

ALCANCES Y LIMITACIONES DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS Y LA RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR EN EL ANÁLISIS ESTRUCTURAL



Jorge Antonio
Guerrero Álvarez

Centro de Investigaciones Químicas
IICBA UAEM, Av. Universidad 1001
Chamilpa, Cuernavaca Morelos México
C.P. 62209.

jguerrero@uaem.mx

Sin duda, el conocimiento de la estructura química es parte fundamental de los compuestos químicos, debido a que nos ayuda a predecir, conocer y establecer su comportamiento. Muchos años atrás, era casi imposible conocer la estructura exacta de un compuesto, pues eran necesarias un sinnúmero de pruebas y experimentos complicados y extenuantes. La difracción de Rayos X, Espectroscopía Infrarroja (IR) y Ultravioleta Visible (UVvis) eran las técnicas de caracterización estructural anteriores más empleadas, aunque no eran totalmente concluyentes, pero alrededor de los años 1950, debido al desarrollo de la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y la Espectrometría de Masas (EM) el análisis y asignación de la estructura química de los compuestos se simplificó en gran medida debido a la alta sensibilidad y capacidad de resolución de las dos últimas. Hoy en día, todo centro de investigación tiene uno o más de estos equipos analíticos, los cuales son imprescindibles para la elucidación estructural.

Los compuestos químicos obtenidos de la síntesis, de la extracción de fuentes naturales, pueden representar desde estructuras sencillas hasta muy complejas en tamaño y forma, por lo tanto, se deben elegir las técnicas adecuadas para su análisis. Las técnicas analíticas espectroscópicas presentan ciertas ventajas y limitaciones que es necesario considerar al momento de seleccionar la más adecuada para resolver la estructura, determinar alguna propiedad importante o su comportamiento frente a un sistema o medio particular. Sin duda, la aplicación de cada una de estas técnicas es dependiente de la sensibilidad, la resolución y el alcance del estudio o análisis.

Espectrometría de Masas

La EM se basa en la detección de la masa de fragmentos de la molécula a los que se les indujo la formación de una carga positiva a través de un flujo de electrones. Estos fragmentos adquieren una alta energía cinética y reactiva, por lo que la principal desventaja de esta técnica es la baja estabilidad de dichos fragmentos y tiempos de existencia o de vida muy breves, lo que conlleva que se tenga una baja reproducibilidad de los métodos.

Como se puede advertir, la técnica de EM es destructiva, es decir, la sustancia a analizar al ser fragmentada deja de tener las sus características estructurales originales y es a partir de los fragmentos que se indaga la estructura original. Al inicio, esta condicionante se consideró una desventaja que consumiría cantidades importantes de compuestos de interés, sin embargo, hoy en día la técnica utiliza cantidades en el rango de picogramos, lo cual representa un sacrificio mínimo de una sustancia.

Como se dijo antes, la estabilidad de los fragmentos es un factor importante en la utilidad de la EM. Un fragmento de una molécula puede ser tan inestable y tener una existencia tan breve que existe la posibilidad de no ser detectado y/o generar otros fragmentos. El primer fragmento que se forma casi siempre es la molécula íntegra con una carga, a esta especie se le llama “ion molecular”, es por eso que la elección de un método de ionización adecuado para la formación de un ion molecular estable garantiza en gran medida el éxito de su detección. Existen un gran número de métodos de ionización, tales como: impacto electrónico (EI), ionización química (CI), bombardeo por átomos acelerados (FAB), electrospray (ESI), desorción por

láser con matriz asistida (MALDI), y varios más generados por la modificación de los primeros. Cada uno de estos modos de ionización utiliza condiciones particulares para la generación del ion molecular, por lo tanto, es de suma importancia conocer las características fisicoquímicas del compuesto para elegir el método adecuado. Posteriormente, los analizadores y detectores juegan un papel importante en la separación y determinación de los iones.

El método de ionización por impacto electrónico ha sido muy utilizado desde el inicio y hasta hoy en día, debido a que por medio del análisis de sus fragmentos es posible determinar la estructura de un compuesto. La formación de fragmentos se genera principalmente por la gran energía utilizada para la ionización (70 eV), sin embargo, esto genera una gran inestabilidad del ion molecular. Para compuestos químicos cercanos a 500 g/mol ha sido posible observar su ión molecular con baja abundancia, si se utiliza un potencial 10-15 eV. Los otros métodos utilizan diferentes condiciones de ionización y baja energía para generar el ión molecular más estable, sin embargo, generan una cantidad baja de fragmentos. El ión molecular generado por métodos de ionización denominados suaves (CI, FAB, ESI y MALDI), generalmente se forma por la ganancia o pérdida o de un hidrógeno. Las técnicas ESI y MALDI son usadas para moléculas de gran tamaño (de miles de unidades de masa atómica), las cuales generan especies con multi cargas.

Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

La Resonancia Magnética Nuclear es la técnica de elucidación estructural por excelencia. Existen un gran número de experimentos de una (1D), dos (2D) y tres (3D) dimensiones. Los experimentos en 3D son capaces de dilucidar estructuras químicas de gran tamaño como las proteínas. Desde sus inicios, la RMN fue considerada como una técnica “prácticamente insensible” comparada con las demás, sin embargo, debido al desarrollo de imanes superconductores que generan campos magnéticos potentes y estables, a la generación de nuevos sistemas de pulsos y la transformada de Fourier, fue posible el impulso y la generación de un sinfín de aplicaciones de esta técnica analítica, pero también debido a la necesidad de utilizar líquidos criogénicos como helio y nitrógenos, para generar y

mantener activos los altos campos magnéticos de los imanes superconductores, es una técnica muy costosa, sin embargo, sus múltiples aplicaciones hace que la relación costo/beneficio sea muy aceptable y, por lo tanto, que la inversión en esta técnica sea muy justificable.

Mientras que la RMN presenta muy baja sensibilidad, pero buena resolución; su principal ventaja es que se pueden analizar las muestras en solución y en estado sólido. Tal vez el costo de estas pudiera representar una limitante respecto a las demás técnicas, no obstante, son las más desarrolladas debido a su diversidad de aplicaciones.

La sensibilidad para detección de una señal por RMN depende de varios factores, entre los más importantes a considerar serían: núcleos con un spin diferente de cero, alta abundancia isotópica natural, campos magnéticos intensos o fuertes, entre otras. Es importante señalar que la baja sensibilidad de la RMN proviene principalmente de la poca diferencia poblacional de espines entre los estados energéticos de transición, la cual se aumenta con el incremento del campo magnético, pero aun así sigue siendo poco sensible respecto a las otras técnicas.

La buena resolución de sus señales hace posible diferenciar núcleos muy cercanos en frecuencia, además permite analizar las interacciones que se presentan entre núcleos diferentes por medio de la multiplicidad, esta correlación es de suma importancia para elucidar la estructura molecular de los compuestos químicos.

Para analizar, caracterizar o elucidar completamente una estructura molecular por RMN, es necesario medir o determinar varios parámetros espectrales, tales como: desplazamiento químico, multiplicidad y constantes de acoplamiento, integral, tiempo de relajación y ancho de señal. Cada uno de estos parámetros nos da información estructural, por ende, es posible determinar un gran número de propiedades moleculares. El desplazamiento químico determina el ambiente químico del núcleo y propiedades como: acidez, basicidad y reactividad. Las constantes de acoplamiento y la multiplicidad de la señal determinan la conectividad con núcleos vecinos y posición. Además, por medio de esta técnica es posible,

determinar procesos cinéticos y dinámicos de moléculas en solución (cambios conformacionales, interacciones de fármacos, titulaciones en tiempo real, energías de activación, seguimientos de reacción, entre otros), esto representa una gran ventaja respecto a las otras técnicas.

Existen un gran número de experimentos de ^1H , ^{13}C y hetero-nucleares en RMN en una dimensión, así como experimentos de correlación mono y hetero-nucleares bidimensionales los cuales son necesarios para elucidar completamente la estructura de moléculas. Sin embargo, para elucidar estructuras de gran tamaño como las macromoléculas, es necesario experimentos de correlación de tres núcleos (por ejemplo: ^1H , ^{13}C y ^{15}N), es decir, espectros en tres dimensiones. Para elucidar macromoléculas como las proteínas, se requieren imanes con alto campo magnético y sondas criogénicas; esto genera un aumento en la sensibilidad y una disminución del ruido electrónico, respectivamente.

La RMN y MS son utilizadas en varias áreas de las ciencias, tales como: química, física, farmacología, astronomía, geología, biología, medicina, tecnologías de alimentos, y varias más derivadas de estas. Sus aplicaciones son muy extensas y particulares, de las que podemos mencionar las siguientes: identificar y cuantificar compuestos químicos, análisis de fármacos, monitorear reacciones y formación de gases en procesos químicos o biológicos, determinación de composición de materiales del espacio, determinación de adulteraciones en alimentos, análisis de metabolitos, determinación de nominaciones de origen, análisis de precursores de petróleo en rocas, detección de contaminantes ambientales, entre muchas más aplicaciones.

Sin duda, una de las aplicaciones más relevantes de la RMN en el siglo XX fue el desarrollo de la Resonancia Magnética de Imagen (RMI), una técnica muy usada para diagnóstico médico. La RMI es una técnica de diagnóstico que no usa radiación ionizante y, por lo tanto, no es invasiva.

Bibliografía:

- Introduction to Organic Spectroscopy; Lawrence Harwood and Timothy Claridge., *Oxford University Press editorial*, **1997**.
- Mass Spectrometry, Principle and Applications; E. de Hoffmann, V. Stroobant, *Third edition, Wiley editorial*, **2007**, UK.
- Understanding Mass Spectra: a basic approach; R. Martin Smith. *First edition, Wiley- Interscience editorial*, **2004**, USA.
- Organic structure from spectra; L. D. Field, S. Sternhell y J. R. Kalman, *First edition, John Wiley and Sons LTD editorial*, **2007**, USA.
- Organic Structural Spectroscopy, Joseph B. Lambert, Herbert F. Shurvell, David A. Lightner and R. Graham Cooks. *Prentice Hall editorial*, **1998**, USA.
- Introduction to Spectroscopy, Donald L. