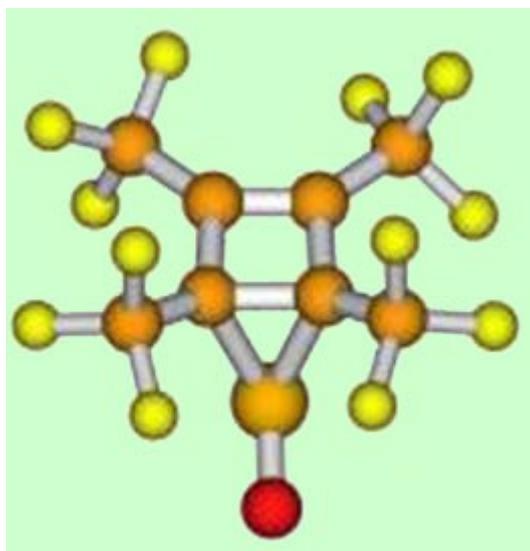


Página realizada a modo de prueba para la asignatura "Diseño y Presentación de Trabajos e Informes científicos", su contenido puede estar sujeto a errores

**UNIVERSIDAD DE VALENCIA
FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA**



**FUNDAMENTOS Y FUNCIONES DE LA ESPECTROMETRIA
DE MASAS**



**ANDROS CORRAL PAYÁ
VALENCIA, MAYO 2006**

“ A todos aquellos que me abrieron
los ojos para que pudiera
encontrar mi camino”

"Il faut faire de la vie un rêve et faire d'un rêve une réalité"
Pierre Curie

“Agradecer a Andrea, por tener siempre
tanta paciencia y ayudarme a mantenerme cuerdo
durante estos cinco años”

- Cap. 1: Abstract
- Cap. 2: Palabras clave
- Cap. 3: Introducción
- Cap. 4: Los inicios de la espectroscopia de masas
- Cap. 5: Fundamentos teórico-técnicos de EM
- Cap. 6: Instrumentación en EM

- Cap. 6.1: Sistema de entrada de muestras
- Cap. 6.2: Cámara de ionización
 - Cap. 6.2.1: Fuentes de fase gaseosa
 - Cap. 6.2.2: Fuentes de desorción
- Cap. 6.3: Sistema acelerador
- Cap. 6.4: Analizadores de masa
- Cap. 6.5: Detectores
- Cap. 7: Obtención y análisis de un espectrograma de masas
- Cap. 8: Aplicaciones de la E.M
 - Cap. 8.1: Aplicaciones cualitativas
 - Cap. 8.2: Aplicaciones cuantitativas
- Cap. 9: Conclusión
- Cap. 10: Apéndices
- Cap. 11: Procedencia de las ilustraciones
- Cap. 12: Bibliografía

ABSTRACT

En la actualidad, la ciencia avanza a pasos agigantados, y cada vez resulta más complicado asimilar todos los conceptos nuevos a los que tenemos que hacer frente en el quehacer científico. Dentro de este mundo, las técnicas espectroscópicas siempre han sido piezas fundamentales, y resulta necesario entenderlas a la perfección. En este artículo se discutirá sobre los fundamentos de una técnica como la espectroscopia de masas, tanto teóricos como técnicos, explicando todos los cambios que se han sucedido a lo largo de su corta pero intensa historia. Resulta fundamental estudiar cuales son sus posibles aplicaciones en el mundo científico actual y realizar una reflexión sobre las ventajas e inconvenientes de esta técnica frente a otras, analizando su utilidad real hoy en día.

PALABRAS CLAVE

Métodos analíticos, técnicas espectroscópicas, espectrometría de masas, espectrograma, estructura molecular, J. J. Thomson., E.M..

INTRODUCCIÓN

La Espectrometría de Masas es una poderosa técnica microanalítica usada para identificar compuestos desconocidos, para cuantificar compuestos conocidos, y para elucidar la estructura y propiedades químicas de moléculas. La detección de compuestos puede ser llevada a cabo con cantidades realmente pequeñas (algunos pmoles) de muestra y obtener información característica como el peso y algunas veces la estructura del analito.

En todos los casos, alguna forma de energía es transferida a las moléculas a analizar para afectar la ionización. En la técnica clásica de impacto electrónico (electron ionization EI), algunas de las moléculas ionizadas del analito “explotan” en una variedad de fragmentos ionizados, el patrón de fragmentación resultante así como los iones residuales constituyen el espectro de masas. En principio, el espectro de masas de cada compuesto es único y puede ser usado como su “huella

química” para caracterizar el analito.

LOS INICIOS DE LA ESPECTROSCOPIA DE MASAS

Corría el año 1912 cuando el científico J. J. Thomson (Premio Nobel en 1906) empujado por su afán de descubrir los secretos más profundos de la química, se las ingenió para crear el primer espectrómetro de masa y obtener de él los primeros espectros de elementos como O₂, N₂, CO y COCl₂.

Pero el mérito no fue solo de él, ya que la espectrometría de masas comenzó a ver la luz en el año 1886 cuando Goldstein descubrió los iones positivos, siguió cogiendo forma con W. Wien que consiguió analizarlos por deflexión magnética en 1898 y que dio un paso definitivo cuando W. Kaufmann consiguió analizar los rayos catódicos usando campos eléctricos y magnéticos paralelos en 1901. Todos estos avances permitieron a la privilegiada mente de J. J. Thomson idear el primer espectrómetro de masas (Skoog, Hiller, Nieman, 2000, 182).

A partir de ese día se comenzó a usar en los laboratorios de química para separar iones atómicos y moleculares en función del cociente masa/carga con la unidad Thomson (Th) como unidad fundamental. Y aunque su avance era firme, su uso para analizar macromoléculas no fue posible hasta la década de los 80, cuando el profesor J. B. Fenn utilizó el método de ionización por electropulverización ("electrospray") de una solución acuosa de proteínas. De esta forma consiguió producir pequeñas gotas de una muestra que se reducen de tamaño al evaporarse el agua que las transporta, mientras los iones de proteínas permanecen en forma de suspensión libre. La relación masa/carga de los iones así obtenidos permite su análisis en cualquier espectrómetro de masas. Biólogos y químicos pueden ahora rápidamente identificar las proteínas y obtener su imagen tridimensional (Rubinson, Rubinson, 2000, pg. 289).

La espectrometría de masas atómicas es una herramienta muy versátil y útil para identificar los elementos presentes en una muestra y determinar las concentraciones de cada una de las materias que la componen. Esta técnica nos permite determinar prácticamente todos los elementos del sistema periódico.

Esta técnica ofrece numerosas ventajas frente a las técnicas espectrofotométricas ya que:

- Los límites de detección que son, para muchos elementos, tres órdenes de magnitud más sensibles frente a los métodos ópticos.
- Espectros notablemente más sencillos, generalmente únicos y con frecuencia fácilmente interpretables.
- Capacidad para medir relaciones isotópicas atómicas.

