

# Revolución en la espectrometría atómica analítica al comienzo del milenio:

## ¿Fotones o iones, átomos o moléculas?

### I. EVOLUCIÓN Y SELECCIÓN NATURAL DE LAS TÉCNICAS DE ANÁLISIS.-

Como en la evolución de las especies biológicas, parece que las técnicas de análisis que sobreviven (triumfan) son aquellas que, tras adecuados mecanismos de "recombinación" o incluso "mutaciones", son capaces de evolucionar adecuadamente para adaptarse a las presiones del ambiente exterior cambiante. Dichas presiones que fuerzan el cambio (la evolución) pueden provenir de la simple curiosidad científica o, mucho más frecuentemente, de las necesidades de información química que la ciencia, la tecnología o la legislación (e.g. medioambiental) modernas están demandando de forma creciente. La "selección natural", con las reglas de supervivencia de los más fuertes, parecen operar también en la evolución de las técnicas analíticas en el tiempo: solo unas pocas técnicas, las más robustas (en clara contraposición a la pléthora de técnicas desarrolladas y que se publican en la bibliografía científica) sobreviven. Una vez instaladas son difíciles de desplazar, pero, a largo plazo pueden surgir "mutaciones", totalmente nuevas, que (repitiendo el proceso, si son técnicas robustas y resuelven favorablemente los problemas) pueden pasar a "técnicas de rutina" en los nuevos tiempos.

Desde luego, las presiones que fuerzan el continuo cambio pueden ser puramente científicas, pero hoy día casi siempre van ligadas a cuestiones aplicadas, buscando resolver problemas concretos. Esas fuerzas impulsan la investigación analítica



**Alfredo Sanz-Medel**

Departamento de Química Física y Analítica. Universidad de Oviedo.

C/ Julián Clavería 8,  
33006, Oviedo, Spain  
[ASM@correo.uniovi.es](mailto:ASM@correo.uniovi.es)

actual. Esta investigación constituye, lógicamente, la base misma de cualquier "evolución" analítica haciendo posible que aparezcan "recombinaciones" de técnicas, más o menos predecibles, o incluso auténticas "mutaciones" (no tan predecibles, al examinar la historia de la instrumentación analítica de los últimos cincuenta años).

Es curiosa la forma en que una determinada instrumentación se impone y acaba estableciéndose como "caballo de batalla" en los laboratorios analíticos. Existen una serie de etapas que parecen repetirse en todos los casos: primero, se demuestra que un principio químico-físico de medida podría ser útil para el análisis; segundo, se produce una investigación generalizada sobre dicho fenómeno para caracterizarlo y entenderlo al máximo; tercero, con el conocimiento adquirido se desarrollan ya "instrumentos" de medida cada vez más perfeccionados.

La disponibilidad de tales "instrumentos" en el mercado es primordial para hacer posible el triunfo final de una técnica dada. Como señaló Dawson (1) una técnica triunfa en el mercado cuando es "oportuna"; es decir, la presión de una necesidad real da lugar a la

investigación del fenómeno, al aumento del conocimiento básico del mismo y a la construcción del "instrumento" correspondiente, pero esos pasos deben coincidir en el tiempo; es decir, debe existir una tecnología avanzada que haga posible ese instrumento que no hubiera podido construirse una o dos décadas antes (con las prestaciones deseadas). Además deberíamos añadir que "oportuna" debe producirse el interés de una compañía, convencida de que vale la pena invertir en desarrollar y construir el instrumento porque su comercialización constituirá un "buen negocio". Aquí la oportunidad, es decir el hecho de que diversas circunstancias ocurran al mismo tiempo en el momento justo, es nuevamente un aspecto decisivo. No hay duda de que la prueba final del éxito de una "recombinación" o una "mutación" analítica es su comercialización, un paso imprescindible para su aceptación en los laboratorios de todo el mundo. Por ejemplo, el ICP-MS constituye una herramienta poderosa del análisis, que se inventó hace más de veinte años (2); sin embargo, su crecimiento extraordinario en el último lustro se puede entender solo gracias a su comercialización en 1983, que hizo posible su aceptación gradual en los laboratorios del mundo.

Hoy más que nunca, el éxito de una "recombinación" o una "mutación" analítica dada está muy ligado a factores económicos. El económico es un factor clave de la evolución y selección natural de las técnicas de éxito. Igualmente, técnicas robustas y bien establecidas con anterioridad pueden convertirse en "especies en peligro de extinción" porque su tiem-

po ha pasado y ya no son tan rentables. Por eso, en un intento de valorar objetivamente la importancia de la Espectrometría Atómica, en el conjunto del Análisis Instrumental, conviene utilizar indicadores económicos que pueden ser muy reveladores de dicha importancia relativa.

Según Mermet (3) el mercado mundial de la instrumentación química podría estimarse en torno a los 13.200 millones de dólares anuales (estimación del año 1998), de los cuales el 9-10 % corresponde a análisis elemental por técnicas atómicas. Esto representa la bonita cifra de más de 1.000 millones de dólares en todo el mundo, gastados cada año en técnicas atómicas (sobre todo en los "caballos de batalla" de la Espectrometría Atómica que veremos después). Sin duda la evolución con el tiempo de la Espectrometría Atómica ha sido muy notable hasta adueñarse, casi de forma total, del análisis elemental inorgánico en la actualidad. Pero esto se ha conseguido gracias a "mutaciones" (por ejemplo la introducción de los Plasmas de Acoplamiento Inductivo, ICP, en los años 70) y a "recombinaciones" revolucionarias de tecnologías desarrolladas previamente (el ICP-MS en los años 80) que parecen asegurar un futuro brillante a la Espectrometría Atómica en análisis elemental inorgánico. Es decir, a mis ojos, la evolución analítica parece seguir pautas típicas de las bacterias y demás organismos vivos (4) que evolucionan, pero siempre manteniendo parte de la información genética desarrollada con anterioridad: el conocimiento básico y las tecnologías ya adquiridos deben estar disponibles para facilitar "recombinaciones" favorables y quizás promover finalmente alguna "mutación" (e.g. con parte de conocimientos provenientes de otros campos) de las técnicas analíticas bien establecidas pero que ya no son capaces de acomodarse a las nuevas demandas del mercado.

Por eso es interesante revisar primero cuales son las virtudes de las técnicas atómicas de rutina de

hoy (que las hicieron convertirse en los caballos de batalla del análisis elemental inorgánico). En general, dichos caballos de batalla están basados en el uso de los fotones interaccionantes con la materia a analizar. Sin embargo, sus "debilidades" a la hora de la rápida evolución moderna han posibilitado la aparición de técnicas atómicas de medida directa de iones atómicos, base de las técnicas de MS "inorgánicas" (que revisaremos más tarde).

Por otro lado, desde la perspectiva general de la Química Analítica en su conjunto, los métodos atómicos solo representan en torno al 10% de todas las determinaciones analíticas. Es decir, la información atómica o elemental sigue siendo demandada pero mucho más debe serlo la información molecular. Los cambios de la Espectrometría Atómica, tratando de evolucionar en esta dirección durante la última década, son particularmente evidentes. El esfuerzo que se está llevando a cabo para utilizar técnicas atómicas capaces de proporcionar información molecular (vía desarrollo de técnicas "híbridas" de "especiación") es enorme (5).

En resumen, parece que al comienzo del tercer milenio se detecta una evolución tan acelerada y tan profunda de la Espectrometría Atómica que es aconsejable una revisión detallada de su historia de los últi-

mos cincuenta años.

## II. LOS "CABALLOS DE BATALLA" DEL ANÁLISIS ELEMENTAL INORGÁNICO ACTUAL

Los análisis elementales inorgánicos en los laboratorios de rutina de hoy se llevan a cabo principalmente utilizando técnicas atómicas basadas en "fotones" (es decir, en medidas de la interacción entre los fotones de la radiación electromagnética adecuada y la materia a analizar) y se pueden distinguir dos grandes grupos de técnicas (problemas): las de muestra disuelta y las de análisis directo de sólidos.

### Técnicas de análisis de muestras disueltas.-

Seguramente los "caballos de batalla" que soportan hoy la mayoría del análisis de rutina de muestras disueltas son: la Absorción Atómica (AAS) en sus dos vertientes, de Llama y de Horno de Grafito (ET-AAS, "electrothermal-atomic absorption spectrometry") y la Emisión Atómica con plasma (ICP, "inductively coupled plasma"- OES, "optical emission spectrometry").

