

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 continúa con la 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 ramas del conocimiento. En este caso se describen las Unidades de Espectroscopia Molecular y Cromatografía.

V. UNIDAD DE ESPECTROSCOPIA MOLECULAR

Esta Unidad de Análisis posee tres Laboratorios:

1. Laboratorio de Espectroscopia de Infrarrojos por Transformada de Fourier (FTIR)

a) *Introducción:*

La espectroscopia de infrarrojos (IR) se basa en el estudio de la interacción de la radiación electromagnética, en el rango infrarrojo del espectro, con la materia.

b) *Principios de la Técnica:*

Dependiendo del rango de energía de la radiación que sea utilizada, la interacción con el material será de diferente naturaleza. Al absorber la radiación infrarroja las moléculas pueden cambiar su estado de energía vibracional y rotacional. En el caso de muestras gaseosas sólo es posible observar las transiciones entre estados rotacionales que requieren muy poca energía. En el caso de muestras sólidas y líquidas, sólo se tienen en cuenta los cambios entre estados de energía vibracional lo que hace posible la caracterización de los principales grupos funcionales de la estructura molecular del compuesto. Desde el punto de vista funcional y de sus aplicaciones la zona del espectro IR se divide en tres: IR lejano, IR medio e IR cercano. En nuestro laboratorio el rango espectral de medida accesible con el equipo disponible abarca de 7.000 a 20 cm^{-1} , (IR medio y lejano).

c) *Aplicaciones multidisciplinarias:*

Esta técnica es de gran ayuda para la caracterización de grupos funcionales y de estructuras de materiales, así como para el estudio de superficies sólidas, superficies pulidas, estudio de películas depositadas sobre una gran variedad de superficies, líquidos, sólidos en polvo, etc.

Algunas de sus aplicaciones serían:

- Agronomía
- Medio ambiente
- Ecología
- Caracterización estructural de material
- Arqueología
- Industria farmacéutica y farmacología
- Caracterización de productos de síntesis
- Química Analítica y Física
- Industria química
- Hidrogeología
- Petrología y Geoquímica
- Mineralogía
- Patrimonio histórico

d) Tipos de ensayos:

Medidas en Transmitancia y Reflectancia Especular:

- Rangos:
 - 7 000 a 550 cm^{-1} .
 - 550 a 50 cm^{-1} .
 - 200 a 20 cm^{-1} .

Medidas en Reflectancia Difusa:

- Rangos:
 - 7 000 a 550 cm^{-1} .

Medidas en Reflectancia Total Atenuada (ATR), de reflexiones múltiples:

- Cristal de ZnSe, rango: 4 000 a 600 cm^{-1} .
- Cristal de Ge, rango: 4 000 a 850 cm^{-1} .

e) Normas de funcionamiento:

- *Condiciones generales y específicas de las muestras*

Los productos a analizar no tienen que contener ningún resto de disolvente por posible contaminación del sistema óptico del equipo al trabajar en vacío.

- *Solicitud de los análisis*

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

2. Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear

a) Introducción:

Mediante la Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) es posible estudiar el comportamiento de núcleos atómicos con spin nuclear distinto de cero en presencia de un campo magnético externo. La información que se obtiene está relacionada con la estructura molecular del compuesto.

b) Principios de la Técnica:

La aplicación de un campo magnético externo sobre una muestra produce el desdoblamiento de los niveles degenerados de energía del spin nuclear, de modo que pueden inducirse transiciones entre ellos como consecuencia de la absorción de la radiación electromagnética adecuada. La disposición de los niveles de energía es una propiedad tanto de los núcleos de una molécula como de su entorno electrónico y de las interacciones entre ambos. Por ello, la intensidad, forma y posición de las señales obtenidas en el espectro de un núcleo determinado, están relacionadas con su estructura molecular. El análisis detallado del espectro de RMN proporciona información acerca de la estructura del compuesto que lo origina. Así, esta técnica resulta ser de las más eficientes y útiles para el estudio de la estructura y dinámica de moléculas en disolución.

Los núcleos analizables más habituales son ^1H y ^{13}C . También se pueden medir todos los núcleos activos a la técnica, que resuenen en las frecuencias comprendidas en el rango de ^{31}P - ^{109}Ag , como por ejemplo: ^{31}P , ^{195}Pt , ^{11}B , ^{119}Sn , ^{77}Se , ^{113}Cd , ^{199}Hg , ^{207}Pb y otros.

c) Aplicaciones multidisciplinarias:

Esta técnica se utiliza para el estudio de la estructura y dinámica de compuestos orgánicos, organometálicos y biomoléculas en disolución.

Algunas de sus principales aplicaciones son:

- Identificación estructural de compuestos de síntesis o aislados de medios de distinta naturaleza.
- Confirmación de estructuras.
- Identificación de compuestos.
- Estudios de composición de mezclas de distintas procedencias: extractos biológicos, metabolitos, productos alimenticios, etc.
- Determinación de pureza, cuantificación.
- Movilidad molecular: determinación de conformaciones en disolución.
- Seguimiento de procesos, reacciones, cinéticas.
- Estudios de procesos de asociación.
- Estudios a alta y baja temperatura.
- Determinación de exceso enantiomérico.

d) Tipos de ensayos:

Espectros monodimensionales:

- ^1H : adquisición normal, experimentos de doble resonancia y de NOE 1D-selectivo
- ^{13}C : adquisición de espectros acoplados/desacoplados de ^1H , experimentos DEPT
- Otros heteronucleos: ^{11}B , ^{27}Al , ^{19}F , ^{29}Si , ^{31}P , ^{113}Cd , ^{119}Sn , ^{195}Pt , etc.

Experimentos bidimensionales:

- Correlación homonuclear: COSY, TOCSY, NOESY, ROESY.
- Correlación heteronuclear: HMQC, HSQC, HMBC.

e) Normas de funcionamiento:

Condiciones generales y específicas de las muestras

Las muestras a analizar deben ser preparadas previamente en el tubo de RMN por el propio interesado. La cantidad de muestra necesaria para realizar espectros de ^1H es de unos 5-10 mg. En otros casos dependerá del tipo de experimento a realizar (consultar con el laboratorio en caso de duda).

Las muestras deben llegar a la recepción del SIDI perfectamente identificadas con una referencia que coincida exactamente con la que se indica en la solicitud de ensayo. Además debe indicarse el disolvente utilizado y el usuario solicitante. Para la identificación pueden utilizarse estas etiquetas (ver área de descargas más abajo).

Cuando sea necesario, en el Servicio se pueden preparar las disoluciones, para lo cual deberá entregarse, en un frasco de vidrio tapado y debidamente identificado, la cantidad de muestra suficiente para efectuar el registro correspondiente. Antes de entregar la muestra, el interesado deberá asegurarse de que la cantidad de producto entregado es soluble en 0.6 mL del disolvente deuterado que se indique en la ficha. La preparación de estas muestras se limitará exclusivamente a la disolución de los productos en el disolvente deuterado indicado por el usuario, sin tratamientos ni condiciones especiales. Los disolventes deuterados disponibles en el Servicio, y cuyo importe no está incluido en el precio del experimento, son: Acetona- d_6 , Benceno- d_6 , DMSO- d_6 , Acetonitrilo- d_3 , Cloroformo- d , D_2O , Tetracloroetano- d_2 , Diclorometano- d_2 , Metanol- d_4

Cuando se entreguen muestras cuya manipulación exija guardar precauciones especiales debido a su inestabilidad, alta toxicidad, inflamabilidad, alta volatilidad, riesgo biológico, etc, estas características deberán indicarse expresamente en la ficha o parte de solicitud.

