed me to distinguish between the unadulterated and adulterated samples.

During the exploratory analysis of the data from UV-Vis it has been more or less possible to distinguish between the adulterated and unadulterated samples but that hasn't been the case for the data from fluorescence.

It has been used SIMCA with a 2 class configuration (unadulterated and 5 mg/ g) for the two techniques.

The classification error for UV-Vis has been 1.6 % for class 1 and 1.4 % for class 2. In the case of fluorescence, the classification error for class 1 has been 48.7 % and for class 2 49.8 %. If the specificity is evaluated, the classification model using UV-Vis data has a 100 % for the two classes but only a 52 % for class 1 and 60 % for class 2 has been achieved using fluorescence data.

The PLS modelling has achieved better results due to the perfect prediction it has and the validation the joint confidence of slope and intersect gives for UV-Vis.

7. Bibliografia

- [1] Di Anival, C; Odena, M; Ruisánchez, I; Callao, M. P. *Determining the adulteration of spices with Sudan I-II-III-IV dyes by UV-visible spectroscopy and multivariate classification techniques*. Talanta 79, **2009**, 887–892.
- [2] Jonson, R. *Food Fraud and “Economically Motivated Adulteration” of Food and Food Ingredients*. Congressional Research Service (www.crs.gov). January 10, **2014**, 7-5700, R43358.
- [3] Moore, J; Spink, J; Lipp, M. *Development and Application of a Database of Food Ingredient Fraud and Economically Motivated Adulteration from 1980 to 2010*. Journal of Food Science 77, **2012**, 118-126.
- [4] Spink, J; Moyer, D. *Defining the Public Health Threat of Food Fraud*. Journal of Food Science 76, **2011**, 157-163.
- [5] Marie-Elise, C; Schlundt, J; Embarek, P; Hird, S; Lo-Fo-Wong, D; Ocampo, J. J.; Ngee, K; Tritscher, A. *The Melamine Incident: Implications for International Food and Feed Safety*. Environ Health Perspect 117(12), **2009**, 1803-1808.
- [6] Bermejom, F; Bermejo, P. *Química analítica geneneral, cuantitativa e instrumental*, sisena edició; Paraninfo: Madrid, Volum 2, 1196-1197.
- [7] Patnaik, P. *Dean's Analytical Chemistry Handbook*, Segona edició; McGraw-Hill: Staten Island, New York, 6.4.
- [8] Sauer, M; Hofkens, J; Enderlein, J. *Handbook of Fluorescence Spectroscopy and Image*; Wiley-VCH Verlag & Co: Weinheim, Alemanya, **2011**, 12-19.
- [9] Macho, S. *Metodologías analíticas basadas en espectres infrarrojos y calibración multivariante. Aplicación a la industria petroquímica*. Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, **2002**, 37-39.
- [10] Savitzky, A; Golay, M. *Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures*. ACS Publications, 36 (**1964**) 1627-1639.
- [11] Kramer, R. *Chemometric techniques for quantitative*. Applied Chemometrics, Inc. Shanon, Massachusetts, **1998**, 100-101
- [12] Beebe, K; Pell, R; Seasholtz, M. B. *Chemometrics. A practical Guide*, John Willey & Sons, Inc. Canada, **1998**, 180-181.
- [13] López, M. I; Trullols, E; Callao, M. P; Ruisánchez, I. *Multivariate screening in food adulteration: Untargeted versus targeted modelling*, Food Chemistry, 147, **2014**, 177-181.
- [14] López, M. I; Callao, M. P; Ruisánchez, I. *A tutorial on de validation of qualitative methods: From the univariate to the multivariate approach*, Food Chemistry, 147, **2015**, 177-181.