En cambio, también tienen una serie de desventajas que no podemos obviar como:

- El coste del instrumento es de dos a tres veces el de los instrumentos ópticos atómicos.
- La deriva del instrumento puede ser del orden del 5 o 10%/hora.
- Contiene unas determinadas interferencias.

Con la espectrometría de masas somos capaces de proporcionar información acerca de:

- La composición elemental de las muestras: de esta se encarga la espectrometría de masas atómico.
- De la composición de las moléculas inorgánicas, orgánicas y biológicas.
- De la composición cualitativa y cuantitativa de mezclas complejas.
- De la estructura y composición de superficies sólidas.
- De las relaciones isotópicas de átomos en las muestras.

Hoy en día se continúa avanzando y cabe citar al científico japonés K. Tanaka, que bombardeando

muestras de macromoléculas biológicas en estado sólido o viscoso con rayos láser, consiguió su dispersión en porciones ionizadas de pequeñísimo tamaño, aptas para su análisis por espectrometría de masas. Un método para determinar la masa de macromoléculas en espectrometría es acelerarlas en una cámara de vacío y medir su "tiempo de vuelo". Los blancos del espectrómetro son alcanzados por las moléculas en un orden determinado por sus unidades Thomson. Las más rápidas son las más ligeras y de mayor carga (Rubinson, Rubinson, 2000, pg.291)

Estos métodos poseen muchas aplicaciones como son el desarrollo de productos farmacéuticos, control de sustancias nutritivas y diagnósticos precoces de enfermedades como la malaria, cáncer de mama, cáncer de próstata, etc.

FUNDAMENTOS TEÓRICO- TÉCNICOS DE E.M.

Hoy en día, esta técnica continúa teniendo los mismos fundamentos que en su origen, aunque el espectrómetro de hoy en día poco tenga que ver con su predecesor.

La espectrometría de masas se fundamenta en la separación de partículas moleculares o atómicas por su diferente masa.

El proceso de la espectrometría de masas comprende básicamente cuatro etapas:

- Ionización de la muestra.
- Aceleración de los iones por un campo eléctrico.
- Dispersión de los iones según su masa/carga.
- Detección de los iones y producción de la correspondiente señal eléctrica.

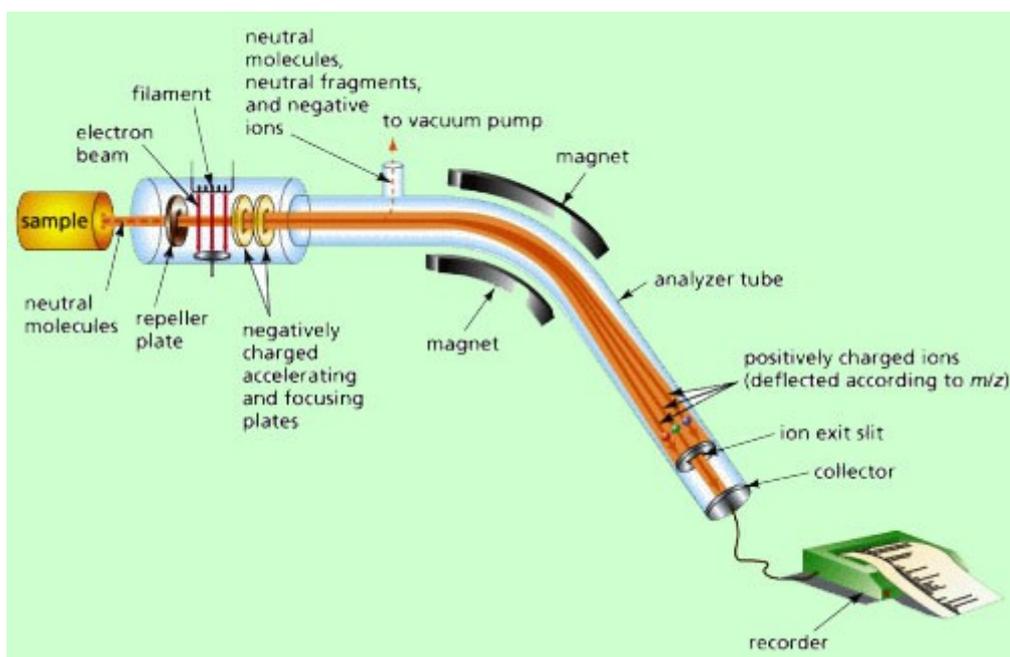


Fig.1: Esquemización del paso de una muestra por los principales componentes de un instrumento de espectroscopia de masas.

A. Ionización de la muestra (Oriol, 1998, 312-313)

La ionización de la muestra se consigue por bombardeo mediante electrones (e-) según el proceso:



B. Aceleración de los iones por un campo eléctrico (Oriol, 1998, 313)

Convertimos una fracción significativa de los átomos formados en la etapa 1 en un flujo de iones, generalmente positivos y de carga única.

La velocidad que adquieren viene regida por la formula:

$$v = [2eV/m]^{1/2}$$

Donde V es el potencial aplicado, “e” la carga del electrón y “m” la masa.

Cuando las partículas aceleradas se someten a la acción de un campo magnético (H) describen una trayectoria circular de radio r alrededor de este campo, desarrollando una fuerza centrífuga mv^2/r , la cual es igual a la fuerza de atracción del campo Hev .

De esto deducimos que el radio es igual a:

$$r = (2Vm/H2e)^{1/2}$$

C. **Dispersión de los iones según su relación masa/carga** (Oriol, 1998, 315)

Basándonos en la ecuación anterior podemos calcular la relación m/e que es:

$$m/e = H^2.r^2/2V$$

Dado que la mayoría de los iones formados en la segunda etapa tienen una sola carga y que el resto de parámetros se mantienen constantes, la relación m/e suele ser la masa del ión. La utilidad analítica de un espectrómetro de masas depende de la resolución del instrumento, o capacidad del mismo para separar dos partículas de diferente masa.

D. **Detección de los iones y producción de la correspondiente señal eléctrica** (Oriol, 1998, 317).

El ordenador al que está conectado el aparato recoge las distintas señales y las reproduce en forma de espectrograma, formato de fácil interpretación.

INSTRUMENTACIÓN EN E.M.

Básicamente un espectrómetro de masas consta esencialmente de las siguientes partes:

- Sistema de entrada de muestras.
- Cámara de ionización.
- Acelerador.
- Analizadores.
- Detector.