Los desarrollos instrumentales y las nuevas aplicaciones que siguieron a la comercialización generalizada de la AAS de Llama en los sesenta y del ICP-OES en los ochenta han

Tabla 1		
Ventajas y limitaciones de las técnicas atómicas de rutina en análisis inorgánico de muestras disueltas		
Llama-AAS	Horno-AAS	ICP-OES
	<b>Ventajas</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- La más popular/conocida</li> <li>- Sencilla, barata y fiable</li> <li>- Pocas interferencias</li> <li>- Una excelente solución de problemas para pequeños laboratorios</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- LDs bajos (ppb, <math>\mu\text{g.L}^{-1}</math>)</li> <li>- Muy adecuada para impurezas</li> <li>- Análisis de micromuestras (<math>\mu\text{L}</math>)</li> <li>- Muy útil en elementos traza en Biomedicina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Multielemental</li> <li>- Alta T de atomización</li> <li>- Pocas interferencias químicas (matriz)</li> <li>- No tiene problemas de refractarios</li> </ul>
	<b>Limitaciones</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Uni-elemento</li> <li>- LDs elevados (ppm, <math>\text{mg.L}^{-1}</math>)</li> <li>- Baja temperatura (compuestos refractarios)</li> <li>- No sirve para análisis de no-metales</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Uni-elemento</li> <li>- Operación discontinua y lenta</li> <li>- Formación de carburos</li> <li>- No sirve para análisis de no-metales</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Interferencias espectrales</li> <li>- Más cara</li> <li>- LDs moderados (entre <math>\text{mg-}\mu\text{g.L}^{-1}</math>)</li> <li>- Limitada para análisis de no-metales</li> </ul>

LDs: Límites de detección

sido profundos y de amplia repercusión analítica. Como resultado del esfuerzo investigador realizado, el conocimiento actual de estas técnicas es del suficiente calado como para prever que con gran probabilidad no se producirán ya grandes avances o desarrollos espectaculares en/con ellas. Sus características de funcionamiento analítico son ya bien conocidas y la **Tabla 1** muestra las ventajas y limitaciones, de forma comparativa, de estas tres técnicas de rutina tan populares hoy en el análisis de muestras disueltas.

Asumiendo el riesgo de generalizar en exceso, podríamos decir que la AAS de llama domina el panorama en los pequeños laboratorios y cuando es preciso analizar un

pequeño número de analitos a niveles de ppm ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Cuando se necesita mayor sensibilidad (e.g. ppb:  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) la técnica de elección es la AAS con Horno de Grafito. En este momento, para análisis multielemental simultáneo en muestras disueltas, sin embargo, parece que es el ICP-OES la técnica a elegir (6), incluso considerando que la adquisición del instrumento y su mantenimiento son mucho más caros que para AAS. Como se ve en la **Fig. 1** el mercado mundial para ICP-OES a principios del año 2000 era de unos 200 millones de dólares USA (7) con un claro incremento sostenido de las ventas, al principio del milenio. Entre tanto, otros plasmas que se habían comercializado veinte años atrás, p.e. el DCP-OES,

se "extinguieron" y ya no se fabrican.

### Técnicas de análisis directo de sólidos.-

El rápido crecimiento de las técnicas de plasma ICP (**Fig. 1**) podría oscurecer el hecho real de que el montante económico del mercado actual para análisis directo de sólidos es todavía del mismo orden que el de muestras disueltas, según Mermet (3). La Espectrometría de Emisión por Chispa y la Fluorescencia de Rayos X son, todavía hoy, excelentes técnicas de rutina que juegan un papel primordial en el control analítico rutinario de sólidos. No tienen rival realmente a la hora del control analítico rápido de procesos industriales, de productos acabados o de las materias primas (e.g. cementeras, acerías o industrias metalúrgicas en general). Particularmente interesante es la tendencia actual de fabricar instrumentos de Rayos X pequeños, transportables para el análisis "in-situ" del material sólido deseado.

Desde luego, las dos técnicas de rutina de sólidos están tan bien establecidas (8) que, nuevamente, es difícil esperar grandes avances o desarrollos. Sin embargo, existe una importante actividad investigadora en otras direcciones que conviene citar aquí: particularmente el empleo de un láser o de una descarga luminiscente como fuentes espectroquímicas para conseguir la vaporización y con ello el "muestreo" directo desde el sólido. Técnicas como LIBS ("Laser Induced Breakdown Spectroscopy") o bien GD-OES ("Glow Discharge-Optical Emission Spectrometry") están haciéndose cada vez más populares y podrían llegar a ser (con detectores de fotones o de iones y tal vez acopladas a fuentes de plasma) los futuros "caballos de batalla" para el análisis elemental de sólidos de muchos laboratorios.

### III. IONES FRENTA A FOTONES.-

El clásico instrumento original de la Espectrometría Atómica (**Figura 2**) se construyó para medir la interacción entre los átomos a analizar

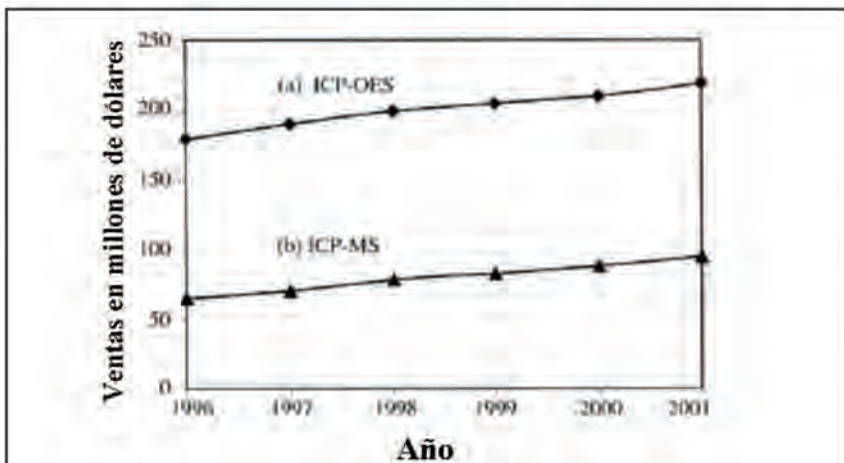


Figura 1: El mercado actual de los plasmas analíticos: ventas de ICPs a) Emisión Atómica; b) Espectrometría de Masas (fuente: Ref. 7)

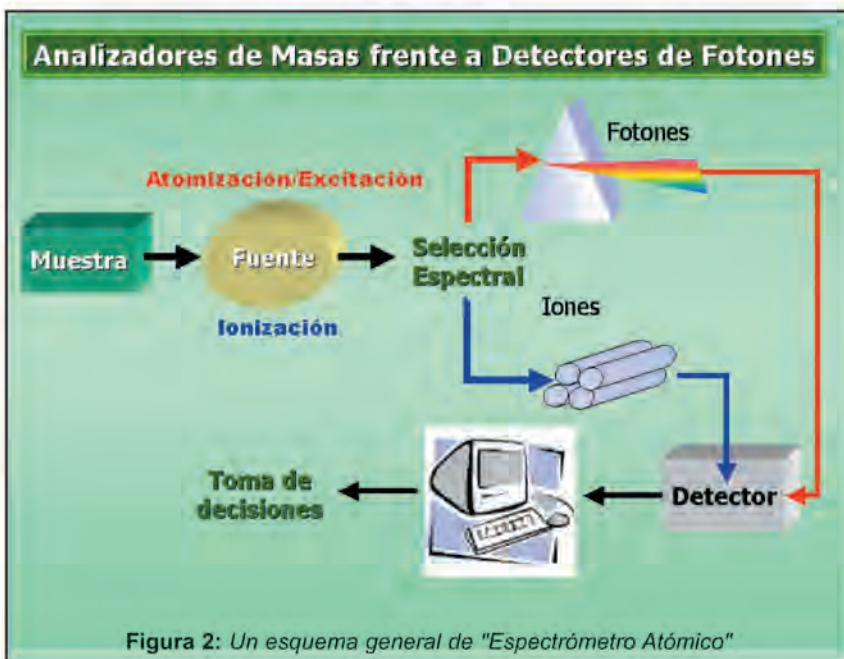


Figura 2: Un esquema general de "Espectrómetro Atómico"

(ubicados en la fuente o atomizador) y los fotones de luz VIS-UV interaccionante con ellos.

En un sistema típico de emisión atómica, la muestra es atomizada y los átomos se excitan por la alta temperatura en la "fuente espectroquímica". Los fotones resultantes emitidos se separan según sus frecuencias (p.e. mediante un prisma o una red de difracción) y se detectan (e.g. mediante un fotomultiplicador). De este modo, los "espectros" obtenidos al "analizar" las frecuencias resultantes, de los fotones VIS-UV de la interacción, proporcionan la información, cuali y cuantitativa, requerida para llevar a cabo el análisis elemental inorgánico buscado. Bajo tal perspectiva, la detección de fotones VIS-UV era un punto (un componente básico del espectrómetro) crucial de las técnicas, imponiéndose el fotomultiplicador como el "transductor" o detector VIS-UV por excelencia. Particularmente en análisis multielemental simultáneo por emisión, donde la fuente espectroquímica de plasma ICP no tiene ya rival, existe una investigación muy activa ensayando el potencial analítico de otros detectores de VIS-UV de estado sólido, en lugar del fotomultiplicador (p.e. el empleo de los "Charge Coupled Devices", CCDs y "Charge Injection Devices", CIDs, se está extendiendo como sistemas de análisis multielemental simultáneo en ICP-OES a nivel de instrumentación de rutina, pero de grandes prestaciones analíticas (9)). Además, se investiga sobre nuevas formas de observar el plasma para incrementar la sensibilidad del ICP-OES, se incorporan nuevos "softwares" para el complejo tratamiento de datos o se ensayan nuevos accesorios para introducir las muestras en el ICP (láseres (10) y en menor medida chispas, generación de especies volátiles (11), etc.).