- [15] Brown, C; Davis, H. *Receiver operating characteristics curves and related decision measures: A tutorial*, Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems ,80, **2006**, 24-38.
- [16] Fawcett, T. *An introduction to ROC analysis*, Pattern Recognition Letters 27, **2006**, 861-874.
- [17] Wise, B; Gallagher, N; Bro, R; Shaver, J; Windig, W; Koch, R. *PLS_Toolbox Version 4.0 for use with MATLABTM*, Eigenvector Research, Inc. Wenatchee, WA, **2006**, 139-147.
- [18] Brereton, R. *Chemometrics. Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant*. John Willey & Sons, Inc. England, **2003**, 297-303.
- [19] Massart, D; Vandeginste, B; Buydens, L; Jong, S; Lewi, P; Smeyers-Verbeke, J. *Data handling in science and Technology*, Elsevier, Amsterdam, **1997**, 20A, 193-194.

8. Autoavaluació de les competències B i C

Competències Assoliment (Sí/No, comentaris)

B1	Nivell 1: Competència assolida en l'assignatura de Química Inorgànica I
	Nivell 2: Competència assolida en l'assignatura d'Espectroscòpia i cinètica química
	Nivell 3:
B2	Nivell 1: Competència assolida en l'assignatura de Química Orgànica I
	Nivell 2: Competència assolida en l'assignatura de Laboratori de química física
	Nivell 3: Competència assolida en l'assignatura de Laboratori de química analítica
B3	Nivell 1: Competència assolida en l'assignatura d'Estructura molecular
	Nivell 2: Competència assolida en l'assignatura de Tècniques analítiques avançades
	Nivell 3:
B4	Nivell 1: Jo crec que aquesta competència la tinc assolida ja que en transcurs dels cursos he desenvolupat la facilitat per resoldre els problemes que sorgeixen sense l'ajuda d'algú altre.
	Nivell 2: Competència assolida en l'assignatura de Laboratori de química orgànica
	Nivell 3:
B5	Nivell 1: Competència assolida en l'assignatura de Termodinàmica i fenòmens de transport
	Nivell 2: Competència assolida en l'assignatura de Compostos inorgànics avançats
	Nivell 3: Competència assolida en l'assignatura d'Enginyeria química
B6	Nivell 1: Competència assolida en l'assignatura d'Anàlisi instrumental
	Nivell 2: Competència assolida en l'assignatura de Laboratori de química orgànica
	Nivell 3:

B7	Competència assolida en l'assignatura de Ciutadania
B8	Nivell 1:
	Nivell 2:
	Nivell 3:
C1	Competència assolida amb el domini de l'anglès amb el nivell B2
C2 i C3	Gràcies a l'assignatura de documentació i a l'experiència donada per la recerca de bibliografia en els treballs realitzats crec oportú assumir que aquestes competències estan assolides
C4	Nivell 1: Competència assolida en l'assignatura de Química inorgànica II
	Nivell 2: Competència assolida en l'assignatura de Laboratori de química inorgànica
	Nivell 3: Competència assolida en l'assignatura de Laboratori de química orgànica
C5	Competència assolida en l'assignatura de Ciutadania
C6	Nivell 1:
	Nivell 2:
	Nivell 3:

Autoavaluació general. Les competències transversals i nuclears es consideraran superades quan al final dels seus estudis els estudiants hagin assolit un 80 % de les competències B i C en nivell I, i un 50 % de les competències B i C en el seu nivell màxim.

Gràcies als coneixements obtinguts durant els meus 5 anys que he cursat el grau de Química, considero que surto preparat per aventurar-me en el sector laboral o preparat per realitzar un màster.

