

## TEMA 6 INTRODUCCIÓN A LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS Y SUS APLICACIONES EN ANÁLISIS AMBIENTAL

### 1. INTRODUCCIÓN: ESPECTROS DE MASAS.

Los espectros de masas se obtienen convirtiendo los componentes de una muestra en iones gaseosos, que se mueven rápidamente en presencia de un campo magnético y se separan en función su relación masa/carga. Un espectro de masas (Figura 1) representa la abundancia relativa de los distintos iones en función de su relación masa/carga ( $m/z$ ).

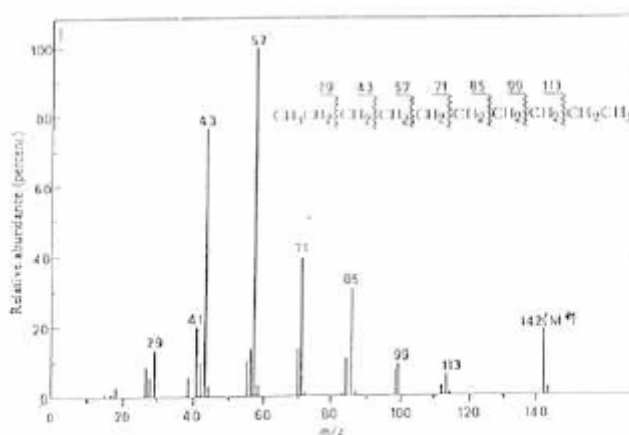


Figure 1 Typical linear hydrocarbon mass spectrum ( $n\text{-C}_{10}\text{H}_{22}$ )

La espectrometría de masas es una herramienta analítica muy poderosa y de aplicación muy general. Los espectros de masas suministran información sobre la estructura de especies moleculares complejas, las relaciones isotópicas de los átomos en las muestras, y la composición cualitativa y cuantitativa de analitos orgánicos e inorgánicos en muestras complejas.

### 2. INSTRUMENTACIÓN EN ESPECTROMETRÍA DE MASAS

El fundamento de la medida de los espectros de masas es muy sencillo, sin embargo la instrumentación es extraordinariamente compleja. Las etapas necesarias en una determinación de masas son:

- a) generación de moléculas (y fragmentos moleculares y/o átomos) en fase gaseosa
- b) ionización de los mismos
- c) separación en función de su relación m/z
- d) detección de los iones

En el diagrama de bloques de la Figura 2, se muestran de forma muy simplificada los componentes principales de un espectrómetro de masas.

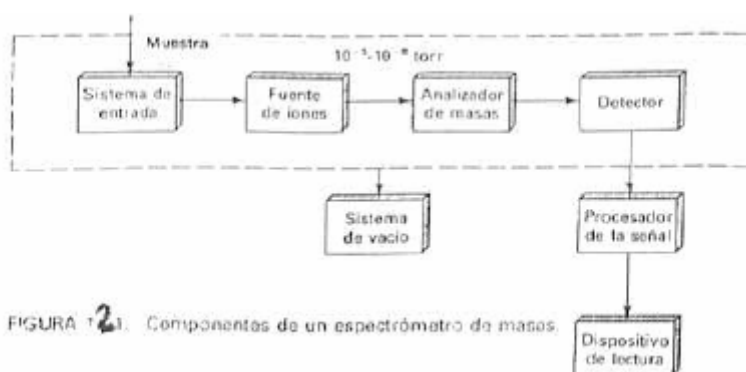


FIGURA 2. Componentes de un espectrómetro de masas.

1. **Sistema de entrada** su objetivo es introducir una pequeña cantidad de muestra (un micromol o menos) en el espectrómetro de masas. A menudo el sistema de entrada contiene un medio que permite la volatilización de muestras sólidas o líquidas.

2. **Fuente de ionización:** convierte los componentes de la muestra en iones. Esto puede conseguirse por bombardeo con electrones, moléculas o fotones. Alternativamente también puede lograrse la ionización mediante energía térmica o eléctrica. En muchos casos la fuente de ionización y el sistema de entrada están combinados en un único componente. Si se emplean fuentes de fase gas la muestra es primero volatilizada y después ionizada, si se emplean fuentes de desorción la energía se transmite directamente a la fase sólida o líquida, produciéndose la ionización y la transferencia de los iones al estado gaseoso.

Existen diversos tipos de fuentes de ionización según los distintos tipos de muestras y para diferentes aplicaciones. De forma general se distinguen dos tipos: duras y blandas.

a) Las fuentes duras comunican elevadas energías a los iones formados, de esta forma estos iones se encuentran en niveles vibracionales y rotacionales muy elevados. La relajación de estos iones produce gran cantidad de fragmentación, resultando espectros de masas de gran complejidad, únicos para cada compuesto como una "huella dactilar" y que permiten la identificación inequívoca del mismo. Un ejemplo muy representativo de fuente dura es la de impacto de electrones, en la que la muestra se bombardea con un haz de electrones de elevada energía.

b) Las fuentes blandas por el contrario, producen relativamente poca excitación de los iones de modo que tiene lugar poca fragmentación y los espectros son sencillos. Estos espectros suelen permitir la determinación exacta del peso molecular de un compuesto. Entre las fuentes blandas más empleadas están la de ionización química, que emplea un iones gaseosos reactivos y la de electroaspersión (o electronebulización).

En la Figura 3 se muestra la diferencia que presenta un espectro obtenido con una fuente dura y otro con una fuente blanda.

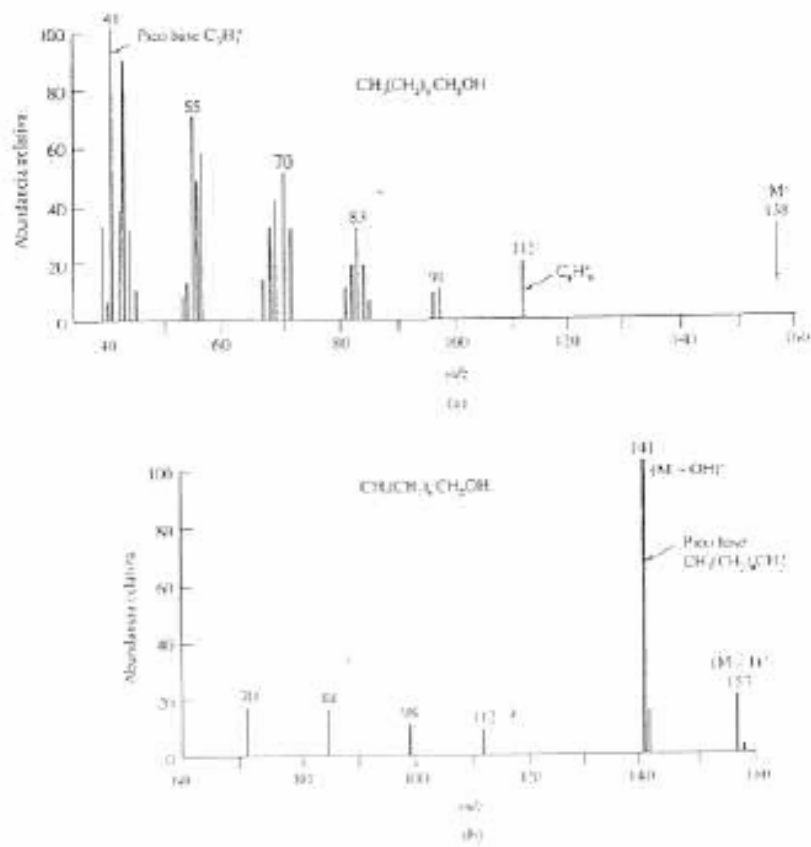


Figura 3 Espectros de masas del 1-decanol: (a) con una fuente dura; (b) con una fuente blanda.

Existen numerosas fuentes de ionización , además de las mencionadas. Las principales se resumen en la Tabla 1.

TABLA 20-1. Fuentes de iones en espectrometría de masas molecular

Tipo	Nombre y acrónimo	Agente ionizante
Fase gaseosa	Impacto de electrones (EI) Ionización química (CI) Ionización por campo (FI)	Electrones energéticos Iones gaseosos reactivos Electrodo de elevado potencial
Desorción	Desorción por campo (FD) Ionización por electrospray (ESI) Desorción/ionización asistida por una matriz (MALDI) Desorción por plasma (PD) Bombardeo con átomos rápidos (FAB) Espectrometría de masas de iones secundarios (SIMS) Ionización por termonebulización (TS)	Electrodo de elevado potencial Campo eléctrico elevado Haz de láser Fragmentos de fisión del $^{252}\text{Cf}$ Haz de átomos energéticos Haz de iones energéticos Elevada temperatura

3. **Analizador de masas.** La función del analizador de masas es la separación de los iones en función de su relación masa/carga ( $m/z$ ). La capacidad de un

espectrómetro de masas para distinguir entre masas próximas se expresa normalmente en términos de resolución (R), que se define como:

$$R = m/\Delta m$$

Siendo  $\Delta m$  la diferencia de masas entre dos picos adyacentes y  $m$  la masa nominal del primer pico (o la masa media de los dos). Dos picos se consideran separados si la altura del valle entre los mismos no es superior a un cierto porcentaje (generalmente un 10%) de la altura de los mismos. La resolución que se necesita en un espectrómetro de masas depende de la aplicación.

Los espectrómetros de masas se suelen clasificar en función del principio de operación del analizador de masas. Una descripción detallada del funcionamiento de los diferentes analizadores de masas excede por completo el alcance de este tema, pero puede encontrarse en cualquier libro de Química Analítica Instrumental. Solamente diremos que los más frecuentes son los de sector magnético y los de cuadrupolo. Una representación esquemática de los mismos se encuentra en las Figuras 4 y 5.

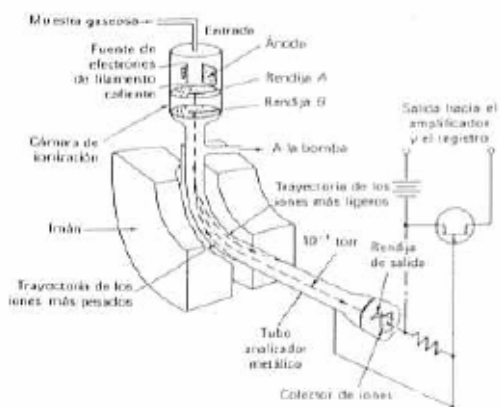


FIGURA 4 Esquema de un espectrómetro de sector magnético.

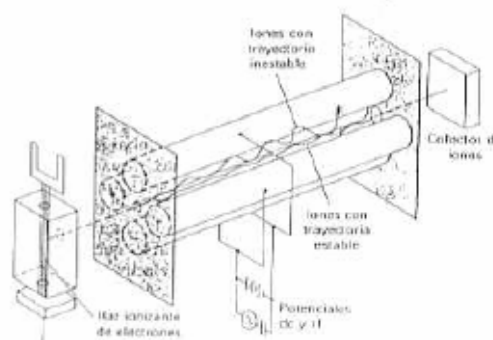


FIGURA 5 Espectrómetro de rejillas de cuadrupolo. (De D. Lichman, *Res. Dev.*, 1964, 15(2). Con permiso, © 1964, Cahiers Publishing Company.)

Los de sector magnético utilizan un electroimán para dispersar simultáneamente todos los iones en función de su relación  $m/z$ .

Los de cuadrupolo en cambio, en determinadas condiciones sólo dispersan una banda estrecha. El corazón del espectrómetro son cuatro barras cilíndricas

paralelas que actúan como electrodos. Los iones se aceleran en el espacio entre las barras. La mayor parte de ellos inciden en las barras, solo los que tienen un determinado valor de  $m/z$  alcanzan el detector. Variando las condiciones puede hacerse un barrido más amplio. Estos analizadores son más simples, robustos y rápidos que los primeros.

4. **Detector.** El detector convierte el haz de iones en una señal eléctrica que puede ser procesada y almacenada. El detector más empleado es el multiplicador de electrones (Figura 6). El haz de iones incide sobre un cátodo, arrancando electrones. Después una serie de dínodos colocados a potenciales cada vez más altos amplifican la corriente de electrones.

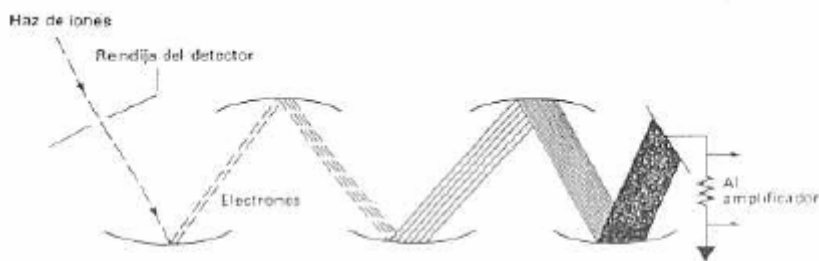


FIGURA 6

5. **Almacenamiento y procesado de datos.** Los espectros de masas se almacenan y procesan en un ordenador. Es muy frecuente la construcción de bibliotecas de espectros de masas que permiten la identificación casi inequívoca de cualquier compuesto por comparación.

### 3. APLICACIONES DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Las principales aplicaciones de la espectrometría de masas pueden resumirse en:

### a) Identificación y determinación estructural de compuestos puros.

A partir del espectro de masas de un compuesto pueden determinarse su masa molecular y su estructura.

La determinación de la masa molecular requiere la identificación del pico del ión molecular. Cuando se emplea la ionización electrónica el fragmento inicial suele ser un ión radical positivo ( $M^+$ ), pues a la molécula se le arranca un electrón. En fuentes de impacto de electrones a veces es difícil identificarlo, pues suele ser muy pequeño o incluso estar ausente debido a la intensa fragmentación. Cuando se emplea la ionización química se obtienen especies llamadas quasimoleculares, generalmente en el proceso de ionización química se produce una transferencia de protones del gas reactivo a la especie de interés, obteniéndose fundamentalmente el pico a  $(M+1)^+$ . A veces se produce transferencia de hidruro de la especie de interés al gas reactivo y se obtiene el pico  $(M-1)^+$ .

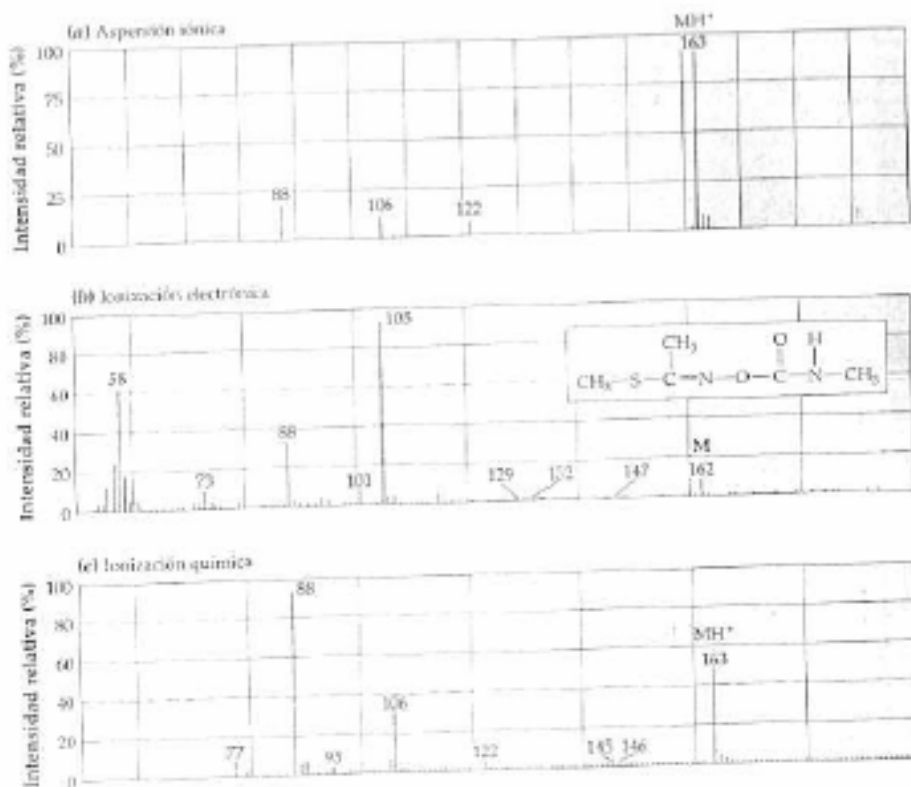


FIGURA 12.4 ▲  
 Espectros de masas del mismo compuesto obtenidos empleando tres tipos distintos de vaporización e ionización de la muestra. La muestra es el pesticida a base de carbamato Metomil. Su estructura se indica en (b). El espectro (a) se obtuvo por aspersión iónica (electroaspersión). El espectro (b) se obtuvo por ionización electrónica y el (c) por ionización química. Observe los patrones de fragmentación tan distintos que se obtuvieron. La aspersión iónica y la ionización química producen muchos iones con un protón adicional, de modo que se obtiene  $m/z$  163 en (a) y (c) pero  $m/z$  162 en (b). Todos presentan  $m/z$  88. [Ref.: Pleasance, S., Anacleto, J.J., Bailey, M.R., North, D.H. 1992. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* 3:378-397.]

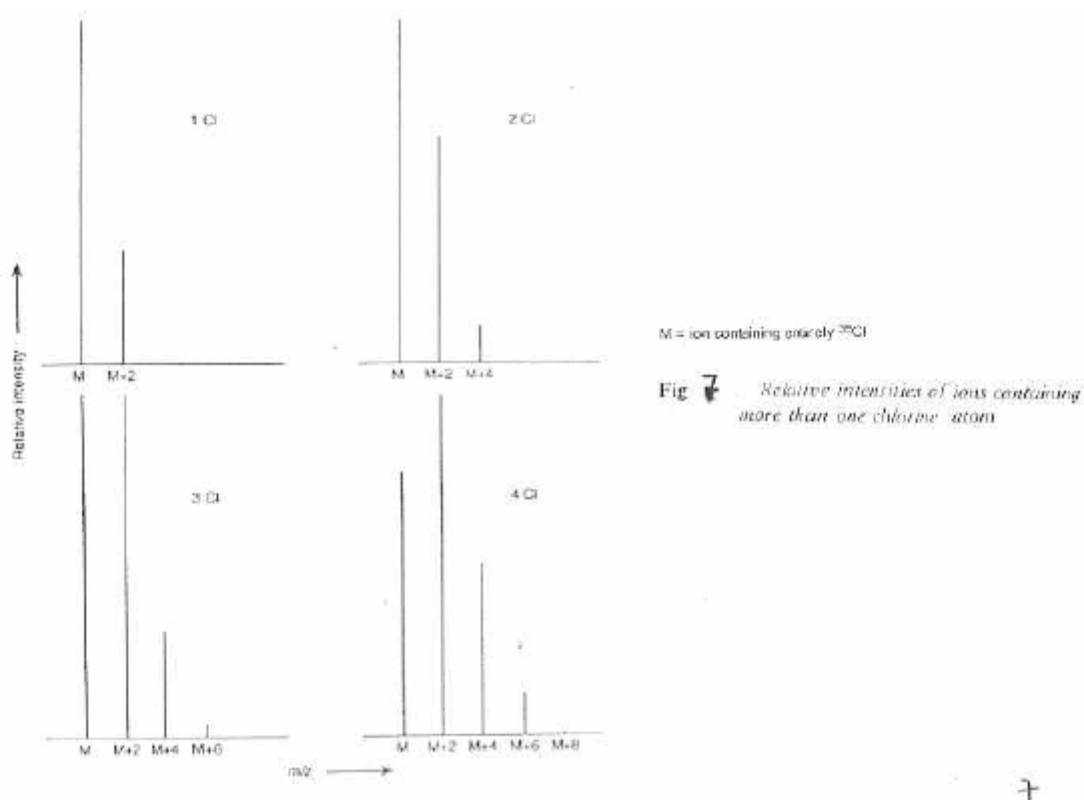
La determinación de la fórmula estructural es más compleja. La asignación de una única fórmula molecular para un compuesto requiere que el pico del ion molecular pueda ser identificado y su masa exacta determinada. La determinación de la masa exacta del ión molecular solo es posible con instrumentos de alta resolución, capaces de detectar diferencias de masas de unas pocas milésimas de unidad de masa. Una unidad de masa atómica es la doceava parte de la masa del átomo de Carbono 12. La masa atómica promedio de un elemento viene dada por la suma de las masas de los distintos isótopos multiplicada por su abundancia relativa:

$$A = A_1p_1 + A_2p_2 + \dots + A_n p_n$$



Con un instrumento de baja resolución solo podrían discriminarse átomos con una unidad de masa de diferencia (1 u.m.a.). Por ejemplo, para diferenciar iones de igual masa nominal tales como  $C_2H_4^+$ ,  $CH_2N^+$ ,  $N_3^+$  y  $CO^+$ , todos ellos con 28 u.m.a. de masa nominal pero con masas exactas de 28.0313, 28.0187, 28.0061, y 27.9949, respectivamente, se necesita un espectrómetro de muy alta resolución.

Sin embargo, con un instrumento de baja resolución que solo puede distinguir entre iones cuyas masas difieren en un número entero, puede obtenerse información útil sobre la fórmula molecular con tal de que el pico del ión molecular sea suficientemente alto y los picos de los isótopos se puedan determinar con precisión. Es lo que se conoce como estudio de los patrones de distribución isotópica. Nunca aparece un sólo pico del ión molecular sino un conjunto característico de picos con intensidades fijas propio de la presencia de ciertos elementos. Así por ejemplo, es muy característico en compuestos con cloro (ver Figura 7).



