

## UNIDADES MULTIDISCIPLINARES DE ANÁLISIS EN LA UAM

La Universidad Autónoma de Madrid, a través del Servicio Interdepartamental de Investigación, agrupa un conjunto de infraestructuras científicas que están agrupadas en ocho unidades en función de sus principios técnicos o campos de laboratorios, los cuales poseen instrumentos de elevada complejidad técnica y que pueden ser y son utilizadas por distintas disciplinas y ramas científicas en las labores de investigación. Las citadas Unidades de análisis son las siguientes: 1) Análisis Elemental. 2) Rayos X. 3) Espectrometría de Masas. 4) Microscopia. 5) Espectroscopia Molecular. 6) Cromatografía. 7) Citometría de Flujo. 8) Análisis Térmico.

En este número de *Encuentros Multidisciplinares* se inicia una descripción de estas Unidades de análisis con proyección multidisciplinar, con el fin de divulgar este tipo de infraestructuras en relación con potenciales trabajos de investigación en distintas disciplinas y ramas del conocimiento.

### I. UNIDAD DE ANÁLISIS ELEMENTAL

Esta Unidad de Análisis posee tres Laboratorios:

#### 1. Laboratorio de Fluorescencia de Rayos X por Reflexión Total (TXRF)

##### a) *Introducción:*

La TXRF es una técnica micro analítica muy versátil, capaz de evaluar cualitativa y/o cuantitativamente cantidades de muestra muy pequeñas, del orden de microgramos o microlitos, depositadas sobre un portamuestras especial. Los límites de detección en masa depositada para la gran mayoría de los elementos analizables es de pocos picogramos.

##### b) *Principios de la Técnica:*

Los átomos presentes en la muestra analizada son excitados de modo que los electrones de las capas internas son arrancados o promocionados a niveles de energía superiores. Los electrones de otras capas minimizan su energía ocupando los huecos electrónicos que quedan libres, de modo que la energía asociada a dichas transiciones se re-emiten en forma de fotones de rayos X. A estas emisiones se las conoce como emisiones de fluorescencia o radiación secundaria y presentan unas energías características del átomo que las genera y una intensidad que depende directamente de la concentración de dichos átomos en la muestra.

El resultado es un espectro de dispersión de energía, donde aparecen simultáneamente todas las líneas asociadas a los elementos químicos presentes. Analizando la posición de los máximos de intensidad, se identifican los elementos presentes (análisis cualitativo), integrando cada uno de los perfiles elementales se obtienen sus proporciones másicas (análisis de proporciones másicas) y añadiendo un elemento patrón de concentración conocida se obtiene la cuantificación de dichos elementos (análisis cuantitativo). Mediante la técnica de TXRF, se pueden analizar muestras líquidas y sólidas, previa molienda y suspensión o digestión ácida. No presenta efectos de matriz ni de memoria. Por otra parte, la TXRF es una técnica microanalítica en la que las cantidades de muestra necesarias para realizar un análisis cualitativo o de proporciones másicas se encuentra en el orden de los

microlitros ( $\mu\text{L}$ ) para líquidos y de los microgramos ( $\mu\text{g}$ ) para sólidos. Mediante el uso de esta técnica es posible analizar, cualitativa y cuantitativamente, 75 elementos comprendidos entre el Si ( $Z=14$ ) y el U ( $Z=92$ ) tanto a nivel de mayoritarios (% wt) como de elementos traza (ppb) dentro de un rango dinámico de 105.

*c) Aplicaciones multidisciplinarias:*

- Análisis medioambiental: aguas, sedimentos, suelos, aerosoles, filtros.
- Análisis de materiales: aleaciones, catalizadores, cerámicas, nanopartículas, nuevos materiales, etc.
- Análisis forenses: análisis de micromuestras en cualquier tipo de matriz.
- Análisis Biológicos: tejidos, fluidos, plantas, cultivos.
- Análisis Industrial: pinturas, gasolinas, aceites, cables, vinos, cementos, etc.
- Análisis Arqueológicos: cerámicas, huesos, metales, etc.
- Control de Calidad: seguimiento de procesos a nivel composicional.

*d) Tipos de ensayos:*

- Análisis Cualitativo en muestras líquidas y/o sólidas.
- Análisis de Proporciones Mássicas en muestras sólidas o líquidas.
- Análisis Cuantitativo en muestras líquidas de forma directa y en muestras sólidas mediante digestión ácida por microondas.
- Análisis Cuantitativo mediante Sólido Directo de muestras sólidas previa optimización de sus condiciones de suspensión.

*e) Normas de funcionamiento:*

- Las muestras sólidas se deben presentar altamente molidas (Diámetro inferior a 10 micras). Las muestras líquidas deben de estar recién preparadas y deben ser transportadas en viales adecuados, según los requisitos de la muestra.
- Las muestras deben ir acompañadas de la solicitud de ensayo generada en @LIMS. El usuario debe rellenar todos los campos de la solicitud de ensayo que conozca, con objeto de obtener el mejor resultado posible.
- Debe rellenarse una solicitud por cada lote de muestras con características similares.
- Si el estudio a realizar presenta dificultades técnicas o analíticas fuera de lo común, se recomienda ponerse en contacto con el laboratorio antes de enviar las muestras, en el teléfono 914978581.

## **2. Laboratorio de Espectrometría de Masas con Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-MS)**

*a) Introducción:*

A día de hoy, la Espectrometría de Masas con Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-MS) constituye la técnica analítica de mayor potencialidad para la determinación de elementos traza y sus isótopos en todo tipo de matrices en disolución. Mediante esta técnica se pueden analizar todos los elementos de la Tabla Periódica excepto H, He, C, N, O, F, Ne, Cl, S, I, Br y gases nobles en general.

*b) Principios de la Técnica:*

La muestra líquida a analizar, es transformada en un fino aerosol que es dirigido hacia la antorcha donde se ha generado un plasma de Ar cuya temperatura llega a alcanzar los 10.000K. La muestra es sometida a procesos, tales como: desolvatación, vaporización, atomización e ionización. Los iones generados pasan al espectrómetro de masas a través de una interfase de acondicionamiento, son focalizados y dirigidos hacia el analizador, normalmente tipo cuadrupolo, donde son separados según su relación masa/carga ( $m/z$ ). Como la mayoría de ellos poseen carga positiva, pueden ser separados según su masa (isótopos).

Principales características de la técnica:

- Límite de detección: partes por trillón (ppt o ng/l) para la mayoría de los elementos.

- Rango dinámico lineal: 8-9 órdenes de magnitud (ng/l-mg/l).
- Posibilidad de análisis multielemental semicuantitativo y cuantitativo.
- Precisión en análisis semicuantitativo < 30% y en análisis cuantitativo < 5%.

*c) Aplicaciones multidisciplinarias:*

- Aplicaciones medioambientales (plantas, aguas, suelos, sedimentos, residuos).
- Control de calidad de fármacos.
- Aplicaciones biológicas (tejidos, plasma).
- Ciencias de Materiales y Metalurgia.
- Geoquímica.

*d) Tipos de ensayos:*

- Análisis semicuantitativo multielemental (hasta 72 elementos): ofrece una estimación de la concentración de los elementos presentes en la muestra. Determina qué elementos son mayoritarios, minoritarios o trazas.
- Análisis cuantitativo del elemento o elementos de interés.

En el caso de que la muestra sea sólida, existe la posibilidad de realizar tratamientos previos tanto en vaso abierto como en horno microondas.

*e) Normas de funcionamiento:*

Las muestras sólidas se deben presentar secas y molidas. Las muestras líquidas deben estar recién preparadas y transportadas en recipientes adecuados. En el caso de presentar muestras digeridas hay que acompañarlas del blanco correspondiente.

Las muestras deben ir acompañadas de la solicitud de ensayo generada en WEBLIMS. El usuario debe rellenar todos los campos de la solicitud de ensayo que conozca, con objeto de obtener el mejor resultado posible.

Debe rellenarse una solicitud por cada lote de muestras con características similares. Si el estudio a realizar presenta dificultades técnicas o analíticas fuera de lo común, se recomienda ponerse en contacto con el laboratorio antes de enviar las muestras.

### **3. Laboratorio de Análisis Químico Elemental**

*a) Introducción:*

Esta técnica permite, el análisis de forma rápida y simultánea, del contenido total de Carbono, Hidrógeno, Nitrógeno y Azufre presentes en compuestos orgánicos e inorgánicos, tanto en estado sólido como líquido.

*b) Principios de la Técnica:*

El microanálisis o Análisis Químico Elemental (AQE) se basa en la oxidación total de la muestra mediante una combustión instantánea y completa. Los productos de de la combustión: CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, N<sub>2</sub> y SO<sub>2</sub>, son arrastrados por un gas portador (Helio) hasta sensores individuales y selectivos de dichos productos por celdas de infrarrojos. Estos sensores aseguran una medición rápida y libre de interferencias al instante que se produce la combustión. Posteriormente, los gases son eliminados para medir el Nitrógeno por termoconductividad diferencial.

*c) Aplicaciones multidisciplinarias:*

- Determinación de la composición y confirmación de la fórmula empírica de un compuesto orgánico.
- Evaluación de la pureza y homogeneidad de las muestras

- Control de calidad de compuestos empleados en la industria (fármacos, compuestos orgánicos e inorgánicos, compuestos organometálicos, polímeros, vidrios, cosméticos, aceites, combustibles, entre otros).
- Aplicaciones medioambientales, mediante la determinación de C, H, N y S en plantas, suelos, fertilizantes, aguas.
- Aplicación en la Industria agroalimentaria, mediante la evaluación composicional de alimentos y productos derivados de la agricultura

*d) Tipos de ensayos:*

- Determinación simultánea del porcentaje en Carbono, Hidrógeno, Nitrógeno y Azufre.
- Determinación individual de Carbono, Hidrógeno, Nitrógeno y Azufre.

*e) Normas de funcionamiento:*

*Condiciones generales y específicas de las muestras*

- Deben estar secas para desechar los errores debidos a la presencia de disolventes y/o humedad
- Tienen que estar lo más homogéneas posible y, en el caso de muestras sólidas, bien molidas o trituradas para facilitar su combustión
- No deben contener mercurio

*Solicitud de los análisis*

- La solicitud de ensayo que acompaña a las muestras, es generada en @LIMS

-----

## **II. UNIDAD DE RAYOS X**

Esta Unidad de Análisis posee tres Laboratorios:

### **1. Laboratorio de Difracción de Rayos X de Monocristal**

*a) Introducción:*

La difracción de rayos X de monocristal es una técnica instrumental no destructiva para la determinación de estructuras cristalinas, que alcanza resolución atómica.

*b) Principios de la Técnica:*

Se trata de una de las técnicas más precisas y completas para caracterizar cualquier tipo de sustancia, independientemente de su composición química.

La difracción de rayos X de monocristal es un método cristalográfico para la determinación de estructuras a nivel atómico. Cuando el haz de rayos X incide sobre la muestra cristalina se produce el fenómeno de difracción debido a que la longitud de onda de esta radiación es del mismo orden de magnitud que las distancias interatómicas. Las intensidades y posiciones de los rayos difractados nos permiten obtener el mapa tridimensional de densidades electrónicas de la muestra después del tratamiento matemático de los datos recogidos. A partir de este mapa se infiere un modelo atómico que posteriormente debe ser comparado con los datos experimentales y refinado hasta que se alcancen unos buenos factores de acuerdo y se conozca con la mayor precisión posible tanto la naturaleza como la posición de los átomos que componen el sólido cristalino analizado.

Como requisito para el análisis es necesario contar con una muestra monocristalina de tamaño adecuado (al menos 0,2-0,4 mm en dos de sus tres dimensiones, dependiendo de su composición química y morfología). La información que se obtiene se refiere únicamente al monocristal analizado pero puede no ser representativo de toda la muestra en el caso de que ésta sea heterogénea.

*c) Aplicaciones multidisciplinarias:*

En las áreas de Investigación Química, Bioquímica y Farmacéutica, así como en Ciencia de Materiales, resulta una técnica muy útil ya que permite conocer tanto la estequiometría de los compuestos como la disposición de los átomos en el sólido. La resolución de la estructura de un sólido a nivel atómico supone un método de caracterización inequívoco para nuevos compuestos y puede explicar las propiedades físicas y químicas de nuevos materiales.

Algunas de sus aplicaciones son:

- Investigación Química (estudio de nuevas sustancias).
- Control de Calidad.
- Ciencia de Materiales.
- Industria Química.
- Industria Farmacéutica.
- Biotecnología.

*d) Tipos de ensayos:*

- Resolución estructural de sustancias moleculares, iónicas y polímeros.
- Determinación de la configuración absoluta (isómeros).
- Estudio de la cristalinidad de muestras (biológicas, químicas, geológicas, etc).
- Identificación de fases cristalinas conocidas.

*e) Normas de funcionamiento:*

Es recomendable traer la muestra antes de abrir la solicitud para someterla a una evaluación previa por parte del personal del laboratorio.

- Forma de solicitar los análisis:

Las muestras deben ir acompañadas de la solicitud de ensayo generada en @LIMS. El usuario debe rellenar todos los campos de la solicitud de ensayo que conozca.

Debe rellenarse una solicitud por cada muestra entregada; si el estudio a realizar presenta dificultades técnicas o analíticas fuera de lo común, se recomienda ponerse en contacto con el laboratorio antes de enviar las muestras.

El plazo de entrega de los resultados dependerá de la duración y características del experimento solicitado, así como de la demanda del Servicio.

## **2. Laboratorio de Difracción de Rayos X de Alta Resolución (HRXRD)**

*a) Introducción:*

La Difracción de Rayos X de Alta Resolución (HRXRD) se basa en la medida de la dirección de los fotones de rayos X incidentes y difractados, así como la optimización de la monocromaticidad de su energía, con una resolución angular muy alta. De esta manera, la técnica permite caracterizar adecuadamente parámetros morfológicos y estructurales en capas epitaxiales, multicapas y superficies monocristalinas.

*b) Principios de la Técnica:*

El fenómeno de la difracción ocurre siempre que una onda encuentra un conjunto de objetos regularmente espaciados. La longitud de onda ( $\lambda$ ) de la radiación incidente debe ser del mismo orden de magnitud que la distancia entre los objetos. La difracción es debida fundamentalmente a la existencia de ciertas relaciones de fase entre 2 o más ondas, que provienen de la diferencia de camino recorrido por dichas ondas y que a su vez implican un cambio en la amplitud de las ondas difractadas. Las direcciones de difracción están determinadas por la ley de Bragg  $n\lambda=2d \text{ Sen}\theta$  y por tanto sólo dependen de la estructura cristalina y el tamaño de la celda unidad del cristal, por lo que midiendo las

direcciones de los haces difractados por un cristal, sólo podemos conocer el aspecto y tamaño de la celda unidad.

*c) Aplicaciones multidisciplinarias:*

La difracción de Rayos X es una técnica de caracterización muy útil, que nos proporciona una información estructural muy detallada de estructuras epitaxiales. Es una técnica no destructiva, analiza grandes áreas de la muestra hasta una penetración del orden de 10 mm, pero al mismo tiempo nos da información a escala atómica. Usando HRXRD se pueden obtener espectros de difracción de estructuras periódicas (multicapas).

Se pueden hacer simulaciones con gran detalle, y comparar lo que se intentaba crecer con lo que realmente se ha crecido, por lo que nos da un mejor entendimiento del método de crecimiento en sí mismo.

Actualmente se está usando el equipo de HRXRD para estudiar el modo de crecimiento y la perfección estructural en muestras de GaAs, GaSb, LiNbO<sub>3</sub>, superredes de InGaAs/GaAs, etc.

*d) Tipos de ensayos:*

1. Estudio de la Orientación en superficies monocristalinas de nuevos materiales.
2. Estudio de Calidad cristalina en superficies monocristalinas de nuevos materiales.
3. Caracterización estructural y morfológica de capas epitaxiales y multicapas:
  - Espesores
  - Parámetros de red
  - Tensiones
  - Defectos
  - Tamaño de dominio cristalino.

*e) Normas de funcionamiento:*

Forma de solicitar los análisis: Las muestras deben ir acompañadas de la solicitud de ensayo generada en @LIMS. El usuario debe rellenar todos los campos de la solicitud de ensayo que conozca, con objeto de obtener el mejor resultado posible.

Debe rellenarse una solicitud por cada muestra entregada, salvo en el caso de que las muestras sean muy similares y el experimento solicitado sea el mismo para todas las muestras. Si el estudio a realizar presenta dificultades técnicas o analíticas fuera de lo común, se recomienda ponerse en contacto con el laboratorio antes de enviar las muestras.

### **3. Laboratorio de Difracción de Rayos X Policristal**

*a) Introducción:*

La difracción de rayos X de Policristal es una técnica de caracterización estructural para materiales que presenten cierto grado de cristalinidad. Permite identificar las fases cristalinas presentes en muestras sólidas de naturaleza cristalina y abordar el estudio de ciertos parámetros cristalográficos.

*b) Principios de la Técnica:*

La difracción de rayos de policristal está basada en las interferencias constructivas cuando incide un haz de rayos x sobre una muestra, con una longitud de onda del orden de las distancias interatómicas del sólido que se quiera estudiar.

La ley que rige la difracción de rayos X es la ley de Bragg,  $n\lambda=2d \text{ sen}\theta$ , siendo “d” el espaciado entre planos de las redes cristalinas, estando íntimamente relacionado con los ángulos de difracción.

Para que exista un máximo de difracción tiene que cumplirse que la diferencia entre las trayectorias de las ondas difractadas sea un número entero de veces la longitud de onda ( $n\lambda$ ).

A partir de un difractograma de polvo, se pueden estudiar parámetros cristalográficos como el tamaño de cristal y el parámetro de red y haciendo uso del método de Rietveld junto con una buena calidad del difractograma y los conocimientos adecuados de cristalografía se podría llegar a resolver la estructura de un sólido policristalino y realizar un análisis cuantitativo de fases.

Con las bases de datos cristalográficas se puede llevar a cabo una identificación de fases cristalinas presentes en las muestras. La base de datos con la que trabaja el laboratorio de DRX Policristal del SIDI es la PDF-4+ de la ICDD.

*c) Aplicaciones multidisciplinarias:*

- Ciencia de Materiales: cerámicas, semiconductores, cementos, polímeros, catalizadores, etc.
- Geología y Petrografía.
- Mineralogía.
- Control de Calidad.
- Estudio de láminas delgadas.
- Productos farmacéuticos.

*d) Tipos de ensayos:*

- *Barrido  $\theta/2\theta$* , óptimo para analizar muestras policristalinas que se presentan en polvo o puedan molerse. Es conveniente hacer este tipo de ensayo cuando se quieran determinar parámetros cristalográficos como son el espaciado entre planos, el tamaño de cristal y el parámetro de red, así como llevar a cabo, en caso de que sea posible una resolución estructural o análisis cuantitativo por el Método Rietveld.
- *Barrido  $\theta/2\theta$  con temperatura*, óptimo para muestras en polvo en las que se quiera hacer un estudio de las transiciones de fases cristalinas presentes en una muestra o el comportamiento de las mismas con la temperatura.
- *Ensayo de incidencia rasante*, óptimo para caracterizar la superficie de láminas delgadas y diferenciar entre diferentes capas o espesores en una muestra.

Los tres tipos de barridos son óptimos para identificar las fases cristalinas presentes.

*e) Normas de funcionamiento:*

*Presentación de las muestras*

La presentación de la muestra variará según su naturaleza:

- **Caso estándar.** La muestra será reducida a polvo, siendo el tamaño óptimo entre 5 y 20 micras (no es requisito indispensable para abordar el análisis).
- Si la muestra es un sólido sin opción a ser molido (caso de una pieza metálica o algunos minerales o rocas), debe presentar una superficie ligeramente plana.
- Para el análisis y caracterización de láminas delgadas, las muestras deberán cumplir las mismas condiciones que el caso anterior.
- Las muestras que se vayan a analizar en la cámara de temperatura tienen que presentarse en polvo o poder molerse. El usuario se hace responsable de cualquier deterioro que pudiese ocasionar el tratamiento de su muestra con la temperatura en relación con la contaminación de la cámara así como con el deterioro del porta de alúmina cristalina donde se deposita la muestra, por interacción de la misma con el porta. Hay que asegurarse de que la muestra no funda. Se aconseja trabajar con vacío o alto vacío en caso de dudas para evitar cualquier deterioro o contaminación.