Annex I

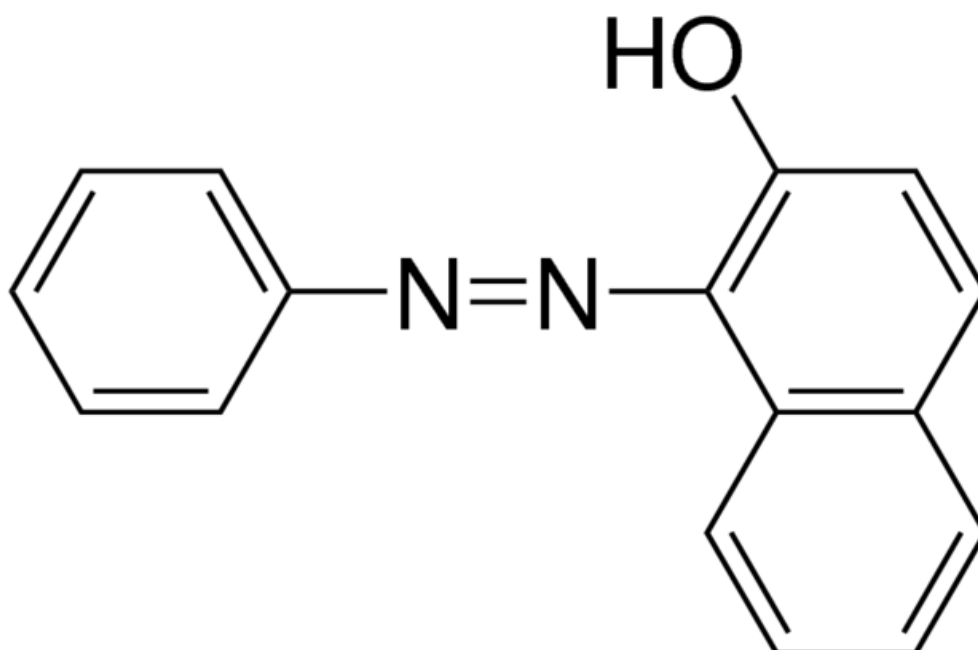


Figura I. Estructura química del Sudan I

Informació de seguretat del Sudan I:



- ⬆ Toxicitat aguda, categoria 4
- ⬆ Irritació de la pell i ulls, categoria 2
- ⬆ Sensibilitat de la pell, categoria 1
- ⬆ Toxicitat específica d'òrgans, categoria 3



- ⬆ Sensibilització de les vies respiratòries, categoria 1
- ⬆ Mutagen de cèl·lules germinals, categoria 1A, 1B, 2
- ⬆ Carcinogenicitat, categoria 1A, 1B, 2
- ⬆ Toxicitat reproductiva, categoria 1A, 1B, 2
- ⬆ Toxicitat específica d'òrgans, categoria 1, 2
- ⬆ Perill d'inhalació, categoria 1

Informació sobre l'acetonitril:

ACETONITRILO

ICSC: 0088

ACETONITRILLO Cianuro de metilo Cianometano Etanonitrilo C ₂ H ₃ N/CH ₃ CN Masa molecular: 41.0 CAS: 75-05-8 RTECS: AL7700000 ICSC: 0088 NU: 1648 CE: 608-001-00-3			
TIPOS DE PELIGRO/ EXPOSICION	PELIGROS/SINTOMAS AGUDOS	PREVENCION	LUCHA CONTRA INCENDIOS/ PRIMEROS AUXILIOS
INCENDIO	Inflamable.	Evitar las llamas, NO producir chispas y NO fumar. NO poner en contacto con oxidantes.	Espuma resistente al alcohol, polvo, dióxido de carbono (véanse Notas).
EXPLOSION	Las mezclas vapor/aire son explosivas (véanse Notas).	Por encima de 12.8°C: sistema cerrado, ventilación y equipo eléctrico a prueba de explosión (véanse Notas).	En caso de incendio: mantener frios los bidones y demás instalaciones rociando con agua (véanse Notas).
EXPOSICION		HIGIENE Estricta!	
• Inhalación	Dolor de garganta, vómitos, dificultad respiratoria, debilidad, dolor abdominal, convulsiones, pérdida del conocimiento (síntomas no inmediatos: véanse Notas).	Ventilación, extracción localizada o protección respiratoria.	Aire limpio, reposo, respiración artificial si estuviera indicada y proporcionar asistencia médica.
• Piel	¡PUEDE ABSORBERSE! Enrojecimiento (para mayor información, véase Inhalación).	Guantes protectores y traje de protección.	Quitar las ropas contaminadas, aclarar la piel con agua abundante o ducharse y proporcionar asistencia médica.
• Ojos	Enrojecimiento, dolor.	Pantalla facial o protección ocular combinada con la protección respiratoria.	Enjuagar con agua abundante durante varios minutos (quitar las lentes de contacto, si puede hacerse con facilidad) y proporcionar asistencia médica.
• Ingestión	(Para mayor información, véase Inhalación).	No comer, ni beber, ni fumar durante el trabajo. Lavarse las manos antes de comer.	Enjuagar la boca, dar a beber agua abundante, provocar el vómito (¡UNICAMENTE EN PERSONAS CONSCIENTES!) y proporcionar asistencia médica.
DERRAMES Y FUGAS		ALMACENAMIENTO	ENVASADO Y ETIQUETADO
Ventilar. Eliminar todas las fuentes de ignición. Recoger el líquido procedente de la fuga en recipientes precintables, absorber el líquido residual en arena seca o absorbente inerte y trasladarlo a un lugar seguro. (Protección personal adicional: traje de protección completa, incluyendo equipo autónomo de respiración).		A prueba de incendio. Separado de ácidos y oxidantes. Mantener en lugar fresco y bien ventilado.	(Véanse Notas). Clasificación de Peligros NU: 3 Riesgos Subsidiarios NU: 6.1 Grupo de Envasado NU: II CE: F, T R: 11-23/24/25 S: (1/2)-16/27/45
VEASE AL DORSO INFORMACION IMPORTANTE			
ICSC: 0088			
Preparada en colaboración entre el IPCS y la CCE. © CCE, IPCS, 1991. Versión española traducida y editada por el INSHT			