En compuestos con un átomo de Cl aparecen dos picos debidos al  $^{35}\text{Cl}$  y  $^{37}\text{Cl}$ . El pico de  $m/z= 35$  tiene tres veces la altura del  $m/z= 37$ , pues el  $^{35}\text{Cl}$  es tres

veces más abundante que el  $^{37}\text{Cl}$ . Para un compuesto con dos átomos de Cl hay más posibilidades:  $^{35}\text{Cl-R-}^{35}\text{Cl}$ ,  $^{35}\text{Cl-R-}^{37}\text{Cl}$  y  $^{37}\text{Cl-R-}^{37}\text{Cl}$ . Aparecen entonces tres picos. Cuando hay más átomos de Cl el patrón de dilución isotópica se va complicando, pero es siempre identificable.

La determinación de la estructura molecular puede hacerse a través del estudio de los patrones de fragmentación. El conjunto de los picos con valor de  $m/z$  inferior al del ión molecular y su abundancia relativa constituye el patrón de fragmentación. Dichos patrones dependen de la estructura y la química de la molécula, así como de la técnica empleada para la vaporización e ionización de la muestra. Aunque rara vez es posible explicar todos los picos si que es muy frecuente identificar las masas de algunos fragmentos neutros que comúnmente se separan del ión molecular. Por ejemplo, suele identificarse la pérdida de agua en las moléculas de alcoholes, apareciendo un pico correspondiente al ión  $(M-18)^+$ .

Los patrones de fragmentación son extremadamente útiles en la identificación de compuestos por comparación con la información contenida en bibliotecas espectrales, pues constituyen una verdadera "huella dactilar" de cada compuesto.

#### **b) Análisis de compuestos orgánicos en muestras complejas: acoplamiento cromatografía-espectrometría de masas**

Aunque la espectrometría de masas es una poderosa herramienta para la identificación de compuestos puros, la complejidad de los espectros de masas dificulta enormemente el análisis de mezclas, incluso simples. Por ello para el análisis de muestras complejas se emplean acoplamientos de esta técnica con técnicas potentes de separación, como es la cromatografía.

Así, el acoplamiento Cromatografía de gases-Espectrometría de masas (GC-MS) es una de las herramientas más poderosas al alcance de los químicos para el análisis de muestras complejas. En este caso se efectúan los espectros de masas de los compuestos que salen de la columna cromatográfica. Es

necesaria una interfase entre ambos instrumentos que tiene como misión fundamental pasar de la alta presión a la que sale el efluente cromatográfico al vacío necesario en el espectrómetro de masas. El acoplamiento también es posible con la cromatografía líquida, solo cambia el tipo de interfase necesario entre los instrumentos. En general hay que eliminar el eluyente (fase móvil) antes de la introducción de los analitos en el espectrómetro.

Estos acoplamientos permiten reunir las ventajas de una técnica poderosa de separación con una herramienta poderosa de identificación. Pueden registrarse espectros de masas a lo largo de toda la separación cromatográfica. Así pueden identificarse inequívocamente los picos y comprobar incluso su pureza, es decir si la separación ha sido completa o se ha producido en algún momento la co-elución de dos compuestos.

Estas técnicas resultan extremadamente útiles en el análisis de ultratrazas (ng/Kg) de compuestos orgánicos. El análisis de tan bajos niveles de concentración (ultratrazas) puede resultar necesario cuando se trata de especies de muy alta toxicidad y que se acumulan en los organismos vivos. Es el caso de las dibenzoparadioxinas policlorinadas (PCDDs), los dibenzofuranos policlorinados (PCDFs) o los bifenilos policlorinados. Se analizan en suelos y organismos vivos principalmente. Se acumulan en la materia orgánica del suelo.

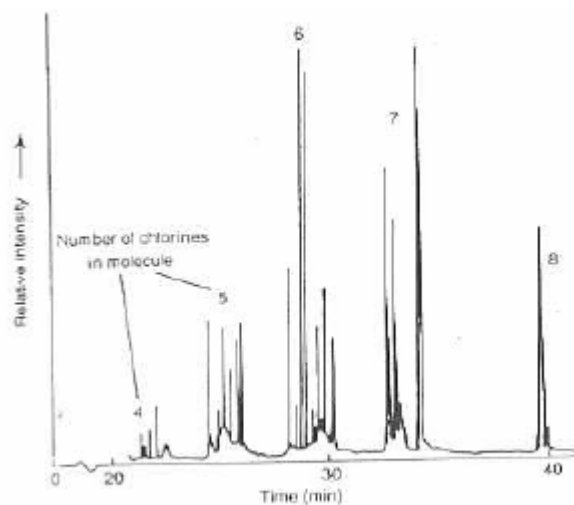
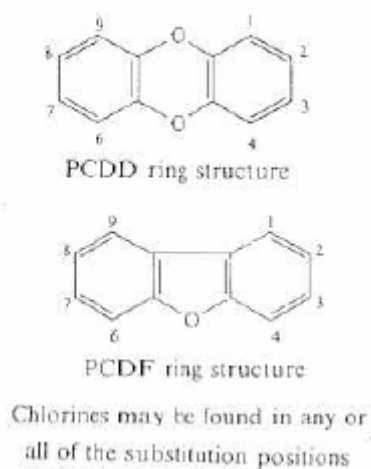