Hoy no se puede negar que el ICP-OES se ha convertido (veinte años después de su comercialización a escala mundial) en una técnica madura y reconocida desde hace tiempo ya (6) como la más potente y útil en el análisis multielemental simultáneo "de rutina", particular-

mente a nivel de control multielemental en procesos industriales. Precisamente esta dura competición del ICP-OES supuso un claro estancamiento del desarrollo de las técnicas de AAS (hoy en franco "retroceso" en cuanto a su presencia como sujetos de la investigación analítica mundial). Sin embargo, la "evolución" continúa y el que nació como un "hermano" del ICP-OES, el ICP-MS, es ya la mayor amenaza que se cierne sobre la hegemonía actual (tal vez sobre la subsistencia a largo plazo) indiscutible del ICP-OES como "caballo de batalla" del análisis multielemental simultáneo rápido.

### Los analizadores de masas irrumpen en la Espectrometría Analítica Atómica.-

Ya en 1973 el físico holandés Alkemade (12) propuso emplear la "espectrometría de masas iónica en una llama", como una posible extensión ventajosa de la Espectrometría de Llama (absorción y emisión), que estaba ya consolidándose en esa década en los laboratorios de todo el mundo. Según Alkemade, podría esperarse una mejora de varios órdenes de magnitud en los límites de detección alcanzable, al cambiar la detección clásica de los fotones por otra de iones.

Como en la evolución biológica, sin embargo, fue preciso el paso de un tiempo para ver si esa "mutación" resistía realmente el entorno exterior. De hecho, la realización prácti-

ca de esa idea acabó implementándose en una forma algo diferente: utilizando una "llama eléctrica" (el plasma ICP de argón, ampliamente desarrollado para ICP-OES) en lugar de la llama clásica de un mechero de Bunsen.

Fue a principios de los 80 cuando el grupo de Fassel (2) demostró por vez primera el enorme potencial analítico de acoplar un ICP (de argón) a un analizador de masas tipo cuadrupolo (ya bien desarrollado en el mundo de la Química Orgánica y Bioquímica para análisis de compuestos y estructuras orgánicas). Es decir, ocurrió una combinación entre dos técnicas desarrolladas de forma independiente en dos campos distintos y el resultado de esa "recombinación" (algo similar a lo que ocurre en los cromosomas) fue el ICP (Ar)-MS (cuadrupolo) que comenzó a popularizarse de forma rapidísima en todo el mundo a partir de su comercialización en 1983 (ver **Figura 1**). La actividad investigadora sobre las capacidades del ICP-MS fue tan intensa y la comprobación de su potencial analítico tan abrumadora, que el número de instrumentos vendidos fue creciendo progresivamente (ver **Fig.1**), incluso a pesar de su "descorazonador" precio de mercado: entre 140.000 y 200.000 euros por un ICP-MS de cuadrupolo y hasta 400.000-800.000 euros por un "doble enfoque" o un "multicolector", respectivamente (7). De hecho, y a pesar de esto, en la actualidad existen unos 5000 instrumentos de ICP-MS vendidos en todo el mundo.

**Tabla 2**

Propiedades "ideales" de un sistema de Emisión Atómica Multielemental (OES) y de los "analizadores de masas" (MS)

#### Características "ideales" de un detector OES (9)

- Sensibilidad elevada ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) .....
- Alto poder de resolución ( $\lambda/\Delta\lambda$ ) .....
- Amplio intervalo de longitudes de onda (multielemento) .....
- Bajo ruido de fondo en el detector .....
- Respuesta lineal y amplio rango dinámico .....
- Detección multicanal simultánea .....
- Corrección simultánea del fondo .....

#### Características reales de los "analizadores de masas" (MS)

- Sensibilidad muy elevada ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )
- Alto poder de resolución ( $m/\Delta m$ )
- Intervalo elemental de masas desde 1u hasta 250 u
- Bajo ruido de fondo
- 6-8 órdenes de respuesta lineal
- Possibilidad de análisis secuencial muy rápido o incluso simultáneo
- No es preciso (fondos muy bajos)

**Tabla 3**

Comparación relativa de las características analíticas del ICP-MS  
(frente al ICP-OES)

ICP-MS, similar a ICP-OES	ICP-MS, características "exclusivas"
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Carácter multielemental (simultáneo)</li> <li>▪ Rapidez de los análisis multielemento</li> <li>▪ Capacidad para análisis Semicuantitativo muy rápido (más fácil por ICP-MS)</li> <li>▪ Operación continua (rutina)</li> <li>▪ Detector "en-línea" para FIA y para Cromatografía</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>a) Límites de detección por debajo de los <math>\text{ng.L}^{-1}</math> (ppt)</li> <li>b) Capacidad de medidas de isótopos y relaciones isotópicas:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Confirmación de la presencia de un analito, por su patrón isotópico, en muestras desconocidas</li> <li>- Dilución Isotópica para determinaciones de "referencia"</li> <li>- Aplicaciones en nutrición y metabolismo de los "trazadores" de isótopos estables</li> </ul> </li> <li>c) Métodos de Especiación de Trazas:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Identificación de nuevos biocompuestos</li> <li>- Técnicas SIDA para validar resultados de Especiación de Trazas</li> </ul> </li> </ul>

Parece que esta "recombinación", el ICP-MS, ha supuesto una especie de "revolución en la evolución natural de las técnicas de análisis elemental" tal como se venían desarrollando a lo largo del último medio siglo. Las prestaciones de la técnica de ICP-MS sabemos que están muy cerca ya de las de la "técnica multielemento ideal" del tercer milenio (ver en la **Tabla 2** las propiedades consideradas "ideales" en análisis multielemental clásico por Emisión Atómica (9) y compararlas con las prestaciones reales que ofrece el ICP-MS de hoy). De hecho, hay que admitir que las excepcionales características analíticas que ofrece el ICP-MS son muy superiores a las del ICP-OES (ver la comparación detallada entre ambas técnicas en la **Tabla 3**).

Considerando las prestaciones tan ventajosas, y particularmente las "exclusivas", que ofrece el ICP-MS (**Tabla 3**) cabe preguntarse si, a largo plazo, esta "recombinación" que nació como "otra aplicación" del ICP no acabará acarreado la extinción a largo plazo de su predecesor, el ICP-OES (en todo caso es preciso notar que la **Fig. 1** no muestra signos claros de que eso vaya ocurrir a corto plazo...).

Probablemente la característica diferencial más acusada del ICP-MS, frente a las técnicas de "fotones", sea su habilidad para determinar isótopos y relaciones

isotópicas con suma facilidad. Esta capacidad confiere al ICP-MS una serie de campos de aplicación "exclusivos": a) La aplicación generalizada de técnicas de dilución isotópica para análisis cuantitativos de trazas de gran calidad (13); b) El desarrollo, cada vez más potente en los tres últimos años, de técnicas SIDA ("speciated" isotope dilution analysis) para validar resultados cuantitativos de especiación de trazas y ultratrazas en medio ambiente o material biológico (14); c) El florecimiento actual de estudios con "trazadores" o "isótopos estables marcados" para seguir, por ICP-MS, el metabolismo de elementos esenciales (y/o tóxicos) en los organismos vivos (15), sustituyendo a los tradicionales "trazadores radioactivos". El empleo de trazadores radioactivos en humanos ha estado siempre frenado por los efectos negativos de la radiación y sobre nuestro organismo, pero la introducción de isótopos enriquecidos estables ("marcados") y su medida precisa por ICP-MS constituye hoy una posibilidad alternativa de extraordinario potencial en estudios bioquímicos y metabólicos.

Desde luego, también existen limitaciones importantes, sombras, sobre la proliferación e implantación generalizada de las técnicas de masas en los laboratorios de análisis elemental inorgánico. Entre ellas destacan: a) El ICP-MS es todavía un instrumento comparativamente

muy caro; b) No solo su costo de adquisición, también el de mantenimiento (gasto de Ar, repuestos, reparaciones, etc.) es muy considerable; c) La tecnología, "hardware y software", es complicada requiriendo un personal altamente especializado para sacarle el adecuado rendimiento a tan potente técnica analítica.

A pesar de tales desventajas, la tendencia actual es clara: la curva creciente y sostenida del aumento de ventas del ICP-MS (ver la **Fig.1**) hace presagiar el paso de esta instrumentación desde los laboratorios de investigación hasta los de rutina (e.g. control medioambiental, semiconductores, industria nuclear, clínica, etc.), aunque este paso es todavía vacilante porque en estos últimos laboratorios se considera a esta técnica excesivamente cara y compleja.

#### IV. EL RENACER DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS ATÓMICA (INORGÁNICA)

Considerando que el primer espectrómetro de masas atómico, que fue diseñado con una fuente de chispa, se introdujo ya en los años cincuenta (16), no hay duda de que la Espectrometría de Masas "inorgánica" (elemental) ha estado realmente en peligro de extinción en los últimos cincuenta años. Esto es indiscutible sobre todo si se compara con la vertiginosa evolución de la Espectrometría Masas "orgánica" en estos años y su gran éxito, reconocido de forma espectacular con la concesión del Premio Nobel de 2002 a los avances en MS (y RMN) y su aplicación a las Ciencias de la Vida (y a la Proteómica en particular).