El laboratorio dispone de diferentes portas para medir cantidades de muestra desde una punta de espátula hasta cientos de miligramos. Siempre es aconsejable disponer de gran cantidad de la misma para tener mayor estadística de cristales. En caso de duda, contactar con el laboratorio.

-----

### III. UNIDAD DE ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Esta Unidad de Análisis posee dos Laboratorios:

#### 1. Laboratorio de Isótopos Estables

##### *a) Introducción:*

Se denomina “isótopos” a las diversas formas de un elemento químico que se diferencian en el número de neutrones de su núcleo y, por tanto, en su masa atómica. Es común asociar el término “isótopo” a los nucleidos radiactivos, sin embargo los isótopos estables, los que no se descomponen con el tiempo, son los más abundantes en la naturaleza. Su empleo como herramienta analítica resolutive se esta extendiendo a numerosos campos científico-técnicos.

##### *b) Principios de la Técnica:*

La técnica analítica más habitual para la determinación de relaciones isotópicas de elementos ligeros es la espectrometría de masas de relaciones isotópicas (en inglés IRMS, Isotope Ratio Mass Spectrometry). Es frecuente asociar el término “isótopo” a los nucleidos radiactivos, sin embargo, los isótopos estables, aquellos que no se desintegran con el tiempo, son los más abundantes en la naturaleza. El análisis de las relaciones isotópicas, tanto en rangos de abundancia natural como mediante la adición de trazadores, ha demostrado ser una herramienta muy útil en numerosas áreas científico-técnicas.

Los isótopos estables más estudiados son los correspondientes a los elementos ligeros (hidrógeno, carbono, nitrógeno y oxígeno), que son precisamente los mayoritarios en la naturaleza. Estos elementos se caracterizan por presentar las mayores variaciones naturales en sus relaciones isotópicas como consecuencia de ser los que sufren los mayores fraccionamientos isotópicos en una amplia gama de procesos físico-químicos. En muchas ocasiones el análisis de estas relaciones isotópicas abre la posibilidad de diferenciar materiales o compuestos que no son distinguibles desde el punto de vista químico.

Una variante de esta técnica es el empleo de los denominados trazadores isotópicos. Se trata de compuestos enriquecidos artificialmente en el isótopo pesado que se añaden a un sistema con objeto de facilitar su estudio. El hecho de que el comportamiento físico-químico de las formas isotópicas sea tan similar los convierte en trazadores ideales. Además, la dificultad en la gestión de los isótopos radiactivos así como el hecho de que algunos elementos ligeros no presenten isótopos radiactivos naturales (caso del nitrógeno), está favoreciendo el uso de los isótopos estables como trazadores.

##### *c) Aplicaciones multidisciplinarias:*

El Laboratorio de Isótopos Estables de la UAM fue uno de los primeros de nuestro país en poner en operación un IRMS, comenzando a dar servicio analítico en el año 1992. Durante sus años de funcionamiento el laboratorio ha procesado más de setenta mil muestras procedentes tanto de organismos públicos como de empresas privadas.

Los análisis llevados a cabo sobre muestras de matrices muy variadas han hecho necesaria la puesta a punto de numerosas metodologías tanto en su vertiente isotópica como en la elemental. Esta actividad ha proporcionado al laboratorio la experiencia suficiente para, en muchos casos, poder



establecer nuevos procedimientos analíticos a medida de las necesidades concretas de los usuarios, así como poder proporcionarles asesoramiento científico específico.

