

**NOMBRE DEL SERVICIO**

Servicio de Análisis Químico
de Muestras de Agua y
Sedimentología

**NOMBRE,
Y MODELO DE LA
INFRAESTRUCTURA**

Sistemas Bruker GCMS
SCION TQ Y LCMS
EVOQ TQ. Sistema de
cromatografía gaseosa/líquida
y espectrometría de masas en
tándem (GC/LC-MS-MS).

RESPONSABLE

Pablo Lara Martín

UBICACIÓN

Laboratorio Húmedo I
CACYTMAR - Ed. Institutos
de Investigación. Planta baja
Campus de Puerto Real
(11510) Puerto Real, Cádiz

DESCRIPCIÓN DE LA INFRAESTRUCTURA

Sistema de cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem
Plan Nacional Científica, Desarrollo en Innovación Tecnológica 2008-
2011 cofinanciada con FEDER.

**SERVICIOS QUE SE OFERTAN ACTUALMENTE Y POSIBLES
APLICACIONES EN OTROS CAMPOS**

Análisis de contaminantes orgánicos en muestras acuosas y sólidas (suelo,
sedimento, biota, etc.). Actualmente se dispone de métodos para el
análisis de diversas familias de compuestos: tensioactivos, hidrocarburos,
pesticidas, fármacos, fragancias, disruptores endocrinos, filtros solares y
otros contaminantes prioritarios. Cabe la posibilidad de poner a punto
métodos para compuestos orgánicos concretos, siempre que estén en
un rango de peso molecular entre 100 y 1000 Da (el sistema no es
válido para grandes moléculas tales como proteínas). Ver protocolo de
uso para más información.

PROPUESTA DE TARIFAS DE USO SEGÚN REGLAMENTO (en euros)

PRECIOS POR MUESTRA Y FAMILIA DE COMPUESTOS A ANALIZAR:

MUESTRAS ACUOSAS	TARIFA A	TARIFA B	TARIFA C
MUESTRA TRATADA	10	15	20
MUESTRA QUE REQUIERE PRETRATAMIENTO	40	60	80
RECTA DE CALIBRADO (6 PUNTOS)	50	75	100
DESARROLLO DE MÉTODO	A CONVENIR SEGÚN COMPUESTOS		

MUESTRAS SÓLIDAS

MUESTRA TRATADA	10	15	20
MUESTRA QUE REQUIERE PRETRATAMIENTO	60	80	120
RECTA DE CALIBRADO (6 PUNTOS)	50	75	100
DESARROLLO DE MÉTODO	A CONVENIR SEGÚN COMPUESTOS		

Vicerrectorado de Investigación
Universidad de Cádiz

ES NECESARIO PARA SU USO UN TÉCNICO DISPONE DE TÉCNICO

☒ SÍ
☐ NO

☒ SÍ
☐ NO

OBSERVACIONES

Para la utilización del equipo es crítico el pretratamiento de la muestra con el fin de evitar averías y obtener resultados óptimos. Se debe hablar con el responsable del equipo antes de solicitar el servicio para discutir la mejor manera de realizar el pretratamiento (el cual también se puede contratar; ver cuadro de tarifas, si no se dispone del equipamiento necesario). Si no se dispone de patrones para analizar el compuesto a determinar el interesado deberá comprar previamente un patrón para poder calibrar el equipo y buscar las condiciones óptimas para el pretratamiento de la muestra y análisis posterior mediante espectrometría de masas.

PROTOCOLO DE USO

La preparación de muestras previa a la inyección en sistemas de cromatografía – espectrometría de masas es fundamental tanto para la obtención de resultados óptimos y reproducibles como para un adecuado funcionamiento y preservación de los equipos. Por este motivo, cualquier usuario que desee utilizar este servicio debe contactar previamente con el responsable científico del mismo con el fin de estudiar el mejor modo de procesar las muestras antes de su análisis. Como regla general, el protocolo de extracción y purificación de muestras incluye las siguientes etapas:

- **MUESTRAS ACUOSAS:**

a) Si se trata de muestras de agua dulce o similares y los compuestos a analizar están a concentraciones típicamente superiores a 1-10 ppb, se puede proceder a la inyección de las mismas directamente en el sistema LC-MS previa filtración a través de 0.22 micras. En cualquier caso, se debería optimizar previamente parámetros tales como la ionización del compuesto/s y su separación mediante cromatografía líquida (disolventes, flujo y tipo de columna cromatográfica). Para ello, el usuario debería suministrar patrones de referencia si el servicio no dispone de ellos.

b) En cualquier otro caso, ya se trate de muestras de aguas marinas, agua residual o similares destinadas al sistema LC-MS, muestras de agua dulce con compuestos a analizar a concentraciones menores de 1-10 ppb, o de cualquier tipo de muestra de agua destinada al sistema GC-MS, se requiere una eliminación de sales y otras interferencias. Para ello existen diversas técnicas de purificación y preconcentración, incluyendo extracción líquido-líquido, extracción en fase sólida (SPE) o técnicas de microextracción (ej.: SPME, SBSE), así como el sistema de preconcentración on-line (OLE) del propio sistema LC-MS. Se debe consultar con

el responsable científico sobre las posibilidades y mejor forma de llevar a cabo este tratamiento. En cualquier caso, y una vez realizado, todas las muestras deben ser filtradas a través de 0.22 micras antes de proceder a su inyección.