Sin embargo, el tremendo éxito de la "recombinación" ICP-MS de la última década parece haber conseguido sacar a las Masas "inorgánicas" de su letargo de medio siglo. De hecho, hoy se observa una actividad investigadora en este área realmente extraordinaria: no solo estamos ya en la tercera generación de ICP-MS cuadrupolo, estamos asistiendo al

**Tabla 4**

Técnicas de Espectrometría de Masas elemental o "inorgánica" desarrolladas hasta la fecha (MS-atómica)

Fuente	Muestra	Técnica <sup>b</sup>	Acrónimo <sup>b</sup>
Filamento	Líquidos	Thermal ionization mass spectrometry	TIMS
ICP	Líquidos	Inductively coupled plasma mass spectrometry	ICP-MS
MP	Líquidos	Microwave Induced Plasma mass spectrometry	MP-MS
Descarga			
Luminiscente (GD)	Sólidos	Glow discharge mass spectrometry	GD-MS
Chispa (Spark source)	Sólidos	Spark source mass spectrometry	SS-MS
Láser	Sólidos	Laser ionisation mass spectrometry	LIMS
Haz de iones	Sólidos	Secondary ionisation mass spectrometry	SIMS
Haz de iones	Sólidos	Sputtered neutral mass spectrometry	SNMS
Haz de iones	Sólidos	Accelerator mass spectrometry	AMS
Electrospray <sup>a</sup>	Líquidos	Electrospray mass spectrometry	ES-MS
Fast atom bombardment <sup>a</sup>	Líquidos	Fast atom bombardment mass spectrometry	FAB-MS

<sup>a</sup> Fuentes "moleculares", pero también utilizadas para análisis elemental

<sup>b</sup> Preferimos conservar la terminología inglesa, más popular, ya que no existe siempre traducción aceptada al castellano

desarrollo, en los laboratorios de todo el mundo, de una carrera por ensayar con fines analíticos todo tipo de combinaciones de fuentes de ionización, originalmente ideadas para espectrometría óptica, con el analizador de masas.

La **Tabla 4** muestra la importante serie de técnicas analíticas introducidas en este campo, clasificadas en términos de su fuente de iones para fines de análisis atómico o elemental. Como puede verse, cada tipo de fuente de iones puede tener una aplicación diferente, complementando a la fuente de más éxito, el ICP. Asistimos, pues, a un claro renacer de las "Masas atómicas" promovido por el gran éxito del ICP-MS.

Conviene resaltar que, para un espectroscopista, existe un gran paralelismo entre la Espectrometría de Masas "atómica" y la Espectrometría Atómica de Fotones: como muestra la **Figura 2**, en MS atómica la fuente produce ahora los iones de los elementos de la muestra (es decir, la energía es suficiente no solo para la excitación del elemento, típico en Emisión Atómica, sino también para que el electrón salga del átomo, se ionice). El haz de iones gaseosos generado contiene entre otros los iones del analito, los cuales son separados, de forma específica según su relación carga/masa, en el "analizador de masas" (e.g. un cuadrupolo).

Estos iones del analito así separados inciden sobre el transductor o detector (dispositivo semejante al fotomultiplicador clásico) originando una corriente eléctrica proporcional al número de iones que llega por segundo. Esta corriente, una vez procesada, permite el cálculo de la concentración del ión buscado. En resumen, el llamado "analizador de masas" juega el papel del "monocromador" en Espectrometría de Emisión de Fotones clásica, como tratamos de mostrar gráficamente en la **Figura 2**. Ahora bien, el empleo de la medida directa de los iones, en lugar de los fotones emitidos de un elemento dado, proporciona dos ventajas importantísimas: en primer lugar, la sensibilidad de las determinaciones de trazas es mejor en varios órdenes de magnitud por ICP-MS (que por ICP-OES); en segundo lugar, los datos del "analizador de masas" proporcionan información directa, valiosísima, sobre la composición isotópica del elemento(s) considerado(s).

Por descontado que las fuentes de iones utilizadas aquí (**Tabla 4**) son muy energéticas ("duras") de modo que en general solo obtendremos iones atómicos (i.e. información elemental) en contraposición a lo que ocurre en MS "orgánica" donde empleamos fuentes "suaves" (e.g. impacto electrónico, ionización química, electrospray, etc.) para obtener información de los iones moleculares y/o fragmentos iónicos

característicos de las moléculas de la muestra.

Desde el punto de vista del "analizador de masas" los instrumentos utilizados en MS "atómica" son semejantes a los que se han venido desarrollando para MS "orgánica". Solamente cambia el intervalo de masas requerido (desde 1 hasta 250 uma para las aplicaciones elementales o atómicas) y la sensibilidad en cada masa (mayor en los ICP-MS). Sin discusión, como en MS "orgánica", hoy por hoy el filtro de masas más popular (barato) es el cuadrupolo. Sin embargo, el cuadrupolo tiene relativamente bajo poder de resolución (aprox. 300, es decir, una resolución absoluta de 1 uma), y esto lleva aparejados grandes problemas de interferencias espectrales.

Estas interferencias en ICP-MS provienen de diversas fuentes y pueden ser isobáricas (iones atómicos) o poliatómicas (iones poliatómicos). Sin duda, la formación de iones poliatómicos es el problema más serio y está originando una gran actividad investigadora para evitar tales interferencias. Los gases del plasma ICP, la matriz de la muestra o los iones provenientes de los ácidos y agua de la disolución generan multitud de iones poliatómicos cuya relación masa/carga, m/Z, puede estar muy próxima a la del analito.

El lector interesado en este problema y en las diferentes formas de eliminar dichas interferencias poliatómicas puede consultar la excelente revisión de Evans y Giglio (17). Realmente en la actualidad hay dos grandes tendencias para mitigar el problema de las interferencias espectrales en ICP-MS:

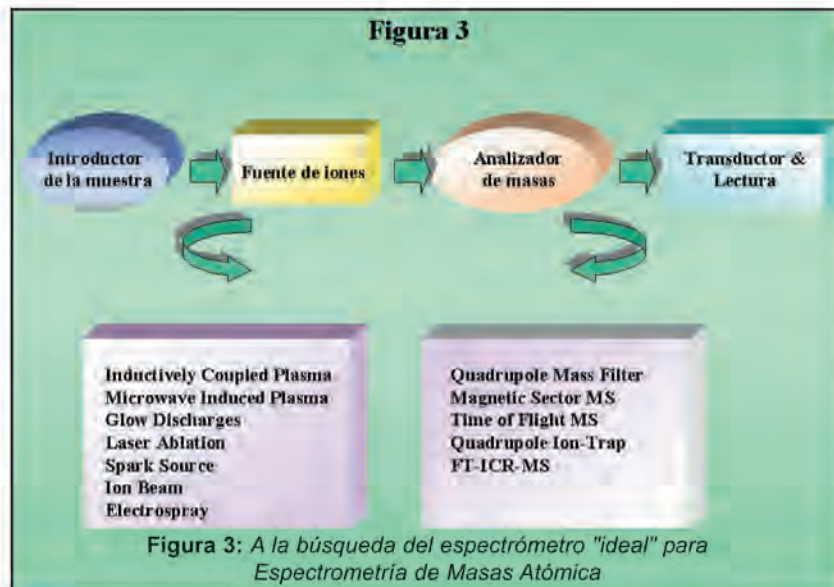
a) Recurrir al empleo de analizadores de masas de "alta resolución" e.g. empleando instrumentos de doble enfoque (DF) que poseen un analizador electrostático acoplado en serie con un sector magnético. Un ICP-MS(DF) comercial es capaz de ofrecer un poder de resolución de hasta 10.000 (m/Δm), lo que permite separar una gran cantidad de interferencias poliatómicas.

Por eso el empleo de estos instrumentos está creciendo a pesar de su elevado precio (algo menos de medio millón de euros) en las áreas de: determinación de ultratrazas y sus relaciones isotópicas en todo tipo de muestras y, sobre todo, en análisis biológicos con fines de Especiación Química de trazas y ultratrazas (18).

b) La otra tendencia más barata, muy en boga estos días, para suprimir el problema de los poliatómicos es el empleo de analizadores de masas de cuadrupolo provistos de "células de colisión" (o de "reacción") con gases adecuados para romper los poliatómicos formados en el ICP o en la etapa de extracción de los iones del analito desde el plasma (19). El problema más grave en esta segunda solución es cierta pérdida de versatilidad y capacidad multielemental (al tratar de romper determinados iones poliatómicos interferentes, con los gases de colisión, es frecuente crear otros iones poliatómicos, que interfieren ahora respecto de otros analitos de interés). En todo caso la ciencia de esta instrumentación está evolucionando tremendamente en los dos últimos años.

Aparte de los "cuadrupolos" y de los analizadores de "doble enfoque" existen en el comercio los ICP-MS con analizador de tiempo de vuelo (TOF, "time of flight"). En principio, esta instrumentación es ideal para seguir señales "transitorias", muy rápidas en el tiempo, aunque la experiencia demuestra que la sensibilidad analítica alcanzable con ellos es un orden de magnitud inferior a la típica de un ICP-MS cuadrupolo (20).