- **Sistema de entrada de muestras.**

En el sistema de entrada de muestras, un micromol o menos de muestra se convierte al estado gaseoso por calentamiento a unos 400°C y se introduce lentamente en la cámara de ionización. La finalidad del sistema de entrada es permitir la introducción de una muestra representativa en la fuente de iones con la mínima pérdida de vacío. En los espectrómetros de masas más modernos encontramos diferentes tipos de sistemas de entrada:

- **Sistemas indirectos de entrada:** es el sistema más clásico y el más simple, en el cual la muestra se volatiliza externamente y se introduce en la región de ionización que está a baja presión. El sistema de entrada es normalmente de vidrio para evitar posibles pérdidas por adsorción.
- **Entrada por sonda indirecta:** los líquidos y los sólidos no volátiles se pueden introducir en la región de ionización mediante un soporte para muestra o sonda, el cual se inserta a través de un cierre de vacío. El sistema de cierre se utiliza para controlar la cantidad de aire que entra después de la inserción de la sonda en la región de ionización. Las sondas también se usan cuando la cantidad de muestra es limitada ya que se pierde mucha menos cantidad.
- **Sistemas de entrada cromatográficos y de electroforesis capilar (1):** es un tipo de sistema de entrada especial, está indicado su uso cuando al espectrómetro de masa va acoplado un sistema de cromatografía de gases o de líquidos de alta eficacia o a columnas de electroforesis capilar que permiten la separación y determinación de los componentes de mezclas complejas (*Métodos*, 2006)
 - **Cámara de ionización**

Las fuentes de iones de los espectrómetros de masas, tienen todas unas características comunes, pese a la variabilidad de tipos existente y es que todas transforman los componentes de una muestra en iones.

En muchos casos el sistema de entrada y la fuente de iones están combinados en un único componente. En todos los casos, se obtiene un haz de iones positivos o negativos (normalmente positivos) que posteriormente se acelera hacia el interior del analizador de masas o sistema separador a través del acelerador. (Skoog, Hiller, Hieman, 2000, 212).

La formación de iones del analito es el punto de arranque de un análisis por espectrometría de masas. El aspecto de los espectros de masas para distintas especies moleculares, depende en gran medida del método utilizado para la formación de los iones. Estos métodos los podemos dividir en dos categorías:

- **Fuentes de fase gaseosa:** en estas primero se volatiliza la muestra y luego se ioniza.

Están generalmente restringidas a compuestos térmicamente estables que tengan puntos de ebullición menores de unos 500°C. En la mayoría de los casos, estos requerimientos limitan la utilización de las fuentes de fase gaseosa a compuestos con pesos moleculares menores de unos 103 Daltons.

Son aplicables a muestras no volátiles y térmicamente inestables (Harvey, 2002, 486) Normalmente los espectrómetros de masas están equipados con accesorios que permiten intercambiar ambos tipos de fuentes.

Son aplicables a compuestos que tienen pesos moleculares superiores de 1000 Daltons.

- **Fuentes de desorción (2):** en estas las muestras en estado sólido o líquido, se transforman directamente en iones gaseosos.

Son aplicables a muestras no volátiles y térmicamente inestables (Harvey, 2002, 486) Normalmente los espectrómetros de masas están equipados con accesorios que permiten intercambiar ambos tipos de fuentes.

Son aplicables a compuestos que tienen pesos moleculares superiores de 100000 Daltons.

Las fuentes de iones se pueden clasificar también en fuentes duras y fuentes blandas.

- **Fuentes duras:** comunican suficiente energía a las moléculas para que estén en un estado de energía altamente excitado. La relajación posterior, implica la rotura de las uniones produciendo iones fragmentados. Su espectro da lugar a muchos picos y nos da información acerca de la naturaleza de los grupos funcionales e información estructural de los analitos.
- **Fuentes blandas:** dan lugar a poca fragmentación y el resultado es un espectro con muy pocos picos dándonos información útil ya que nos permite la determinación exacta del peso molecular de la molécula o moléculas

TIPO	NOMBRE Y ACRÓNIMO	AGENTE IONIZANTE
	Impacto de electrones (EI)	electrones energéticos
Fase Gaseosa	Ionización química (CI)	iones gaseosos reactivos
	Ionización por campo (FI)	electrodo de elevado potencial
	Desorción por campo (FD)	electrodo de elevado potencial

	Ionización por electronebulización (ESI)	campo eléctrico elevado
	Desorción/ionización asistida por una matriz (MALDI)	haz de láser
Desorción	Desorción por plasma (PD)	fragmentos de fisión del ^{252}Cf
	Bombardeo con átomos rápidos (FAB)	haz de átomos energéticos
	Espectrometría de masas de iones secundarios (SIMS)	haz de iones energéticos
	Ionización por termonebulización (TS)	elevada temperatura

Fig. 1: Clasificación de los distintos tipos de cámaras de ionización, indicando sus nombres y acrónimos y especificando cada sus agentes ionizantes.

TIPOS DE CAMARAS DE IONIZACIÓN:

- **FUENTES DE FASE GASEOSA**

- **Impacto de electrones (EI).**

Se somete a la muestra a una temperatura suficientemente elevada (normalmente mediante un filamento caliente de wolframio o de renio) como para producir un vapor molecular, el cual posteriormente se ioniza bombardeando las moléculas originadas con un haz de electrones de elevada energía. Pese a sus desventajas, esta técnica es la que se ha usado para determinar la mayoría de los espectros que componen las colecciones de espectros (Rouesac, Rouesac, 2003, 78)

- **Fuentes de ionización química (CI).**

En la ionización química los átomos gaseosos de la muestra (tanto de un sistema de entrada indirecto como de una sonda caliente) se ionizan al colisionar con los iones producidos al bombardear con electrones un exceso de gas reactivo (normalmente metano). Normalmente se utilizan iones negativos, aunque la ionización química de iones negativos se utiliza ocasionalmente en aquellos analitos que contienen átomos muy electronegativos.

- **Fuentes de ionización por campo (FI).**

En las fuentes de ionización por campo, los iones se forman bajo la influencia de un campo eléctrico elevado (108 V/cm). Estos campos se producen al aplicar elevados potenciales (10 a 20 kV) a emisores especialmente contruidos. Que están formados por numerosas puntas finas cuyos diámetros son menores a 1 μm . A menudo estos emisores adquieren la forma de un fino hilo de wolframio en el cual se han formado dendritas o filamentos microscópicos de carbono por pirólisis (3) de benzonitrilo en un campo eléctrico elevado. El resultado de este tratamiento es la aparición de centenares de microagujas de carbón que emergen desde la superficie del hilo. En este caso el analito adquiere poca energía vibracional y rotacional por lo que tiene poca fragmentación (Rouesaoc, Rouesaoc, 2003, 93-94)

- **FUENTES DE DESORCIÓN** (Oriol, 1998, 378)

En las dos últimas décadas se han desarrollado numerosos métodos de ionización por desorción para tratar muestras no volátiles o termodinámicamente inestables. Estas técnicas prescinden de la volatilización y de la posterior ionización y en su lugar se suministra energía a la muestra sólida o

líquida de diversas maneras, de modo que se provoca la formación directa de iones gaseosos. Como consecuencia se obtienen espectros muy simplificados.

Fuentes de desorción por campo (FD).