Fig. 8.2d. Total ion chromatogram of a dioxin mixture

También se emplean estas técnicas en análisis de herbicidas y pesticidas (Figura 8).

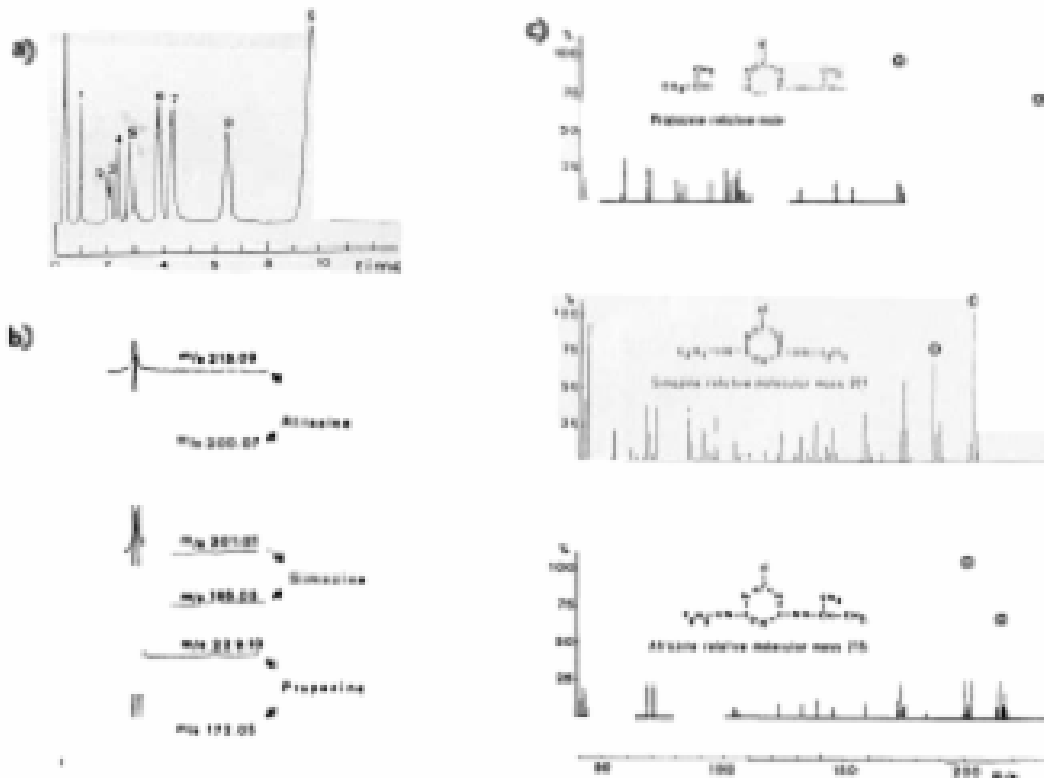


Figure 8.19. (a) Total ion current chromatogram of seven herbicides separated on a  $\mu$ -m  $\times$  2 mm I.D. column packed with Supelcoport 100-120 mesh coated with 1  $\mu$ M IP 2250 + 1.00% SP 1001. Peak identifications: 1, diclofop; 2, trifluralin; 3, CIPC; 4, 2,4-DME; 5, atrazine; simazine; and propazine; 6, 2,4,5-TME; 7, aldrin; 8, DCPA; 9, silver ME. (b) Selected ion monitoring of peak 7 comparing atrazine, simazine, and propazine according to their structurally significant mass spectrometric peaks. (c) Mass spectra of the three compounds. Stars indicate ions monitored in (b). (From H), courtesy of Chromatographia.

### c) Análisis elemental

La espectrometría de masas es también muy usada en la determinación de concentraciones de elementos en materiales diversos: minerales, combustibles fósiles, suelos, partículas atmosféricas, así como aguas y muestras líquidas.