Preparación de muestras de RMN

Disolvente

- Se debe elegir un disolvente en el que la muestra sea suficientemente soluble y que se ajuste a las condiciones de temperatura a las que se va a llevar a cabo el experimento.(ver Tabla)
- Conviene conocer las señales propias del disolvente elegido, así como las de las impurezas comunes asociadas (agua, residuos de disolvente no deuterado) y tenerlas en cuenta a la hora de posibles solapamientos con las señales del producto a estudiar. Todos los disolventes deuterados, incluido el D₂O, deben almacenarse en un desecador ya que son muy higroscópicos
- Las muestras deben disolverse en un volumen aproximado de 0,6 ml (equivalentes a 3,5-4 cm de altura de disolvente)

Disolventes deuterados mas comunes	(d) ¹ H	(d) ¹³ (C)	d H ₂ O (HOD)	mp (°C)	bp (°C)
Acido Acetico-d4	11.65, 2.04	179.0, 20.0	11.65	17	118
Acetona-d6	2.05	206.7, 29.9	2.8	-94.5	55
Acetonitrilo-d3	1.94	118.7, 1.39	2.1	-42	79
Benceno-d6	7.16	128.4	0.4	6.7	79
Cloroformo-d	7.26	77.2	1.6	-64	60.3
Dimetil Sulfoxido-d6	2.50	39.5	3.3	20.2	189
Metanol-d4	4.87, 3.31	49.1	4.8	-98.8	65
Diclorometano-d2	5.32	54.0	1.5	-96	39
Piridina-d5	8.74, 7.58, 7.22	150.3, 135.9, 123.9	4.9	-41	114
Agua deuterada (D ₂ O)	4.8		4.8	3.8	101.1
Acido Trifluoroacético-d	11.5	164.4, 116.5	11.5	-15.2	72.4
Tolueno-d8	7.09, 7.0, 6.98, 2.3	137.5, 128.9, 128.0, 125.2, 20.4	0.4	-84.4	109
Tetracloroetano-d4	5.91	74.2		-36	146

Tubo

- Utilizar tubos para experimentos de alta resolución y adecuados al campo/equipo en que se va a trabajar y a las condiciones de temperatura a las que se pueda someter.
- Utilizar tubos que estén en óptimas condiciones de uso. Cuando el estado del tubo implique algún tipo de riesgo en su manipulación debido a la presencia de bordes cortantes, o tapones que no ajustan debidamente o cuando la longitud del tubo o el volumen de disolvente sean insuficientes, serán devueltos a los usuarios para que preparen la muestra de manera más apropiada.
- La longitud mínima del tubo debe ser de 15 cm y no deben llevar etiquetas o pegatinas en esta sección.
- Limpiar los tubos nuevos antes de usarlos por primera vez, ya que pueden tener restos de grasa o impurezas.
- Al limpiar los tubos hay que tener la precaución de no rayarlos y de no utilizar reactivos que puedan atacar al vidrio o que lleven impurezas paramagnéticas difíciles de eliminar (p.e. mezcla crómica).
- Los tubos no se deben exponer a altas temperaturas (p.e. durante el secado) ya que pueden perder sus propiedades de homogeneidad y/o concentricidad.

Muestra

- Cantidad mínima de muestra:

¹H 1-10 mg

¹³C >20 mg

otros núcleos/experimentos consultar

Las disoluciones deben ser claras, sin residuos sólidos, con una concentración homogénea.

- Conviene filtrar siempre las disoluciones antes de introducirlas en el tubo.

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.
- En una misma Solicitud pueden incluirse una o varias muestras y, en cada una de ellas, uno o varios experimentos siempre que se vayan a realizar en el mismo equipo (AMX-300 ó DRX-500). Los resultados se entregarán una vez finalizados todos los experimentos solicitados.
- Si el estudio a realizar presenta dificultades técnicas o analíticas fuera de lo común o el producto es poco estable, se recomienda ponerse en contacto con el laboratorio antes de enviar o preparar dichas muestras.

Entrega de los resultados

- El plazo de entrega de los resultados dependerá de la duración y características del experimento solicitado.
- En la aplicación @LIMS se adjuntan los datos de RMN a las solicitudes de manera que cada usuario puede acceder a los resultados de sus muestras. Para ello, hay que entrar nuevamente en la solicitud, una vez que haya sido completada y cerrada por el laboratorio. A la derecha del todo, en las casillas sombreadas en gris, en la casilla con encabezado "Resultados Parciales. A rellenar por SIdI", aparecerá el fichero correspondiente a los datos de la muestra (en formato zip, por ser un directorio). Al pinchar sobre este fichero, se podrá descargar en vuestro ordenador.

3. Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear en Estado Sólido

a) Introducción:

La Resonancia Magnética Nuclear (RMN) en Sólidos, al igual que la aplicada a moléculas en disolución, estudia el comportamiento de los núcleos atómicos con spin diferente de cero bajo la influencia de un campo magnético externo.

b) Principios de la Técnica:

A diferencia de los espectros que se registran para moléculas en disolución, en estado sólido, donde la movilidad de los átomos y moléculas se encuentra muy restringida, los espectros que se obtienen muestran señales anchas que son el resultado de la suma de las señales procedentes de todas las posibles orientaciones de spines. Cada núcleo, dependiendo de la orientación relativa de las moléculas, puede ser afectado por el campo magnético externo, por los campos creados por núcleos cercanos y por la distribución electrónica. Los espectros de RMN en sólidos proporcionan información única acerca de la estructura y la dinámica de los materiales objeto de estudio. Las principales interacciones responsables del ensanchamiento de las señales son la anisotropía del desplazamiento químico, los acoplamientos dipolares (homo y heteronucleares) y el acoplamiento cuadrupolar. Se han desarrollado técnicas que permitan obtener espectros de alta resolución conservando en lo posible la información que aportan estas interacciones: giro con ángulo mágico (MAS, Magic Angle Spinning), polarización cruzada (CP, Cross Polarization) o secuencias multipulso específicas para sólidos (CRAMPS, Combined Rotation and Multiple Pulse Spectroscopy).

c) Aplicaciones multidisciplinarias:

- Análisis farmacéuticos: estudio de polimorfos.
- Análisis de materiales: minerales, vidrios, cerámicas, semiconductores, metales y aleaciones.
- Aplicaciones ambientales y arqueológicas: huesos, maderas, celulosas, suelos.
- Análisis de sólidos microporosos y mesoporosos, (Ej: zeolitas, aluminosilicatos, fosfatos).
- Análisis de complejos orgánicos e inorgánicos.

d) *Tipos de ensayos:*

- Realización de espectros 1D (MAS, hpdec, CP-MAS...) y 2D (INADEQUATE, postC7, HETCOR, MQMAS...) de núcleos con $\text{spin}=1/2$ y $\text{spin}>1/2$.

e) *Normas de funcionamiento:*

Condiciones generales y específicas de las muestras

Las muestras deben enviarse debidamente identificadas con una referencia.

Preferentemente, el sólido debe ser reducido a un polvo homogéneo.

La cantidad de muestra necesaria para el análisis varía en función de la sonda que se use:

- Para la sonda de 4 mm se precisan en torno a 50 mg de producto (es necesario rellenar un volumen de aprox. 40ml).
- Con la sonda de 2,5 mm, cuyo rotor tiene un volumen en torno a 10 ml, entre 10 y 20 mg de producto puede ser suficiente.

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.

VI. UNIDAD DE CROMATOGRAFÍA

Esta Unidad de Análisis posee dos Laboratorios:

1. Laboratorio de Cromatografía

a) *Introducción:*

La Cromatografía es una de las principales técnicas analíticas de separación de distintas especies químicas en una mezcla y es capaz de proporcionar información cualitativa y cuantitativa sobre su composición. Las especies separadas se pueden caracterizar empleando los detectores apropiados.

b) *Principios de la Técnica:*

La cromatografía es, esencialmente, un método físico de separación, en el cual los componentes a separar se distribuyen en dos fases: la fase estacionaria, de gran área superficial y la fase móvil que se hace pasar continuamente a lo largo de la fase estacionaria. Los procesos cromatográficos tienen lugar como resultado de repetidas adsorciones y desorciones durante el movimiento de los componentes de la muestra a lo largo de la fase estacionaria, alcanzándose la separación de los mismos en función de sus coeficientes de distribución.