Esta fuente de ionización usa un emisor con múltiples puntas, similar al usado en las fuentes de ionización por campo. En este caso el electrodo se coloca sobre una sonda que puede retirarse y recubrirse con una disolución de la muestra, después de reinsertarla la ionización se produce tras proporcionar un potencial elevado a este electrodo. En ocasiones es necesario calentarlo haciéndole pasar una corriente pero puede ocurrir una degradación térmica antes de completarse la degradación.

Desorción/ionización por láser asistida por una matriz (MALDI).

Esta técnica de reciente descubrimiento nos permite calcular pesos moleculares exactos de extractos de biopolímeros polares en un intervalo de masas moleculares de varios cientos de miles de Daltons.

En esta técnica se mezcla una disolución acuosa/alcohólica de la muestra con un exceso de una sustancia matriz que absorbe la radiación. La disolución resultante se evapora en la superficie de una sonda metálica que se utiliza para la introducción de la muestra. La mezcla sólida se expone a la acción de un haz de láser pulsante, provocando la sublimación del analito a iones que son introducidos en un espectrómetro de tiempo de vuelo para el análisis de masas (Creel, Howart, 1993, 336-342).

Ionización por electronebulización (ESI/MS).

Esta técnica se ha convertido en una de las más importantes para el análisis de biomoléculas de pesos superiores a 100.000 Daltons.

Se realiza en condiciones atmosféricas de presión y temperatura. La disolución de la muestra se bombardea a través de una aguja capilar de acero inoxidable a un flujo de algunos microlitros por minuto. Las agujas se mantienen a un potencial de varios kV con respecto al electrodo cilíndrico que rodea a dicha aguja. La niebla de finas gotitas cargadas resultantes pasa a través de un capilar de desolvatación donde se produce la evaporación del disolvente y de las moléculas del analito y donde estas adquieren la carga. Debido a que las gotitas se vuelven más pequeñas por la evaporación del disolvente, su densidad aumenta produciéndose la desorción de los iones en la atmósfera gaseosa.

Fuentes de bombardeo con átomos rápidos (FAB).

Con este tipo de fuentes, las muestras en un estado condensado, a menudo en una matriz de una disolución de glicerol, se ionizan por bombardeo con átomos de xenón o argón de elevada energía. Tanto los iones positivos como negativos del analito son expulsados de la superficie de la muestra por un proceso de desorción.

El haz de átomos rápido se obtiene al pasar iones acelerados de argón o xenón de una fuente o cañón de iones a través de una cámara que contiene átomos de argón o xenón a una presión de unos 10⁻⁵ torr. Estos experimentan una reacción de intercambio de electrones en resonancia con los átomos obteniéndose un haz de átomos de alta energía. (Plascencia, 2003, 13)

Desorción por plasma (PD).

El deterioro del ²⁵²Cf produce dos fragmentos de fisión que viajan en direcciones opuestas. Un fragmento golpea la muestra anulando entre 1-10 iones analíticos. El otro fragmento golpea un detector y desencadena la puesta en marcha de la adquisición de datos. Este método es especialmente interesante para moléculas largas de origen biológico.

Espectrometría de masas de iones secundarios (SIMS).

Un haz de luz ionizado primitivo como 3He⁺, 16O⁺, o 40Ar⁺ es acelerado y enfocado hacia la superficie de la muestra y chisporrotea entrando dentro de la fase gas. Aproximadamente el 1% del material chisporroteado entra en forma ionizada, el cual ya puede ser analizado. SIMS tiene la

ventaja que puede ser continuamente chisporroteado desde la superficie y determinar las concentraciones analíticas en función de la distancia desde la superficie original (perfil de profundidad)

Ionización por termonebulización (TS).

La ionización por termonebulización se usa para elementos reflectantes. Una muestra es depositada encima de una cinta metálica, que puede ser de Pt o Re y una corriente eléctrica calienta el metal a altas temperaturas. La cinta es revestida de grafito que reduce la desfragmentación.

- **Sistema acelerador.**

En el sistema acelerador las partículas ionizadas producidas por el impacto de los electrones son obligados a atravesar una primera ranura aceleradora por una pequeña diferencia de potencial. Entre esta primera y una segunda ranura existe una diferencia de potencial muy elevada que imprime a las partículas su velocidad final. Una tercera ranura actúa como colimador del haz de partículas.

- **Analizadores de masa.**

Para la separación de iones con diferente relación m/e se dispone de varios dispositivos. Lo ideal es que el analizador fuera capaz de distinguir entre diferencias muy pequeñas de masa. Además, los analizadores deberían de permitir el paso del número suficiente para producir corrientes iónicas fáciles de medir. Al igual que sucede con los monocromadores (4) ópticos, a los que los analizadores son análogos, estas dos propiedades no son compatibles y se debe de llegar a un equilibrio que esta regido por la resolución del espectrómetro de masa (Skoog D., Holler J., Nieman T., 2000, pág. 412).

Existen diferentes tipos de analizadores de masas:

- **Analizadores de sector magnético:** los analizadores de sector magnético utilizan un imán permanente o un electroimán para hacer que el haz procedente de la fuente de iones se desplace con una trayectoria circular de 180, 90 o 60°. Estos analizadores también son llamados de enfoque simple.

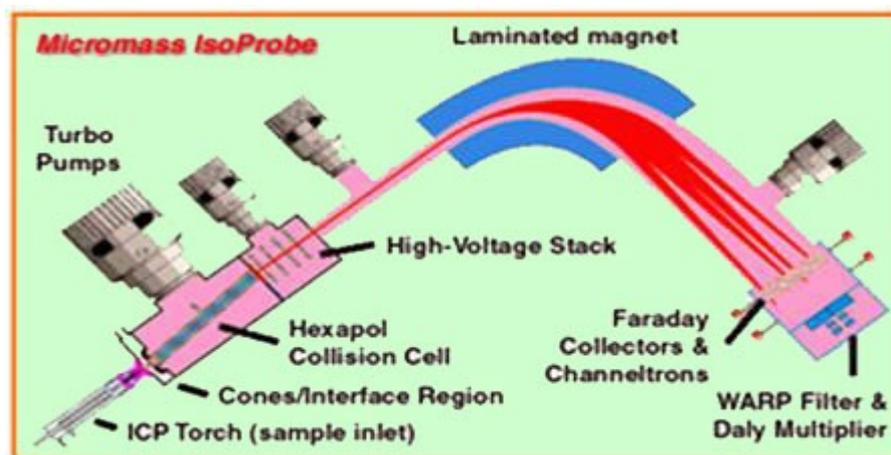


Fig.3:Diagrama esquemático de un analizador de masas de sector magnético equivalente a los utilizados en espectrometría de masas, recalcar la ubicación del sector magnético (laminated magnet)

- **Espectrómetros de doble enfoque:** este término se usa en los espectrómetros en los cuales las aberraciones direccionales y las aberraciones de energía de una población de iones se minimizan simultáneamente. El doble enfoque se consigue utilizando combinaciones de campos magnéticos y electrostáticos cuidadosamente seleccionados.
- **Espectrómetro de masa cuadrupolar:** son normalmente menos caros y más robustos que los de sector magnético, además también ofrecen la ventaja de emplear tiempos de barrido pequeños (<100ms), lo cual es particularmente útil para realizar barridos de picos cromatográficos en tiempo real. Son, con diferencia los más utilizados hoy en día

(Plasencia, 2003, 15).