Existe también investigación activa sobre el empleo de otros analizadores de masas desarrollados para MS "orgánica", concretamente existen esfuerzos para acoplar los de Trampa Iónica al ICP e incluso se ha descrito ya el acoplamiento de un ICP a un analizador de masas de resonancia de ión-ciclotrón con transformada de Fourier (FT-ICR-MS) para conseguir la máxima resolución jamás descrita en ICP-MS: el mayor poder de resolución repor-



tado en ICP-MS hasta hace tres años era de 46.000 (a niveles de ppm,  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , del analito) utilizando un analizador DF, mientras que el ICP-FT-ICP-MS desarrollado en la Universidad de Florida parece ser capaz de separar sin problemas el  $\text{Ca}^+$  del  $\text{Ar}^+$  lo que supone un poder de resolución de 280.000, a niveles del analito de ppb,  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (21).

Tradicionalmente se ha empleado un TIMS para medidas de relaciones isotópicas de precisión. Sin embargo, el ICP-MS ofrece, frente a dicha instrumentación, grandes ventajas de rapidez, fácil muestreo y ampliación del campo del TIMS. Medir relaciones isotópicas con gran exactitud, precisión y facilidad abre una enorme variedad de aplicaciones de tales medidas en Geología, Medio Ambiente, ciclos Biogeoquímicos, Biología y Medicina. Sin embargo, no parece que sean los cuadrupolos o los analizadores DF (de carácter secuencial en sus medidas), ni siquiera el TOF, los analizadores de masas del futuro en este tipo de aplicaciones, que demandan una operación realmente "simultánea". En este sentido, la típica operación de barrido de masas ("single-channel" en cada instante) de un cuadrupolo o del sector magnético se puede convertir en detección multi-isotópica simultánea (como se hace en los "policromadores" en Espectroscopía Óptica) sin más que eliminar la rendija de salida del colector (detector) de iones y a con-

tinuación: a) añadir varios sistemas de rendija/detector (canales) colocados de forma estratégica en el espacio para coleccionar varios iones deseados de forma simultánea o, b) colocar un detector multicanal del tipo "diode array" (filas de diodos) para medir simultáneamente un amplio espectro de los iones (como se hace en una CCD para Espectrometría Óptica en ICP-OES).

El sistema a) se conoce como "ICP-MS Multicolector" y es ya una realidad comercial. A pesar de su elevado precio (unos 600.000 euros), el empleo de "Multicolectores" aumenta sensiblemente en estos dos últimos años para medidas de relaciones isotópicas de gran exactitud y precisión. Por el contrario, la opción b), con gran potencial futuro, está todavía en fase de investigación (22).

Como muestra gráficamente la **Figura 3**, cualquier combinación entre una de las fuentes espectroquímicas desarrolladas hasta la fecha y cualquiera de los analizadores de masas conocidos podría ser posible. De hecho muchas de esas "recombinaciones" posibles que sugiere la **Figura 3** han sido ya, o están siendo, investigadas. En todo caso, en la práctica, solamente algunas han llegado a tener éxito convirtiéndose en instrumentación comercial. La **Tabla 5** recoge los nombres (acrónimos) de las cinco "recombinaciones" más impor-

**Tabla 5**

Características analíticas y aplicación general de las técnicas de MS "inorgánica" comerciales

Técnica	Características/ campo de aplicación	Referencia recomendada
<i>Técnicas de líquidos</i>		
<b>TIMS</b>	- Técnica de referencia en medidas de relaciones isotópicas - Muestras disueltas - Excelente para un sensible y fiable análisis multi-elemental - Muy laboriosa y lenta (preparación de muestras)	16
<b>ICP-MS</b>	- Peor precisión para relaciones isotópicas - Muestras disueltas - Extrema sensibilidad - Con un láser (Laser ablation), una posible alternativa para análisis de sólidos	31, 32
<i>Técnicas de sólidos</i>		
<b>GD-MS</b>	- Muy buenos límites de detección en el sólido (>ng g <sup>-1</sup> ) - Análisis total y de capas delgadas (perfiles de concentración) - Conductores y no-conductores - Cuantitativa	16, 33
<b>SIMS</b>	- Muy buenos límites de detección en el sólido (<ng g <sup>-1</sup> ) - Resolución lateral (0.1-1 µm) (Microanálisis) - Análisis de perfiles de concentración y de superficies	16, 34
<b>LIMS</b>	- Excelente poder de detección elemental (hasta 10 <sup>-20</sup> g) - Carácter de micro-haz (Microanálisis: resolución, 1 µm) - Carácter cualitativo	16, 35

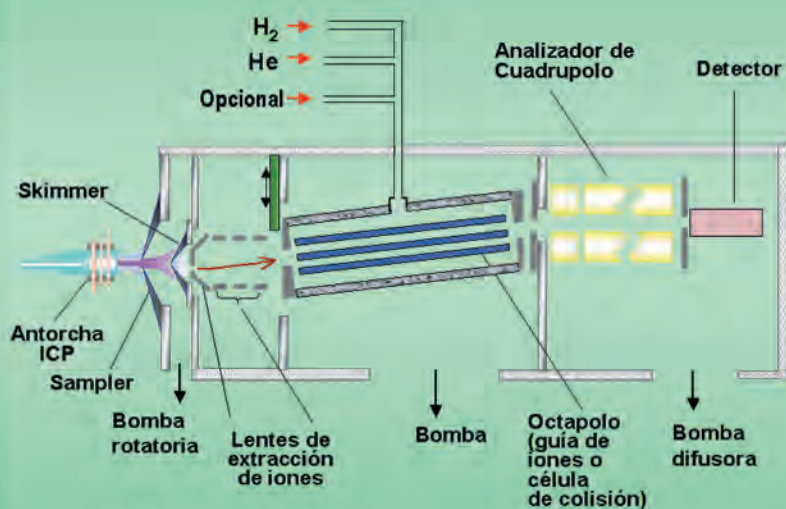
**Figura 4**

Figura 4: Diagrama básico de un ICP-MS tipo Cuadrupolo (provisto de celda de colisión)

tantes, con sus características analíticas y campo de aplicación más relevantes en este momento, de la Espectrometría de Masas "atómica", mientras que la **Figura 4** ilustra un ICP-MS de cuadrupolo, el

instrumento de mayor éxito hasta la fecha (antes del analizador de masas hemos incluido una "célula de colisión" para ilustrar donde se coloca este sistema moderno de eliminación de interferencias en

ICP-MS).

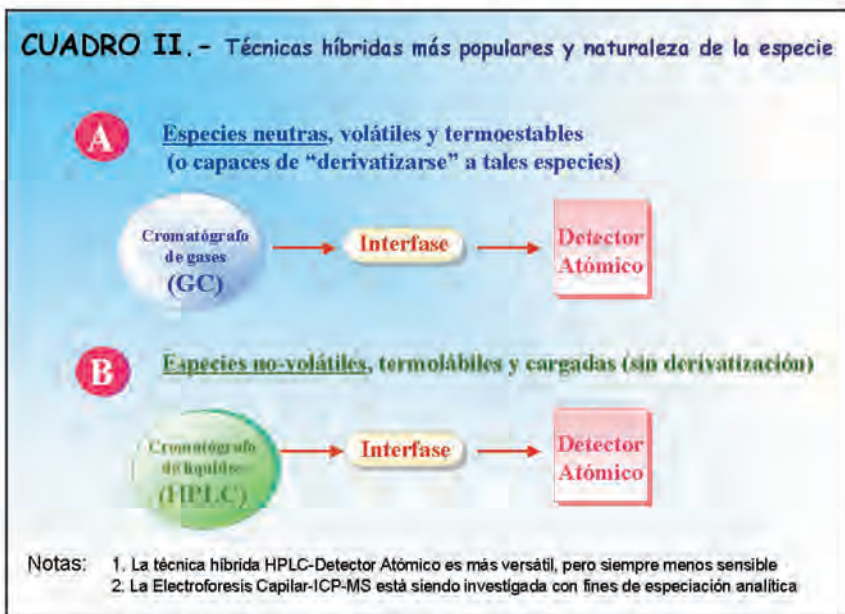
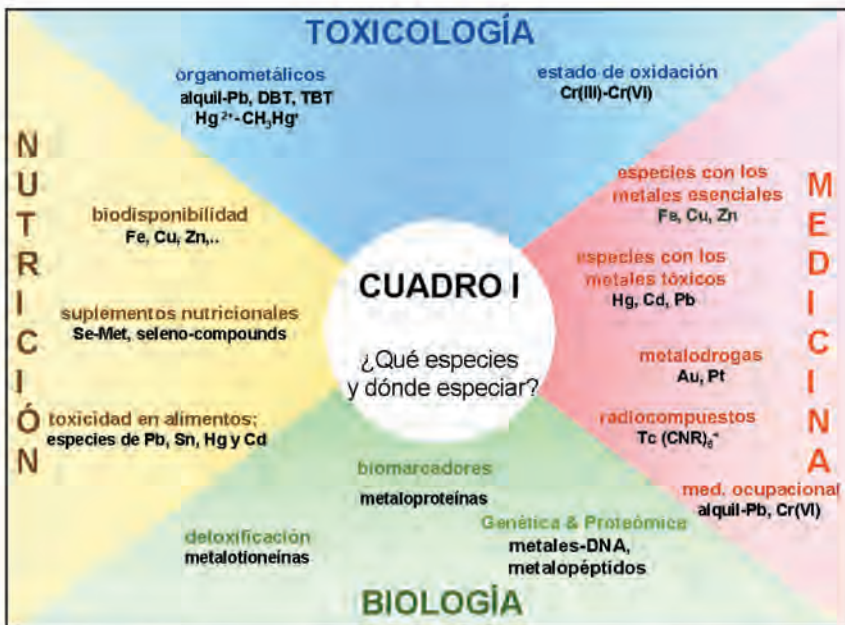
## V. ESPECIACIÓN QUÍMICA DE ELEMENTOS TRAZA: TÉCNICAS HÍBRIDAS (ACOPLADAS)

En nuestra sociedad actual cada vez es mayor la demanda de análisis totales de los elementos traza y ultratrazas en todo tipo de materiales (y particularmente en Biología y Medicina). Por otro lado, tales determinaciones se llevan a cabo mayoritariamente por técnicas atómicas debido a su extraordinaria sensibilidad y selectividad.