Fichas Internacionales de Seguridad Química

ACETONITRILO

ICSC: 0088

D A T O S I M P O R T A N T E	ESTADO FISICO; ASPECTO Líquido incoloro, de olor característico.	VIAS DE EXPOSICION La sustancia se puede absorber por inhalación del vapor, a través de la piel y por ingestión.
	PELIGROS FISICOS El vapor es más denso que el aire y puede extenderse a ras del suelo; posible ignición en punto distante. El vapor se mezcla bien con el aire, formándose fácilmente mezclas explosivas. Como resultado del flujo, agitación, etc., se pueden generar cargas electrostáticas.	RIESGO DE INHALACION Por evaporación de esta sustancia a 20°C, se puede alcanzar bastante rápidamente una concentración nociva en el aire.
P R O P I E D A D E S	PELIGROS QUIMICOS Por combustión, formación de humos tóxicos de cianuro de hidrógeno y óxidos de nitrógeno. La sustancia se descompone en contacto con ácidos, agua y vapor de agua produciendo humos tóxicos y vapor inflamable. Reacciona con oxidantes fuertes originando peligro de incendio y explosión. Ataca a algunas formas de plástico, caucho y recubrimientos.	EFFECTOS DE EXPOSICION DE CORTA DURACION La sustancia irrita los ojos, la piel y el tracto respiratorio. La sustancia puede causar efectos en la respiración celular (inhibición), dando lugar a alteraciones funcionales. La exposición a altas concentraciones puede producir la muerte. Los efectos pueden aparecer de forma no inmediata. Se recomienda vigilancia médica.
	LIMITES DE EXPOSICION TLV (como TWA): 40 ppm; 67 mg/m ³ (ACGIH 1993-1994). TLV (como STEL): 60 ppm; 101 mg/m ³ (piel) (ACGIH 1993-1994).	EFFECTOS DE EXPOSICION PROLONGADA O REPETIDA La experimentación animal muestra que esta sustancia posiblemente cause malformaciones congénitas en recién nacidos.
PROPIEDADES FISICAS	Punto de ebullición: 81°C Punto de fusión: -45°C Densidad relativa (agua = 1): 0.8 Solubilidad en agua: Miscible Presión de vapor, kPa a 20°C: 9.60 Densidad relativa de vapor (aire = 1): 1.4	Densidad relativa de la mezcla vapor/aire a 20°C (aire = 1): 1.04 Punto de inflamación: 12.8°C (c.c.) Temperatura de autoignición: 524°C Límites de explosividad, % en volumen en el aire: 3.0-16 Coeficiente de reparto octanol/agua como log Pow: -0.3

Figura II. Fitxa de seguretat de l'acetonitril.