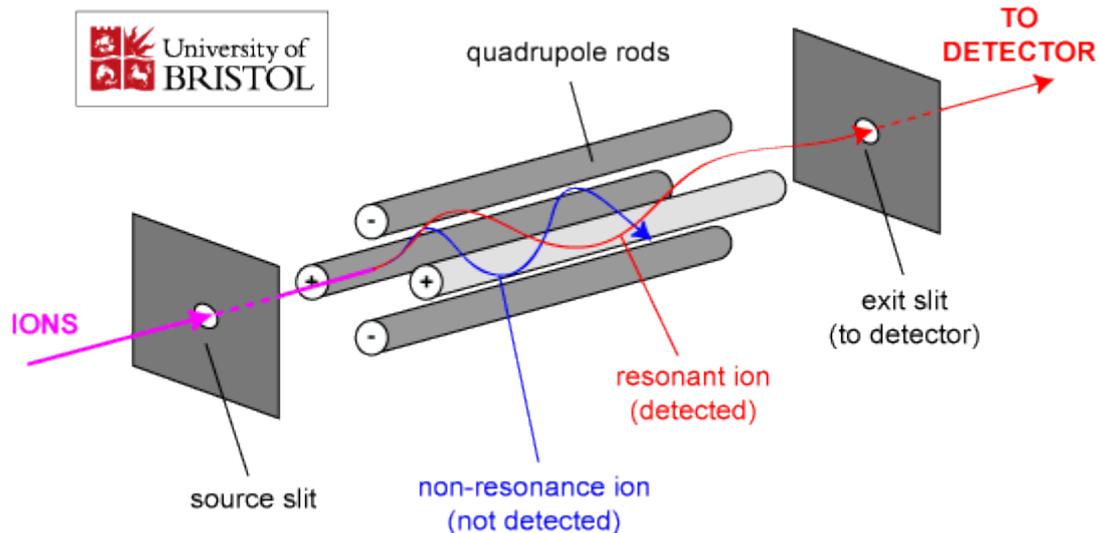


Fig.4: Diagrama de un espectrómetro de masa cuadrupolar, que es uno de los tipos de analizadores de masa más utilizados en espectrometría de masas dado su bajo precio y robustez.

- **Analizadores de masas de tiempo de vuelo (TOF):** en estos aparatos se producen los iones positivos periódicamente por bombardeo de la muestra con impulsos de electrones, de iones secundarios o de fotones generados por láser. Los iones producidos de esta forma son acelerados en un tubo analizador libre de campo mediante un campo eléctrico pulsante de 10³ a 10⁴ V. La separación de los iones en función de la masa se produce durante su recorrido hacia el detector, situado al final del tubo. Estos aparatos presentan ventajas como la robustez, simplicidad, fácil acceso a las fuentes de iones y el virtualmente ilimitado intervalo de masas, pero tienen no obstante una sensibilidad y una resolución limitadas.
- **Analizadores de trampa de iones:** es un dispositivo en el que los cationes o aniones gaseosos pueden formarse y quedar confinados durante largos periodos de tiempo por la acción de campos eléctricos y/o magnéticos. Los espectrómetros de trampa de iones son más robustos, compactos y más económicos que los anteriores.
- **Transformada de Fourier (FT):** Como sucede con los instrumentos de infrarrojo y de resonancia magnética nuclear, los espectrómetros de masas de transformada de Fourier proporcionan mejores relaciones señal/ruido, velocidades mayores y sensibilidad y resolución más elevadas.

La parte fundamental de un instrumento de transformada de Fourier es una trampa de iones en la cual los iones circulan en órbitas bien definidas durante largos periodos. Tales cavidades se construyen aprovechando el fenómeno de resonancia iónica ciclotrónica.

La resolución en espectrometría de masas de transformada de Fourier está limitada por la precisión en la medida de la frecuencia más que por las rendijas o las medidas de campo (Plasencia, 2003, 16-17).

Es posible alcanzar una resolución extremadamente elevada (superior a 10⁶) dado que las medidas de frecuencia se pueden realizar con elevada precisión.

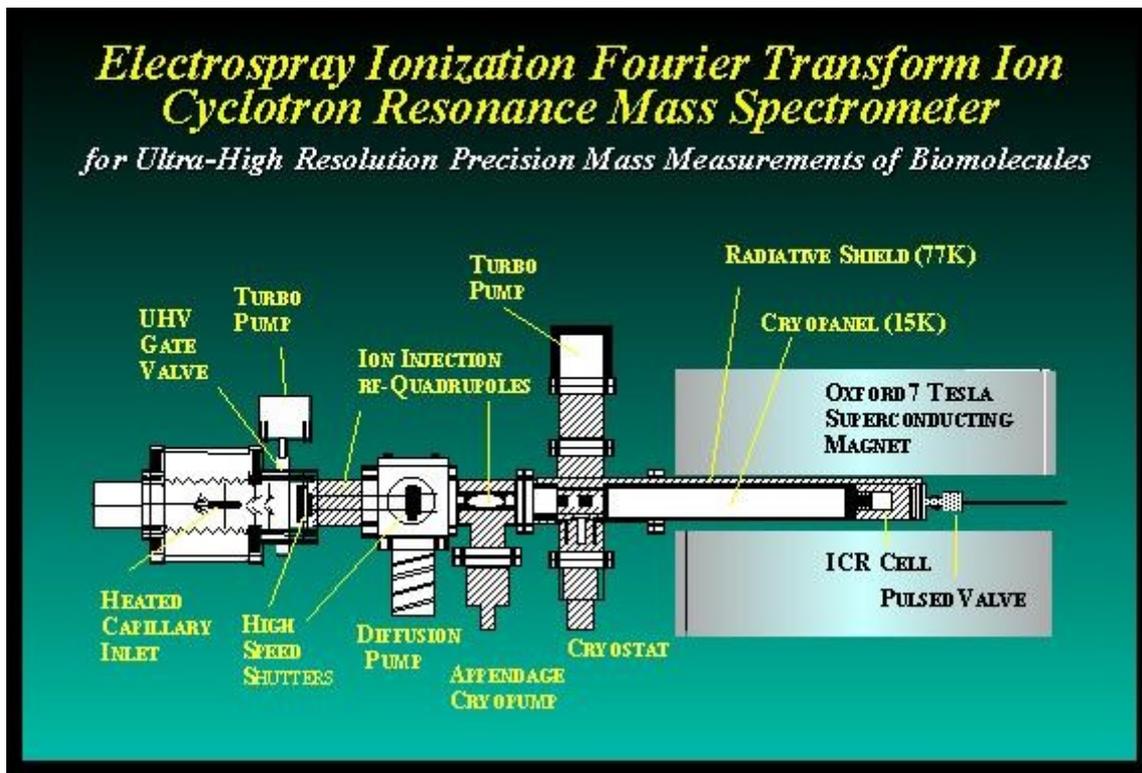


Fig.5: Diagrama de un analizador de masa de transformada de Fourier donde podemos ver sus diferentes elementos, reseñar la situación de la pompa de iones (turbo pump) cuya función se señala arriba y que es parte fundamental de este instrumento.