Sin embargo, en las dos últimas décadas la comunidad científica internacional ha reconocido que la toxicidad, la biodisponibilidad, la actividad biológica, el metabolismo, el transporte, la persistencia en un medio, el destino final de acumulación, los ciclos bio-geológicos de un metal/semimetal y, en definitiva, el impacto final de un elemento tóxico (e.g. Hg, Pb o Cd) en el medio ambiente o en nuestro cuerpo vendrá determinado por la forma química (especie) particular en la que se halla el citado elemento en la muestra. En este sentido, la determinación del contenido total de un elemento por Espectrometría Atómica, como se hace habitualmente, no sería una medida adecuada. En ocasiones tales análisis podrían estar incluso totalmente fuera de lugar para el propósito perseguido (p.e. el trióxido de arsénico (III) es muy tóxico, pero la arsenobetaina es inocua; el Sn(IV) apenas es peligroso pero el tributilestano es un potente y peligroso biocida). En resumen, la información del contenido total de un elemento debe complementarse con la información más sutil de su "especiación". De hecho, en la actualidad esta información adicional está siendo demandada cada vez más en Medio Ambiente, Biología, Toxicología, Medicina ocupacional, Alimentación e incluso en las industrias más variadas (5, 23, 24).

A estas alturas ya se han publicado media docena de monografías sobre el tema y la investigación en Especiación Química y Análisis de





Especiación constituye una de las áreas más activas de la investigación analítica mundial. Es de hacer notar, además, que España posee numerosos grupos de investigación en este campo y, en este momento, es uno de los países líderes en especiación analítica. Cabe preguntarse qué especies hay que buscar o analizar y donde son importantes los correspondientes métodos analíticos de especiación. Aunque este campo se amplía de forma constante, el **Cuadro I** puede ofrecer una visión general que responde, al menos parcialmente, a dicha pregunta. Como se puede ver en el Cuadro, hoy existe ya un amplio conocimiento y un enorme interés por desarrollar métodos y

estrategias analíticas capaces de enfrentarse y responder adecuadamente a este reto de "especiar" concentraciones bajísimas ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) de los elementos en los campos (muestras) más variados. Es un verdadero reto en el que la especie de interés debe preservarse, sin modificación alguna, a lo largo de todo el proceso analítico, desde la toma de muestra hasta la determinación final de la especie/analito.

Puesto que las técnicas atómicas, por definición, destruyen la información molecular (las especies), se necesita diseñar y desarrollar nuevas estrategias y metodologías analíticas capaces de proporcionar dicha información "especiada"; es

decir, la información precisa sobre la especie(s) en que de hecho se halla el elemento buscado en las muestras reales (medioambientales, biológicas, alimentos, fármacos, vertidos, etc.). A pesar de su importancia, los fabricantes de instrumentación científica no acaban de poner en el mercado instrumentación dedicada a análisis de especiación. Tal vez todavía es pronto en el proceso evolutivo de modo que estos análisis de especiación se llevan a cabo hoy, casi de forma exclusiva, en laboratorios de investigación.

Existen diferentes aproximaciones analíticas que permiten abordar el análisis de especiación (e.g. cálculos numéricos, (bio)sensores de especies, caracterización fisicoquímica de la especie aislada, etc.). Sin embargo, las denominadas "técnicas híbridas" constituyen hoy la estrategia más realista y popular para llevar a cabo la especiación de trazas en muestras reales. Es decir, la combinación de una poderosa técnica de separación (p.e. Cromatografía o Electroforesis Capilar) acoplada a un detector atómico, idealmente "en-línea" para permitir la detección específica del elemento buscado de forma continua y a tiempo real, parece ser al día de hoy la estrategia analítica más potente, versátil y utilizada. La selección adecuada de la técnica de separación es crítica en el éxito de un análisis de especiación y se hace en base a las propiedades fisicoquímicas de las especies analito. Los dos tipos de estrategias cromatográficas más utilizados, junto con los criterios principales para seleccionar una u otra según la naturaleza de la especie analito, se muestran de forma esquemática en el **Cuadro II**. Hoy por hoy la Cromatografía Líquida de Alta Resolución y la Cromatografía de Gases constituyen las técnicas de separación preferidas. Al menos para el análisis de trazas, el empleo de la Electroforesis Capilar encuentra muchas dificultades debido a su comparativa falta de sensibilidad analítica.

Como detector específico se puede utilizar cualquiera de las técnicas

	EL PROBLEMA	LAS SOLUCIONES ANALÍTICAS
Incremento de la complejidad	1.- Toxicidad de los compuestos organometálicos (Medio Ambiente)	Ident/Cuantificación mediante Técnicas Híbridas (Detectores específicos)
	2.- Metal-biomoléculas "desconocidas" (Biología y Medicina)	Idem
	Ident/confirmación?	MS "moleculares" típicas (ESI-MS-MS, MALDI-(TOF)MS)
	3.- Origen biológico y papel de los metales y semimetales	Métodos "bioquímicos" típicos (MS en Proteómica)

**CUADRO III**  
**Evolución de la Especiación Analítica**

atómicas ya comentadas, aunque las más convenientes y utilizadas sean las que permiten un acoplamiento totalmente "en-línea" con la separación (esto no elimina, desde luego, la posibilidad de hacer análisis de especiación por técnicas no-cromatográficas y detección atómica no-continua, p.e. la AAS con Horno de Grafito). Posiblemente el futuro instrumento comercial (de rutina) para hacer análisis de especiación pudiera estar basado en acoplar técnicas atómicas sencillas y baratas, como la AAS de Llama o un Plasma de Microondas-OES.

En todo caso, la realidad actual se caracteriza por el empleo generalizado de un ICP-MS como detector acoplado a un CG (sobre todo en aplicaciones de tipo medioambiental) o bien a un HPLC (particularmente en análisis de especiación de material biológico de todo tipo).

## VI. ESPECTROMETRÍA ATÓMICA DEL TERCER MILENIO: ¿ÁTOMOS O MOLÉCULAS?

Los espectroscopistas atómicos hemos estado fascinados por los átomos y la Física durante más de un siglo, buscando nuevas fuentes espectroquímicas, cada vez más energéticas, para obtener solo los átomos constituyentes de las muestras. En la última década, a través de la Especiación de Elementos Traza y Ultratraza (una de las ten-

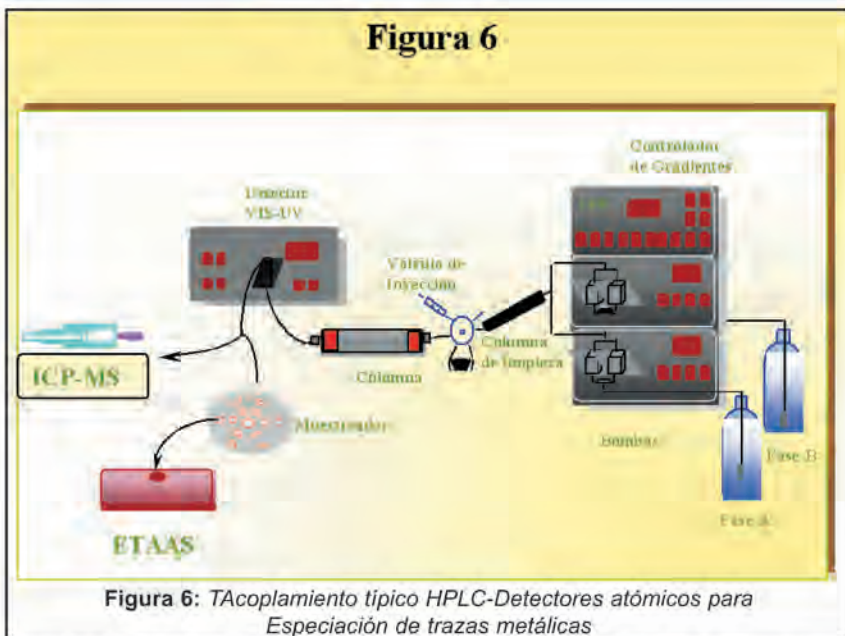
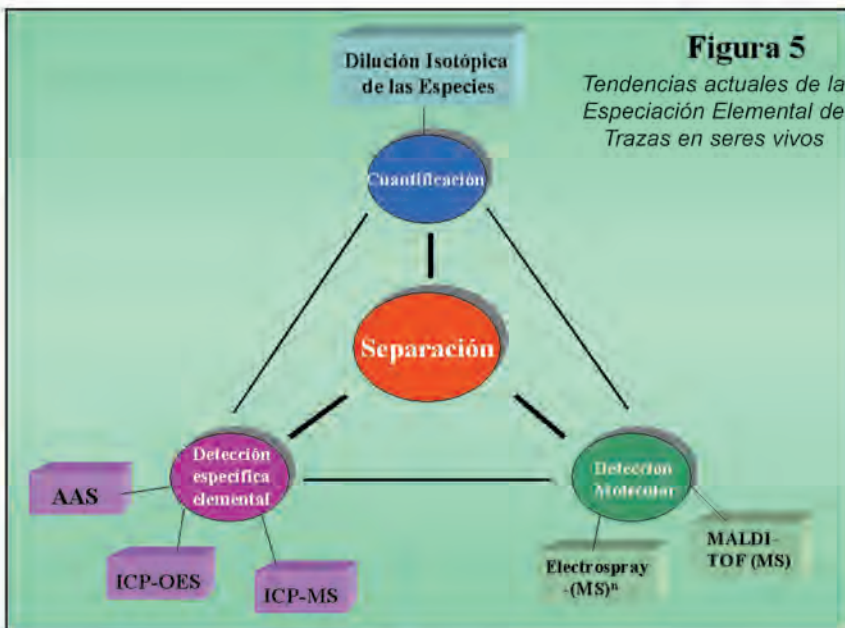
dencias más claras, fructíferas e innovadoras de la Química Analítica del comienzo de este tercer milenio) parece que estamos volviendo a los orígenes, a la Química en su sentido más clásico: el estudio de las moléculas que los átomos forman al reaccionar entre sí.

El empleo inicial de las técnicas "híbridas" para obtener información molecular (especiada) de metales tóxicos en Medio Ambiente (Hg, Cd o Pb) se extendió pronto a la especiación de dichos elementos tóxicos, y de los esenciales, en el material biológico constitutivo de los organismos vivos más variados (el Cuadro III muestra la "evolución" de la especiación analítica en la última década). Sin embargo, gracias a la extrema sensibilidad del ICP-MS, se puso en evidencia la gran complejidad de este problema científico: para un elemento dado en un organismo dado (incluso sencillo, como las levaduras) se observaron múltiples compuestos desconocidos del elemento como resultado de su metabolismo en el ser vivo considerado. Las asociaciones metal-biomoléculas generadas de esta forma natural comenzaron a estudiarse a fondo con las mismas técnicas "híbridas" antes comentadas. Desde luego, hoy se admite que para entender los mecanismos de acción de los elementos traza y ultratraza en los organismos vivos (y con ello su verdadero papel en la salud y la enfermedad) deberíamos conocer dichas asociaciones del

metal (elemento) detectado con los bioligandos clave (p.e. ADN, ARN, proteínas, enzimas, etc.). Así sabemos, por ejemplo, que existen muchísimas proteínas que contienen metales (o semimetales) y que esta presencia es esencial para la actividad biológica observada (25).

Por otro lado, la MS "orgánica" tan utilizada hoy en la identificación y determinación de compuestos orgánicos en las mezclas más complejas (e.g. productos naturales) ha sido siempre consciente de la necesidad de separar tales compuestos, antes de proceder a su identificación y determinación final. Tanto en Química Orgánica analítica como en Proteómica analítica las técnicas "híbridas" son ya lugar común: técnicas como GC-MS, LC-MS ó CE-MS constituyen "caballos de batalla" ya en estos campos para la identificación, confirmación y/o determinación de compuestos derivados de elementos no-metálicos (e.g. C, H, O, N). Es claro que dicha información "molecular" y/o estructural es igualmente imprescindible ahora para completar la información química precisa sobre los elementos, tóxicos y/o esenciales, que forman parte de las metal- o semimetal- biomoléculas en los seres vivos.

En otras palabras, la distinción tradicional entre análisis atómico y molecular se está desdibujando para los espectroscopistas atómicos que estamos investigando los problemas de Especiación de Trazas y Ultratrazas. Además, a medida que estas rígidas fronteras desaparecen, las técnicas y estrategias a utilizar para obtener información completa y moderna sobre los elementos esenciales y tóxicos en seres vivos evolucionan rápidamente. Esto se observa en los Congresos Internacionales del último año sobre Espectrometría Atómica: existe una clara tendencia a conseguir la información, complementaria a la atómica clásica, relativa a la naturaleza del bioligando o biomoléculas donde el elemento considerado se encuentra presente. Para ello, obviamente, los otrora espectroscopistas atómicos debemos volver los



ojos hacia las técnicas capaces de proporcionarnos esa información "molecular" demandada. Así pues, debemos colaborar con especialistas en MS "orgánica" o incluso en RMN u otras espectroscopías adecuadas para dicho propósito.

Por otro lado, la Proteómica se ha convertido en la "palabra mágica" en Biociencia, ahora que la Genómica pierde brillo al haber dado de sí bastante menos de lo que sus paladines vaticinaron hace solo cinco años desde el campo de la Bioquímica. En todo caso, hoy se admite que la combinación Genómica/Proteómica tiene mucho más sentido, más realismo y, por tanto, más futuro que la Genómica

como tal. De hecho, parece que investigar en ese campo constituye casi una garantía de fondos "abundantes", una fuente generosa de posible financiación de nuevos proyectos en todo el mundo desarrollado.

Para un espectroscopista atómico no deja de sorprender el hecho, tal vez descubierto tardíamente, de que en Proteómica ocurre, como en Especiación Química, que las herramientas analíticas más comunes y potentes para identificar, caracterizar y determinar proteínas y sus modificaciones translacionales (e.g. fosforilaciones, acetilaciones, etc) son también técnicas híbridas: la separación de la(s) proteína(s) bus-

cada en la compleja mezcla generada por las células se consigue por una separación de gran resolución (p.e. electroforesis 2D ó Capilar, HPLC, etc) seguida de técnicas de caracterización de Espectrometría de Masas "orgánicas" (e.g. MALDI-TOF, Electrospray-(MS)<sup>n</sup>, Electrospray-Q-TOF, etc). Por descontado que esta analogía no es casual: ya hemos señalado que la especiación moderna de trazas metálicas en material biológico está demandando identificar y determinar el "bioligando", es decir, la proteína, el DNA, etc en que se halla y es justamente ese el objetivo de la Proteómica estructural actual (como paso previo para entender la Proteómica "funcional").

De forma natural, pues, y de pleno derecho la Especiación de Trazas y Ultratrazas en Material Biológico está entrando en la Proteómica. Somos "espectroscopistas atómicos" los que estamos ya estudiando los enlaces y reacciones del  $Fe^{+3}$  o del  $Al^{+3}$  con la transferrina (una glicoproteína importante), o del  $Cd^{+2}$ ,  $Hg^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$  y  $Zn^{+2}$  con las metalotioneínas (proteínas de peso molecular en torno a 6000 daltons de extraordinaria importancia en la detoxificación de metales) o bien la forma del Se en sus selenoaminoácidos, polipéptidos y selenoproteínas. Es decir, ¡estamos investigando en Proteómica!. Además, lo estamos haciendo desde una perspectiva innovadora para los bioquímicos, y de gran proyección porque:

- i) Podemos identificar y determinar metal-biocompuestos sin apenas tratamientos de la muestra biológica;
- ii) Los niveles de concentración alcanzables con ICP-MS pueden ser bajísimos (e.g. 10-100  $pg.L^{-1}$  de proteínas);
- iii) Se puede estudiar el biocompuesto desde la perspectiva del "heteroátomo" implicado (más que desde el ángulo convencional de la molécula en su conjunto).

La **Figura 5** muestra gráficamente las tres grandes tendencias actuales en este campo de la Especiación Analítica (26) y, por ende, las técnicas necesarias para cada objetivo básico. Al considerar

el futuro de extender esta filosofía y métodos de la "especiación" al mundo de la Proteómica actual (y de las Ciencias de la Vida en general) podríamos aventurar que el primer paso debe ser la detección de un "nuevo" biocompuesto mediante una técnica híbrida de gran sensibilidad, preferiblemente un acoplamiento HPLC-ICP-MS. La **Figura 6** ilustra el sistema clásico que hemos utilizado ampliamente en nuestro grupo de investigación para esclarecer la distribución de elementos esenciales (y tóxicos) en material biológico (27). Tras el "screening" y detección de la presencia de "heteroátomos", detectados a la salida de la columna HPLC por ICP-MS (ó ICP-OES), es preciso separar, identificar y confirmar la naturaleza de los compuestos (picos) que contienen el "heteroátomo", utilizando técnicas típicas en Proteómica (e.g. MALDI-TOF y Electrospray-tandem MS). Finalmente, una vez conocida la naturaleza química del metal-biocompuesto, será preciso desarrollar técnicas adecuadas para su análisis cuantitativo a los bajísimos niveles de concentración en los que el biocompuesto puede hallarse "enterrado" en su compleja matriz biológica. Como muestra la **Figura 5**, tal vez la estrategia más adecuada para ello sea el empleo de técnicas de Dilución Isotópica "especiada" (SIDA, "speciated isotope dilution analysis") en sus diversas formas, hoy en constante evolución (13, 14, 28).