- **MUESTRAS SÓLIDAS:** los sistemas GC-MS y LC-MS sólo permiten introducción de muestras líquidas, por lo cual se debe proceder a realizar una extracción previa con disolventes de las muestras sólidas. Para ello existen diversas técnicas de extracción tales como Soxhlet, ultrasonidos, extracción con líquidos presurizados (PLE), etc. Una vez realizada dicha extracción, los extractos resultantes deberán ser sometidos a técnicas de purificación y preconcentración similares a las ya comentadas anteriormente para las muestras acuosas. Finalmente, todas las muestras deberán ser filtradas a través de 0.22 micras antes de proceder a su inyección. Se debe consultar con el responsable científico sobre las posibilidades y mejor forma de llevar a cabo este tratamiento.

Una vez preparadas las muestras de forma correcta, se han de optimizar las condiciones para el análisis de compuestos mediante los sistemas GC-MS y LC-MS. En primer lugar, se debe optimizar la cromatografía, ya sea gaseosa o líquida, utilizando para ello tanto las columnas como los flujos y disolventes apropiados. En cuanto a la parte de espectrometría de masas, se debe conocer o estudiar previamente el mejor modo de ionización del compuesto de entre los disponibles: EI (GC-MS), ESI +/- (LC-MS) o APCI +/- (LC-MS). Estos equipos permiten trabajar en los siguientes modos en función de los objetivos a conseguir:

- **MODO FULL-SCAN:** es el modo de menos sensibilidad, en el cual se registra la señal de todos los compuestos en un rango de relaciones masa/carga (m/z) predeterminado (típicamente entre 50 y 1000). Ideal para la identificación de compuestos desconocidos, especialmente si se usa el sistema GC-MS, ya que dispone de la librería de espectros NIST 11 con cientos de compuestos de referencia. También se utiliza para trabajar a altas concentraciones (ppm) y en la primera etapa del desarrollo de métodos analíticos (MRM).

- **MODO SIM:** similar al anterior, pero con mayor sensibilidad (ppb-ppm), los equipos registran tan sólo las señales de aquellos compuestos específicos que se desea analizar, no un rango de masas como en el caso anterior. No se recomienda su utilización ya que generalmente el modo MRM (ver posteriormente) logra muchos mejores resultados.

- **MODO IONES PRODUCTO:** los compuestos a analizar se ionizan y fragmentan, registrándose que fragmentos se han creado. Ideal para la identificación y elucidación estructural de compuestos desconocidos, ya que el patrón de fragmentación suele ser específico para cada sustancia. También se utiliza en la segunda etapa del desarrollo de métodos analíticos (MRM).

- **MODO IONES PRECURSORES:** contrario al anterior, se selecciona un fragmento conocido de una familia de compuestos y el equipo registra todos los compuestos que presentan ese fragmento. Ideal para la identificación de productos de degradación si presentan un patrón de fragmentación similar al compuesto original.

• **Modo MRM:** es el modo standard en el que trabajan los equipos triple cuadrupolo. Requiere previa optimización (modos full-scan e iones producto) para seleccionar fragmentos específicos de los compuestos a analizar. Se consigue la mayor sensibilidad (ppt-ppb) y especificidad en el análisis.

La utilización, limpieza y mantenimiento de los equipos GC-MS y LC-MS es una tarea compleja que requiere meses de entrenamiento, por lo que sólo el personal técnico a cargo de los mismos, así como aquel designado por el responsable científico, podrán ejecutarla. El servicio, dentro de sus posibilidades, contará con el material necesario (patrones, viales, columnas, disolventes, etc.) para llevar a cabo el análisis de las muestras y, si fuera necesario, su tratamiento previo. El usuario deberá consultar con el responsable científico sobre la labor que quiere realizar para discutir la mejor estrategia a seguir y deberá suministrar la cantidad requerida de muestra. A modo orientativo, generalmente es suficiente con 100-500 mL de muestra acuosa y 1-10 g de muestra sólida. Se le entregará, una vez realizado el análisis, toda la información registrada en los equipos GC-MS y LC-MS (concentraciones por muestra, cromatogramas, espectros de masa, rectas de calibrado, etc.) en la forma en que lo requiera para su mejor aprovechamiento.

El precio por muestra dependerá del tipo de análisis a realizar; así como la institución de la que procedan las muestras. Actualmente se dispone de métodos puestos a punto para el análisis de un amplio grupo de contaminantes orgánicos, incluyendo las siguientes familias:

- | | |
|--|---|
| - Hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) | - Tensioactivos catiónicos |
| - Pesticidas organoclorados | - Fragancias sintéticas |
| - Pesticidas organofosforados | - Filtros solares |
| - Pesticidas triazinas | - Hormonas y disruptores endocrinos |
| - Pesticidas carbamatos | - Antibióticos |
| - Pesticidas piretroides | - Analgésicos y antiinflamatorios |
| - Bifenilos policlorados (PCBs) | - Reguladores lipídicos y antihipertensivos |
| - Tensioactivos aniónicos | - Otros fármacos |
| - Tensioactivos no iónicos | |

Se pueden distinguir varios casos, en función de una serie de variables tales como el tipo de muestra y pretratamiento de la misma, número de compuestos a analizar; existencia de un método puesto a punto previamente o no, etc. Las tarifas se recogen en las siguientes tablas, donde se muestran 3 categorías.