- **Detectores.**

Los iones procedentes del sistema acelerador llegan al detector el cual generalmente esta constituido por un cátodo emisor que al recibir el impacto producido por las partículas cargadas emite electrones. Estos electrones son acelerados hacia un dínodo el cual emite varios electrones más al recibir el impacto de cada electrón. Este proceso se repite varias veces hasta obtenerse una cascada de electrones que llega al colector lográndose una corriente fuertemente amplificada, por un procedimiento muy similar al que se utiliza en los tubos fotomultiplicadores. La corriente obtenida puede amplificarse de nuevo por procedimientos electrónicos y se lleva a un sistema registrador.

OBTENCIÓN Y ANÁLISIS DE UN ESPECTROGRAMA DE MASAS.

Como consecuencia del bombardeo electrónico en la cámara de ionización, las moléculas se rompen en una serie de fragmentos, siempre que una misma molécula se rompa en las mismas condiciones nos dará el mismo tipo y número de fragmentos y constituyen la **fragmentación patrón**. Gracias a esto se pueden determinar que es la muestra por comparación y por otra parte, la intensidad relativa de los distintos picos, permite deducir la proporción en que cada componente se encuentra en la muestra.

El pico del espectrograma que aparece con valor más elevado de m/e corresponde a la molécula ionizada sin fragmentar y recibe el nombre de **masa patrón**. Esta masa patrón nos permite determinar con rapidez y precisión la masa molecular, siempre que se opere con una tensión de ionización no excesivamente elevada, la cual produciría la fragmentación total de la molécula (Rouessac, Rouessac, 2003, 312)

El pico mayor del espectrograma de masa se llama **pico base**. Normalmente la altura de este pico se toma como valor cien. Las intensidades de los demás picos se expresan en porcentajes de la intensidad del pico base.

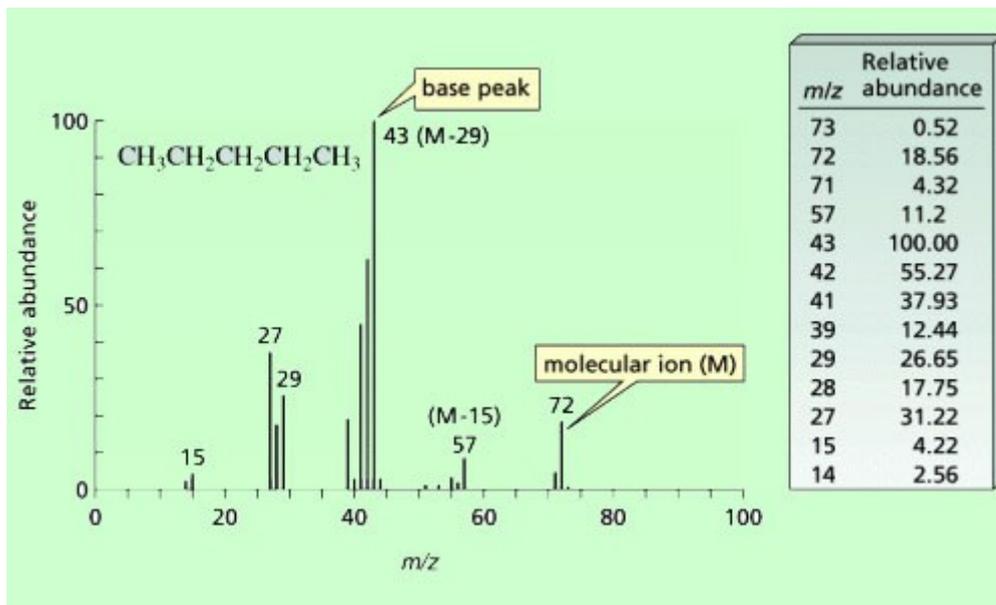


Fig.6: Aspecto clásico de un espectrograma de masas, en el que se señalan su pico base y su ión molecular más importante. La tabla situada a la derecha nos indica la concentración y la relación m/z de cada uno de los elementos presentes en el analito

APLICACIONES DE E.M.

Las aplicaciones son tan numerosas y abarcan tantos campos que resulta complicado citarlas todas, a continuación veremos las más características:

- Elucidación de la estructura de moléculas orgánicas y biológicas.
- Determinación del peso molecular de péptidos, proteínas y oligonucleicos.
- Identificación de los compuestos de cromatogramas en capa fina y papel.
- Determinación de secuencias de aminoácidos en muestras de polipéptidos y proteínas.
- Detección e identificación de especies separadas por cromatografía y electroforesis capilar.
- Identificación de drogas de abuso y sus metabolitos en sangre, orina y saliva.
- Control de gases en enfermos respiratorios durante los procesos quirúrgicos.
- Pruebas para confirmar la presencia de drogas en sangre de caballos de carreras y en atletas olímpicos.
- Datación de ejemplares en arqueología.
- Análisis de partículas en aerosoles.
- Determinación de residuos de pesticidas en alimentos.
- Control de compuestos orgánicos volátiles en el agua de suministro

Vamos a ver ahora de un modo más extenso las principales aplicaciones de esta técnica.

- **Aplicaciones cualitativas** (Skoog D., Holler J., Nieman T., 2000, pág. 272-285)
- **Determinación del peso molecular** de todas las sustancias que pueden volatilizarse por la posición del pico correspondiente a la masa patrón.
- **Determinación de la fórmula molecular.** Si el instrumento es de gran resolución bastará la determinación precisa de su masa molecular para poder atribuirle una fórmula empírica. Otras veces puede determinarse por la relación entre las alturas del pico correspondiente a la masa patrón y la de los picos de los isótopos. Existe una tercera forma que sería con la regla del nitrógeno, según la cual todas las sustancias orgánicas con peso molecular par deben de contener un número par o ningún átomo de N y los de número impar deben de contener un número impar. Por el contrario los fragmentos moleculares por rotura de enlace, tienen una masa impar si contienen cero o número par de átomos de N y masa par si el número de átomos de N es impar.