En cromatografía la fase móvil es un gas o un líquido. Esta particularidad es la que clasifica a la técnica en dos principales categorías: Cromatografía de gases y Cromatografía líquida (HPLC). La cromatografía de gases es el método idóneo para la separación de las sustancias volátiles y térmicamente estables. Este campo de aplicación involucra un enorme número de sustancias orgánicas y organometálicas así como gases permanentes, lo cual convierte a la técnica en una de las más versátiles y potentes. Su principal limitación es la estabilidad térmica de los componentes de la mezcla o de la propia matriz; en este caso así como para compuestos con puntos de ebullición superiores a unos 400 °C, la mejor alternativa es la Cromatografía Líquida.

c) *Aplicaciones multidisciplinarias:*

- Industria farmacéutica.
- Medio ambiente.
- Contaminantes orgánicos.
- Química analítica.

- Química orgánica.
- Bioquímica.
- Industria alimentaria.
- Control de calidad.

d) Tipos de ensayos:

- Determinación de contaminantes orgánicos.
- Determinación e identificación de compuestos biológicos.
- Análisis y cuantificación de fármacos.
- Separación e identificación de compuestos orgánicos.
- Separación e identificación de azúcares, nucleótidos, ácidos orgánicos, hormonas, etc.
- Desarrollo y puesta a punto de métodos cromatográficos tanto de gases como de HPLC para la determinación de distintos analitos.

e) Normas de funcionamiento:

- Forma de solicitar los análisis

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. Para más información ver Funcionamiento SIDI

- Entrega de los resultados

El plazo de entrega de los resultados dependerá de la duración y características del experimento. Podrán ser entregados en persona, por fax o por correo. Los resultados de los análisis cuantitativos también podrán ser enviados por e-mail

2. Laboratorio de Cromatografía Iónica

a) Introducción:

La Cromatografía Iónica es una variante de la Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC). Es un método eficaz para la separación y determinación de iones, basado en el uso de resinas de intercambio iónico.

b) Principios de la Técnica:

Este método se centra en la separación y determinación de iones (y moléculas polares), basándose en el uso de columnas de intercambio iónico. Estas columnas retienen en mayor o menor grado a los analitos en función de sus interacciones iónicas (polaridades). La superficie de la fase estacionaria presenta grupos funcionales de carácter iónico que interaccionan con los iones de carga opuesta presentes en la disolución. Cada analito es eluido de la columna con diferente tiempo de retención, parámetro que permite su identificación cualitativa. Existe una amplia gama de detectores (conductimétrico, amperométrico, UV, etc) donde se registra la señal obtenida respecto al tiempo. El resultado es un cromatograma donde la posición de los máximos indica el ión presente (análisis cualitativo) y el área corresponde a su concentración en la disolución (análisis cuantitativo).

Este tipo de cromatografía se subdivide en cromatografía de intercambio catiónico y cromatografía de intercambio aniónico, siendo esta última la que presenta mayores aplicaciones.

c) Aplicaciones multidisciplinarias:

Análisis de aguas.
 Medio ambiente.
 Control de calidad de productos químicos.
 Industria alimentaria.
 Industria farmacéutica.

Industria energética.

d) Tipos de ensayos:

- Análisis de Cationes (Li^+ , Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}) en matrices acuosas.
- Análisis de Aniones (F^- , Cl^- , NO_2^- , Br^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-}) en matrices acuosas.
- Moléculas orgánicas polares (consultar con el laboratorio).

e) Normas de funcionamiento:

- Las muestras líquidas deben estar recién preparadas y deben ser transportadas en viales adecuados, según los requisitos de la muestra. La matriz líquida debe ser de naturaleza totalmente acuosa.
- Las muestras sólidas deben ser fácilmente solubles en agua, sin precisar la realización de procesos especiales de digestión.
- Las muestras deben ir acompañadas de la correspondiente solicitud de ensayo generada en la aplicación @LIMS. El usuario debe rellenar todos los campos de la solicitud de ensayo que conozca, con objeto de concretar los ensayos necesarios y alcanzar 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 91 497 48 98.