Así pues, la extraordinaria complejidad de los problemas de especiación de metales y semi-metales (o incluso de P o S) en la realidad de los innumerables organismos vivos aconseja los tratamientos de muestra adecuados y, con ellos, la selección de la técnica de separación más adecuada y sensible (al igual que en Proteómica analítica), como paso previo a proceder al empleo de las técnicas espectroscópicas. Solo tras dicha separación es posible: a) identificar la presencia de compuestos que contienen el heteroátomo buscado (e.g. mediante ICP-MS); b) proceder a la caracterización de la biomolécula donde se halla dicho "heteroátomo",

En este sentido es revelador que una de las últimas y más avanzadas tendencias en la instrumentación MS para especiación analítica trata de desarrollar una fuente de ionización "sintonizable" (29). Dicha fuente de iones es capaz de proporcionar tanto los iones atómicos, como el ión molecular o los fragmentos de esa molécula, de modo que con un mismo instrumento (analizador de masas) se podrá obtener información elemental de los átomos de la molécula, del ión molecular o sobre los fragmentos iónicos correspondientes (e.g. de una proteína). Este esfuerzo investigador desdibuja todavía más la vieja frontera que teníamos los espectroscopistas atómicos tradicionales y hoy parece ya una realidad cercana, según el trabajo presentado por M. Vahidi en la última edición de la Pittsburg Conference en Florida: ese instrumento funciona ya utilizando como fuente una Descarga Luminiscente Pulsada (pulsed-GD) acoplada a un TOF, cuya altísima velocidad en la toma de datos permite acumular suficiente información sobre la ionización en lo más alto del pulso (producción de iones atómicos), al finalizar dicho pulso (persistencia de fragmentos moleculares) y unos ms tras la finalización del pulso de potencial en la GD (30).

## CONCLUSIÓN.-

Mi mensaje en este artículo pretende clarificar la situación de encrucijada (en mi opinión muy positiva) en que se halla la Espectrometría Atómica Analítica al comenzar este milenio que nos toca vivir.

En primer lugar, parece evidente que las fronteras clásicas que albergaban los objetivos tradicionales de esta subdisciplina se debilitan cada año que pasa: ahora no solo queremos información elemental de trazas y ultratrazas; necesitamos, cada vez más, información detallada de la(s) molécula(s) donde se hallan.

En segundo lugar, esta demanda creciente de información elemental

"especiada" nos está empujando a la adopción y empleo adecuado de unas "herramientas" del análisis muy lejos, solo unos pocos años atrás, de nuestro quehacer diario (piénsese en la pléyade de técnicas de Espectrometría de Masas, de RMN o de otras técnicas "moleculares").

En resumen: como he tratado de ilustrar con la analogía de la evolución biológica, la evolución del análisis elemental por técnicas atómicas ha sido espectacular en el último medio siglo. Tanto, que se han producido dos importantísimas "revoluciones" a lo largo de esta "evolución natural": desde el punto de vista metodológico los otrora todopoderosos fotones podrían estar siendo destronados por los iones para el análisis elemental total y, lo que es más sorprendente, la necesidad de información sobre Especiación de Trazas y Ultratrazas nos empuja a "renegar" de nuestra esencia "atómica", adentrándonos en bosques tan lejanos y desconocidos para la Espectrometría Atómica tradicional como el de la Proteómica analítica.

Sin duda es un reto difícil mantenerse a la vanguardia de esta revolución conceptual y metodológica... pero es fascinante vivir estos tiempos de cambio.

## REFERENCIAS

- 1) J.B. Dawson, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1991, **6**, 93
- 2) R.S. Houk, V.A. Fassel, G.D. Flesh, H.J. Svec, A.L. Gray and C.E. Taylor, *Anal. Chem.*, 1980, **52**, 2283
- 3) J.M. Mermet, *Les Enjeux Economiques de l'Analyse*, Invited lecture at the University of Pau, France, April, 1998
- 4) B.R. Levin, M. Lipsitch and S. Bonhoeffer, *Science*, 1999, **283**, 806
- 5) J.A. Caruso, K.L. Sutton and K.L. Ackley eds.; "Elemental Speciation: New Approaches to Trace Element Analysis" en *Wilson and Wilson's Comprehensive Anal. Chem.* XXXIII; Elsevier, Amsterdam, 2000
- 6) A. Sanz-Medel, *Mikrochim. Acta*, 1991, **II**, 265
- 7) A. Montaser, *Appl. Spectrosc.*, 1998, **52**, 406A
- 8) D.A. Scoog, F.J. Holler and T.A. Nieman; "Principios de Análisis Instrumental" 5ª Ed., Madrid, 1992
- 9) F.M. Pennebaker, D.A. Jones, C.A. Gresham, R.M. Williams, R.E. Simon, M.F. Schapper and M. Bonner Denton, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1998, **13**, 821
- 10) R.E. Russo, *Appl. Spectrosc.*, 1995, **49**, 14ª
- 11) D.L. Tsalev, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1999, **14**, 147
- 12) C. Th. J. Alkemade, *Proc. Soc. Anal. Chem.*, 1973, **10**, 130
- 13) K.G. Heumann, S.M. Gallus, G. Radlinger and J. Vogl, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1998, **13**, 1001
- 14) J. Ruiz, P. Rodríguez, J.I. García y A. Sanz-Medel, *Trends in Anal. Chem.*, 2003, **22(2)**, 108
- 15) K. Yokoi, N.W. Alcock and H.H. Sandstead, *Biomed. Res. Trace Elem.*, 1994, **5**, 69
- 16) F. Adams, R. Gibels and R. Van Grieken, "Inorganic Mass Spectrometry", John Wiley and Sons, New York, 1988
- 17) E.H. Evans and J.J. Giglio, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1993, **8**, 1
- 18) J.M. Marchante, J.I. García Alonso and A. Sanz-Medel, *Anal. Chim. Acta*, 1999, **400**, 307
- 19) S.D. Tanner, V.J. Baranov and D.R. Bandura, *Spectrochim. Acta B*, 2002, **57**, 1361
- 20) G. Centineo, M. Montes and A. Sanz-Medel, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2000, **15**, 1357
- 21) J. Eyler, E. Milgram and C. Watson, *ICP Inf. Newsletter*, 1999, **24**, 804
- 22) G.M. Hieftje et al., "New directions and capabilities in Elemental Mass Spectrometry", Invited Lecture, Pittsburg Conference, Orlando, Florida, Marzo 9-14, 2003
- 23) A. Sanz-Medel, ed.- "Flow Analysis with Atomic Spectrometric Detectors", Elsevier, Amsterdam 1999
- 24) J. Szpunar, *The Analyst (U.K.)*, 2000, **125**, 963
- 25) S.J. Lippard and J.M. Berg.- "Principles of Bioinorganic Chemistry", University Science Books, Mill Valley, California, 1994
- 26) J. Szpunar, R. Lobinski and A. Prange, *Appl. Spectrosc.*, 2003, **57(3)**, 102A
- 27) A. Sanz-Medel, A.B. Soldado, R. Milacic and T.B. Polak, *Coordination Chemistry Reviews*, 2002, **228**, 373
- 28) P. Rodríguez, J. Ruiz Encinar, J.I. García Alonso and A. Sanz-Medel, "Determination of butyltin compounds in coastal sea-water samples using isotope dilution GC-ICP-MS", *J. Anal. At. Spectrom.*, 2002, **17**, 824
- 29) R.K. Marcus, E.H. Evans and J.A. Caruso; "Tunable plasma sources in analytical spectroscopy: current status and projections"; *J. Anal. At. Spectrom.* 2000, **15**, 1-5
- 30) V. Majidi, "New Ion Sources for Atomic Mass Spectrometry", Invited Lecture, Pittsburg Conference, Orlando (Florida), Marzo 2003
- 31) A. Montaser, "Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry", Wiley-VCH, New York, 1998
- 32) E.H. Evans, J.J. Giglio, T.M. Castellano and J.A. Caruso, "Inductively Coupled and Microwave Induced Plasma Sources for Mass Spectrometry", RSC Analytical Spectroscopy Monographs, ed. N.W. Barnett, Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 1995
- 33) R.K. Marcus, "Glow Discharge Spectroscopies", Plenum, New York, 1993
- 34) R.G. Wilson, F.A. Stevie and C.W. Magee, "Secondary Ion Mass Spectrometry", Wiley, New York, 1989
- 35) A. Vertes, R. Gijbels and F. Adams, "Laser Ionization Mass Analysis", Wiley, New York, 1993