- **Identificación de compuestos por su fragmentación patrón:** la fragmentación de la mayor parte de las moléculas produce un gran número de picos que permiten la identificación de numerosos compuestos y el reconocimiento de ciertos grupos funcionales de ellos. Se han descrito una serie de reglas generales que rigen los procesos de fragmentación, los cuales son de gran utilidad para la determinación de los espectros.
- **Identificación de productos de reacción o de productos metabólicos:** se usa en cinética química y en farmacología pudiéndose llegar a identificar impurezas y metabolitos a concentraciones de pocas partes por millón.
- **Caracterización y análisis de polímeros:** el polímero se piroliza en condiciones controladas y los productos volátiles se hacen pasar a un espectrómetro para su análisis.
- **Análisis de sangre:** gracias a la rapidez del método, se puede emplear incluso como control durante un proceso quirúrgico. Así se puede determinar a gran velocidad las concentraciones hemáticas de monóxido y dióxido de carbono, oxígeno, nitrógeno, gases anestésicos (como el NO).
- **Estudiar la abundancia de isótopos:** Esta fue la finalidad con la que fue creada la técnica y en la actualidad se usa para análisis por dilución de isótopos, estudios con trazadores isotrópicos (5), estudiar la edad de las muestras por su proporción de isótopos con la ventaja frente a los radiactivos que se pueden medir los isótopos no radiactivos.
- **Aplicaciones cuantitativas.**(Skoog D., Holler J., Nieman T., 2000, pág. 286-302).

Para la determinación cuantitativa de los componentes de una mezcla es conveniente que cada uno de ellos presente por lo menos un pico que difiera claramente de los demás. La calibración se realiza por comparación de los picos con patrones adecuados. Las alturas de los picos son directamente proporcionales a las presiones parciales de los componentes volatilizados en la muestra.

Las aplicaciones cuantitativas de la espectrometría de masas para análisis cuantitativo son de dos tipos:

- **Determinación cuantitativa de especies moleculares o tipos de especies moleculares en muestras orgánicas, biológicas y ocasionalmente inorgánicas:** normalmente tales análisis se llevan a cabo haciendo pasar la muestra a través de una columna cromatográfica o de electroforesis capilar y posteriormente por el espectrómetro.
- **Determinación de la concentración de elementos en muestras inorgánicas y, en menor medida, de muestras orgánicas y biológicas:** las concentraciones de analito en este caso se obtienen directamente a partir de las alturas de los picos de los espectros de masas. Se crean curvas de calibrado que nos permiten el análisis cuantitativo gracias a la existencia de picos únicos para cada componente y cada valor de m/z.

CONCLUSIONES

Espero que el estudio realizado sobre la Espectrometría de masas pueda resultar de ayuda a los lectores y les ayude a entender este complejo instrumento y poder aplicarlo con una mayor efectividad.

De este trabajo me gustaría destacar la importancia de esta técnica desde sus comienzos hace más de cien años hasta la actualidad donde nos la encontramos como un instrumento altamente especializado y aplicable en multitud de campos.

Resultó indispensable en el conocimiento de la estructura molecular, ayudó a sentar las bases físico-químicas actuales y a derrumbar el modelo atómico de Bohr.

Pese a sus casi cien años de edad continua siendo uno de los instrumentos más recurridos a la hora de analizar todo tipo de muestras ya que de ella se destaca su gran versatilidad, facilidad de uso y fundamentalmente, porque es uno de los pocos instrumentos que te permiten realizar un análisis cualitativo y cuantitativo de forma simultánea y de calidad.

Sus ámbitos de uso se encuentran un tanto restringidos dado su elevado precio, su principal

enemigo y retractor, pero que no está impidiendo que cada día se imponga más frente a otras más innovadoras y su demanda no haga más que aumentar.

Vemos que el estudio exhaustivo de este instrumento es fundamental para su óptima utilidad, ya que te permite combinar diferentes tipos de cada uno de sus elementos para adecuarlo a las necesidades de cada investigación.

Hoy en día se continúa investigando en nuevos instrumentos de mejora para esta técnica, ya que cada día se exigen resultados con mayor precisión o simplemente porque se analizan muestras en las que se requiere una mayor especialización.

Esta variabilidad ha hecho que continúe vigente y se mantenga altamente adaptada en la actualidad, unido, como no, a su alta aplicabilidad en campos tan variados como la medicina, criminalística, I+D farmacéutica o los laboratorios de biología molecular entre otros.

APÉNDICES

GLOSARIO

- **Relación masa/carga:** Esta expresión, abreviada m/z , es la relación del número de masa (m) de una partícula dada entre el número (z) de unidades cargadas electrostáticamente (e) que posee la partícula. Así, m/z es una relación adimensional que es el parámetro medido por el analizador de masas. La masa de una partícula dada es igual a la suma de sus masas atómicas (en Daltons) de todos los elementos que componen la partícula. El símbolo para la unidad de masa es u , y corresponde a $1/12$ de la masa del ^{12}C , al que se le ha asignado un valor de 12.000000 por convención.
- **Iones doblemente cargados:** Es posible para una molécula perder dos electrones durante el proceso de ionización. Estos iones que están doblemente cargados producirán un pico en el espectro de masas en un valor m/z numéricamente igual a la mitad de la masa molecular del ion. Los iones doblemente cargados son insignificantes en el espectro de masa para la mayoría de los compuestos. Sin embargo, para aquellas moléculas que los produzcan en forma estable, los picos correspondientes en el espectro de masas pueden ser usados en la interpretación de datos.
- **Ion molecular:** El ion molecular resulta de la ionización de la molécula a analizar. Este ion representa la molécula intacta y es el último precursor de todos los iones fragmentados que componen el espectro de masas. El pico del ion molecular aparece a un valor m/z numéricamente igual al peso molecular del compuesto.
- **Pico base:** Es el pico más intenso en el espectro de masas. Es usado como base para normalizar las intensidades de los otros picos. Al pico base se le asigna una intensidad relativa de 100%.
- **Intensidad relativa:** La intensidad relativa de un pico representa su intensidad en comparación con el pico base. Se representa como % respecto al pico base que es 100%. Por convención, este dato se indica en la izquierda del espectro de masas.
- **Porcentaje total de ionización:** Este término expresa la abundancia de un ion individual comparado con la suma de las abundancias de todos los iones en un rango de masa específico. La escala de porcentaje total de ionización está representada a la derecha del espectro de masas con el símbolo ($\%S_n$), este dato puede ser utilizado para comparar diferentes espectros de masas de diferentes compuestos.
- **Espectro de masas:** Un espectro de masas es una gráfica de intensidad relativa del ion como función de la relación masa/carga (m/z). El espectro de masas es frecuentemente representado como un histograma simple. Esta forma de registro de iones y sus intensidades sirven para establecer el peso molecular y estructura del compuesto a ser analizado. Debido a que ocurre la fragmentación del analito, las fracciones del ion aparecen en el espectro a valores m/z menores que la molécula completa ionizada (ion molecular) a partir de los datos se deduce la estructura y peso molecular de la molécula completa.

BIOGRAFÍAS.