La tipología de muestras más habituales en el laboratorio así como sus principales aplicaciones pueden resumirse en los siguientes campos:

- **BIOLOGÍA Y ECOLOGÍA:**  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  en tejidos animales y vegetales. Determinación de redes tróficas.
- **AGRONOMIA**
- **VETERINARIA Y PRODUCCIÓN ANIMAL:**  $\delta^{15}\text{N}$  en piensos, extractos ruminales, tejido animal, etc. (estudios metabólicos, mejora de piensos, etc.). % D en fluidos animales (det. del contenido de agua corporal).
- **HIDROGEOLOGÍA:**  $\delta\text{D}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$  en aguas y especies disueltas. Identificación de zonas y tasas de recarga de acuíferos, flujos profundos, caracterización de lluvias, origen de sales, fuentes contaminantes, etc.
- **MINERALOGÍA Y PETROLOGÍA:**  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  en carbonatos (mineralogénesis, evolución edáfica).  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  en materia orgánica en sedimentos y caracterizaciones de petróleos y derivados (génesis, origen de contaminantes).
- **PALEOCLIMATOLOGÍA:**  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  en espeleotemas, travertinos y conchas marinas y terrestres (estudios de cambios climáticos y paleoambientes).
- **ARQUEOLOGÍA:**  $\delta^{13}\text{C}$  en colágeno de huesos animales y humanos (estudio de paleodietas y migraciones). Composición de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  en conchas marinas y huesos fosilizados
- **MEDIO AMBIENTE:** Estudios isotópicos de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  en petróleos y derivados y en  $\text{CO}_2$  atmosférico (caracterización, identificación de fuentes contaminantes).  $\delta\text{D}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  en contaminantes de aguas (identificación de fuentes contaminantes).
- **CALIDAD ALIMENTARIA:** Mediante la caracterización del producto y su comparación con las composiciones isotópicas naturales (adición de agua o azúcar a zumos).  $\delta^{13}\text{C}$  en mieles (fracción total y proteica para identificar posibles azúcares exógenos).
- **CAMBIO CLIMÁTICO**
- **GEOQUÍMICA**
- **CARACTERIZACIÓN ISOTÓPICA DE SUSTANCIAS ORGÁNICAS E INORGÁNICAS**

Además de estas aplicaciones, los isótopos estables juegan un importante papel en otras áreas, entre las que cabrían destacar las siguientes:

- **ANÁLISIS CLÍNICOS:** Empleo de trazadores estables, principalmente  $^{13}\text{C}$ , en estudios metabólicos (de grasas, hidratos de carbono...). Identificación de enfermedades infecciosas (*Helicobacter Pylori* causante de úlcera gastroduodenal) y metabólicas (mal absorción de proteínas, etc.).
- **CIENCIAS FORENSES:** Detección del origen natural o sintético de drogas de abuso (cocaína), administración de sustancias dopantes en deportistas (testosterona exógena), determinación del origen (fábrica) de explosivos, etc.

Puede encontrarse un compendio actualizado de aplicaciones isotópicas en el libro: "Técnicas y aplicaciones multidisciplinares de los isótopos ambientales". P. Alcorlo, R. Redondo y J. Toledo (Eds.), Colección Cuadernos de Apoyo, 22, Ediciones Universidad Autónoma de Madrid, 2008. 399 páginas.

*d) Tipos de ensayos:*

- $\delta\text{D}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  en aguas.
- $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  en carbonatos.
- $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  (abundancia natural o enriquecimiento).
- $\delta\text{D}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  en materia orgánica.
- $\delta\text{D}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  en muestras gaseosas.
- Análisis elemental de C, H, N, S (complementario).

*e) Normas de funcionamiento:*

- Las muestras deben ir acompañadas de la solicitud de ensayo generada en @LIMS. El usuario debe rellenar todos los campos de la solicitud de ensayo que conozca, con objeto de facilitar el proceso analítico y obtener el mejor resultado posible.
- El laboratorio, dependiendo del trabajo a realizar, suele entregar los resultados analíticos en un plazo comprendido entre dos y diez semanas.
- La cantidad de muestra mínima que el usuario debe entregar para poder llevar a cabo el análisis (incluyendo la realización de repeticiones) se encuentra en los siguientes órdenes:

<b>DETERMINACIÓN</b>	<b>CANTIDAD DE MUESTRA</b>
d D (agua)	1 ml
d <sup>18</sup> O (agua)	1 ml
d <sup>13</sup> C y d <sup>18</sup> O (carbonatos)	5 mg de carbonato
d <sup>13</sup> C y d <sup>15</sup> N (abundancia natural o enriquecimiento)	2 mg del elemento
d D, d <sup>13</sup> C y d <sup>15</sup> N (muestras gaseosas)	Consultar
Análisis elemental (complementario)	2 mg del elemento

En aquellos casos en que se disponga de poca cantidad de muestra o en los que se desconozca su composición química, se recomienda consultar previamente al laboratorio la viabilidad del análisis y las condiciones específicas. Para cualquier ampliación de esta información no duden en ponerse en contacto con el Laboratorio de Isótopos Estables.

## 2. Laboratorio de Espectrometría de Masas

### *a) Introducción:*

La técnica de espectrometría de masas es una herramienta para la elucidación estructural de moléculas a través de la determinación de sus masas moleculares y de las masas de algunos fragmentos característicos de su estructura.

### *b) Principios de la Técnica:*

Mediante el análisis por Espectrometría de Masas se puede obtener información relativa a la masa molecular del compuesto analizado así como información estructural del mismo. Esta técnica, que ha experimentado un gran desarrollo tecnológico en los últimos años, permite estudiar compuestos de naturaleza diversa: orgánica, inorgánica o biológica y obtener información tanto cualitativa como cuantitativa de ellos. Para tal fin es necesario ionizar las moléculas y obtener los iones formados en fase gaseosa. Este proceso tiene lugar en una fuente de ionización y actualmente, existen diferentes técnicas que permiten llevarlo a cabo, tales como:

- Ionización electrónica (EI)
- Bombardeo con átomos rápidos (FAB)
- Ionización Química a Presión Atmosférica (APCI)
- Desorción/Ionización por Láser Asistida por Matriz (MALDI)
- Electrospray (ESI)

Los iones así generados son acelerados hacia un analizador y separados en función de su relación masa/carga ( $m/z$  o masa/nº de cargas del ión) mediante la aplicación de campos eléctricos, magnéticos o simplemente determinando el tiempo de llegada a un detector. Los iones que llegan al detector producen una señal eléctrica que es procesada, ampliada y enviada a un ordenador. El registro que se obtiene se denomina Espectro de Masas y representa las abundancias iónicas de los fragmentos e ion molecular generados, respecto a su relación masa/carga.

### *c) Aplicaciones multidisciplinarias:*

- Elucidación estructural de compuestos orgánicos, organometálicos y metabolitos
- Análisis de polímeros y dendrímeros

- Determinación de impurezas y contaminantes orgánicos
- Análisis de mezclas de distinta procedencia (extractos naturales, ambientales, caracterización de productos de síntesis...)
- Seguimiento de reacciones de síntesis, detección de intermedios de reacción
- Estudios de complejos supramoleculares

*d) Tipos de ensayos:*

Los ensayos que se realizan son: registros de iones en intervalos de masa determinados, ensayos de determinación de masa exacta y estudios de fragmentación.

Existen diferentes ensayos en función de la técnica de ionización:

- Ensayo mediante EI (Ionización electrónica)
- Ensayo mediante FAB ( Fast Atom Bombardement)
- Ensayo mediante MALDI (MatrixAssisted Laser Desorption )
- Ensayo mediante Electrospray
- Determinación de masa exacta
- Estudios de fragmentación selectiva

*e) Normas de funcionamiento:*

- La muestra debe ir claramente identificada, de forma indeleble con una referencia que debe ser la misma que conste en la solicitud de ensayo.
- La muestra se entregará principalmente sin disolver e indicando la cantidad que se aporta (generalmente 1 mg es suficiente), es recomendable pesarla puesto que para algunos ensayos la concentración es crítica.
- La pureza de la muestra es determinante para obtener un buen resultado, especialmente en los ensayos de determinación de masa exacta, para evitar interferencias.
- Los disolventes volátiles son los más adecuados. En caso de muestras insolubles las técnicas de ionización que se pueden aplicar son más reducidas
- Cuando la muestra sea inestable es necesario ponerse en contacto con el laboratorio para establecer las condiciones del análisis de la misma.

-----