En estas aplicaciones la muestra se expone a una fuente de alta energía que atomiza la muestra y convierte el vapor atómico resultante en iones cuya abundancia relativa se determina mediante un espectrómetro de masas. La

fuelle más conveniente para el análisis elemental de trazas y ultratrazas mediante espectrometría de masas es la antorcha de plasma acoplado por inducción (ICP). Se obtiene así la técnica acoplada IPC-Masas (ICP-MS). En la Figura se muestra un ejemplo del espectro de masas de una roca.

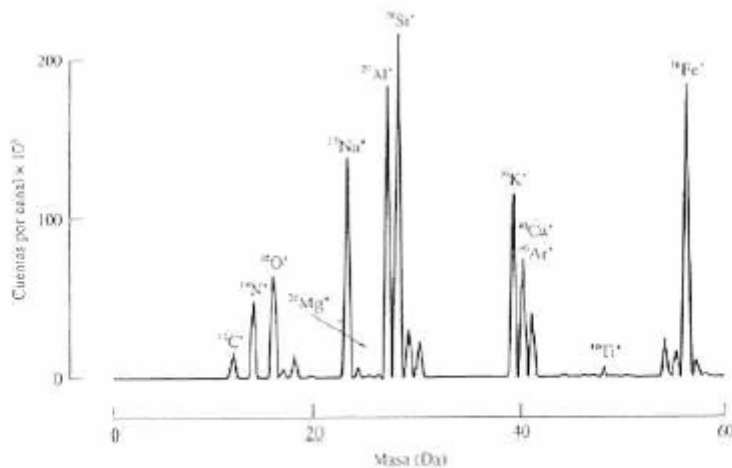


Figura Espectro de una muestra de roca patrón obtenido por ablación por láser/ICPMS

El acoplamiento ICP-MS es uno de los métodos más avanzados y útiles de análisis elemental. Alrededor del 90% de los elementos de la tabla periódica se han determinado con pocas interferencias. En general los límites de detección son mejores que los de emisión óptica con ICP y compiten con los de absorción atómica electrotérmica, encontrándose límites de detección entre 0.1-10 ppb para la mayoría de los elementos. El análisis es además muy rápido y multielemental.

## QUÍMICA ANALÍTICA AMBIENTAL

### AUTOEVALUACIÓN

### TEMAS 6 y 7

1. Responde razonadamente si las siguientes afirmaciones son verdaderas o falsas:
  - a) En cromatografía de líquidos en fase inversa los solutos más polares son eluidos de la columna antes que los menos polares
  - b) Un detector frecuente en cromatografía iónica es el detector de ionización de llama
  - c) En cromatografía de gases para una serie de compuestos de estructura semejante (ej: Hidrocarburos saturados) el más volátil es que presenta mayor tiempo de retención
  - d) En cromatografía iónica pueden determinarse simultáneamente aniones y cationes en el mismo cromatograma
2. Dibuja un esquema de un cromatógrafo de gases indicando en nombre y función de cada uno de los componentes esenciales.
3. Indica si las siguientes variables influyen decisivamente o no en la separación en cromatografía de gases:
  - a) la velocidad del gas portador
  - b) la naturaleza de la fase móvil
  - c) la temperatura
  - d) la naturaleza de la fase estacionaria
  - e) el sistema detector empleado
4. En las siguientes determinaciones mediante cromatografía de gases ¿cuál es el detector más idóneo y por qué?
  - a) determinación de hidrocarburos
  - b) determinación de pesticidas organoclorados
  - c) determinación de gases inorgánicos como  $\text{SO}_2$ ,  $\text{CO}_2$ ...
  - d) si se quiere demostrar la presencia en una muestra de un determinado compuesto orgánico (ej. un pesticida) de forma inequívoca
5. Indica tres detectores que puedan ser empleados en HPLC.
6. En cromatografía de líquidos en fase inversa ¿cuándo se producirá más rápidamente la elución de los solutos de la columna?
  - a) empleando una fase móvil de alta polaridad
  - b) empleando una fase móvil de polaridad moderada
  - c) es indiferente
7. ¿A qué hacen referencia los términos "blandas" y "duras" que se aplican a las fuentes de ionización en espectrometría de masas?
8. ¿Qué beneficio aporta el empleo de un espectrómetro de masas como detector en cromatografía frente a los detectores convencionales?
9. ¿Qué son los patrones de distribución isotópica?