- **J.J. Thomson (1856-1940):** Nació el 18 de diciembre de 1856 cerca de Manchester, Lancashire. Hijo de un librero que quiso que Thomson fuera ingeniero. Con catorce años ingresó en Owens Collage (hoy parte de la Universidad de Manchester) posteriormente lo hizo en el Trinity College, de la Universidad de Cambridge, donde también enseñó matemáticas y física, ejerció como profesor de física experimental en el laboratorio de Cavendish, y fue rector del Trinity College (1918- 1940). Además fue presidente de la Sociedad Real (1915-1920) y profesor de filosofía natural de la Institución regia de Gran Bretaña (1905-1918). Le concedieron en 1906 el Premio Nobel de Física, gracias a su trabajo sobre la conducción de la electricidad a través de los gases. Se le consideró el descubridor del electrón por sus experimentos con el flujo de partículas (electrones) que componen los rayos catódicos. Falleció el 30 de agosto de 1940.
- **Wien, Wilhem (1864-1928):** Nació el 13 de enero de 1864 en Gaffken. Cursó estudios en las universidades de Gotinga, Heidelberg y Berlín. En el año 1890 fue ayudante del físico alemán Hermann Ludwig von Helmholtz en el Instituto Imperial de Técnica Física de Charlottenburg. Desde 1900 fue profesor de física en las universidades de Giessen, Würzburg y Munich.. Por su descubrimiento de las leyes de la radiación del calor fue galardonado en 1911 con el Premio Nobel de Física.
- **Jean Baptiste Joseph Fourier (1768- 1830):** Matemático Francés. Nació el 21 de Marzo de 1768 en Auxerre, Bourgogne. A la edad de 30 años fue designado por Napoleón consejero científico en una expedición a Egipto Regresó a Francia en 1801 donde fue nombrado prefecto del departamento de Isere por Napoleón. Publicó "La teoría analítica del calor" en 1822. Estableció la ecuación diferencial parcial que gobierna la difusión del calor solucionándolo por el uso de series infinitas de funciones trigonométricas. Introdujo la representación de una función como una serie de senos y cosenos, ahora conocidas como las series de Fourier. Falleció el 16 de marzo de 1830.

PROCEDENCIA DE LAS ILUSTRACIONES

Fig.1: Imagen disponible en: <http://www.ugr.es/~quiro red/espec/ms1.htm>

Fig.2: Harvey, 2002, pag.296.

Fig.3: Imagen disponible en: <http://www3.imperial.ac.uk/ear thscienceandengineering/research/ggp/icpmsmulticollect or/micromassisoprobe>

Fig.4: Imagen disponible en: <http://www.chm.bris.ac.uk/ms/theory/quad-massspec.html>

Fig.5: Imagen disponible en: <http://collaboratory.emsl.pnl.gov/projects/AAAS/fticr/sld001.htm>

Fig.6: Imagen disponible en: <http://www.ugr.es/~quiro red/espec/ms1.htm>

BIBLIOGRAFÍA

- Creel A., Howard F., 1993, *Prospects for the Analysis of High Molar Mass Polymers Using MALDI Mass Spectrometry*. Trends in Polymer Science, Reading (UK), Ed: Pure and Applied Macromolecular Chemistry Group.Macro Group UK, Vol.1, nº11
- Diccionario Médico Ilustrado de bolsillo Dorland. 2001. Madrid: McGraw-Hill – Interamericana de España, S.A.U. Edición 26, 195 pgs.
- *Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclorin Resonance Mass Spectrometer*, Pacific Northwest National Laboratory; Battelle Memorial Institute (en línea). Disponible en: <http://collaboratory.emsl.pnl.gov/projects/AAAS/fticr/sld001.htm>

- Gates, P., 2004, *Quadruple & Triple Quadrupole (QQQ) Mass Analysis*, The University of Bristol, School of Chemistry ; MASS SPECTROMETRY RESOURCE (en línea). Disponible en: <http://www.chm.bris.ac.uk/ms/theory/quad-massspec.html>
- *Grupo de Química Computacional*, Departamento de Química Física de la Universidad de Compostela, Compostela, (en línea). Disponible en: <http://web.usc.es/~qftjesus/>
- Harvey, D., 2002, *Química Analítica Moderna*, Madrid: Mc Graw Hill / Interamericana de España s.a., 570 pgs.
- MC-ICPMS and the Micromass IsoProbe, Imperial College London, London. (en línea). Disponible en: <http://www3.imperial.ac.uk/ear/thscienceandengineering/research/ggp/icpmsmulticollector/micromassisoprobe>
- *Métodos Espectrométricos en Química Orgánica*, 2006, Departamento de química orgánica; Facultad de ciencias naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, (en línea), Disponible en: http://www.qo.fcen.uba.ar/Cursos/metesp06_files/introduccion06.pdf
- [Oriol, J.O., del Castillo, B, 1998, Técnicas Instrumentales en Farmacia y Ciencias de la Salud, Barcelona: Piros, 568 pgs.](#)
- [Plascencia Villa, G., 2003, Maestría En Ciencias Bioquímicas;](#)
- [Curso De Métodos; Espectrometría De Masas, Instituto de Biotecnologías;Universidad Autónoma Nacional de Mexico, Mexico D.F., \(en línea\) Disponible en: http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/Spec_Masas.pdf](#)
- Rouessec A., Rouessec F., 2003, *Análisis Químico: Métodos y Técnicas Instrumentales Modernas*, Madrid: Mc Graw Hill, 464 pgs.
- Rubinson, J., Rubinson, N, 2000, *Analisis Instrumental*, Madrid: Prentice Hall, 782 pgs.
- Skoog, D.A., Hiller F.J, Nieman T.A, 2001, *Principios de Analisis Instrumental*, Madrid: Mc Graw Hill, 5ª Edición, 490 pgs.
- Tutorial de Espectroscopia; Elucidación estructural, 2004, Universidad de Granada; Facultad de ciencias, Dpto. Química Orgánica. (en línea) Disponible en: <http://www.ugr.es/~quiorred/espec/ms1.htm>
- Valcárcel Cases, M., Gómez Hens, A., 1988. *Técnicas Analíticas de Separación*. Barcelona: Reverté.
- Willard, H.H., et al., 1991, *Métodos Instrumentales de Análisis*. Mexico: Grupo Editorial Americana, 2ª Edición, 278 pgs.

1 La electroforesis es un método de laboratorio en el que se utiliza una corriente eléctrica controlada con la finalidad de separar biomoléculas según su tamaño y carga eléctrica a través de una matriz gelatinosa formada por capilares muy finos.

2 Lo contrario a la adsorción; la eliminación de materia desde un medio adsorbente, usualmente para recuperar material.

3 Descomposición térmica de materiales que contengan carbono en ausencia de oxígeno.

4 Un monocromador es un sistema con un elemento dispersivo (prisma o red de difracción) cuya función es la de separar angularmente las distintas longitudes de onda de un haz de luz policromático

5 Pequeñas sustancias coloidales (nanocoloides) cuyas partículas son neutras y biológicamente

inertes, con tamaño alrededor de los 50 nanómetros. Los nanocoloides se marcan con ^{99m}Tc , radionúclido que presenta grandes ventajas prácticas como son su alta disponibilidad y su fácil detección. Estos preparados son estables in vivo y su mecanismo de acción es físico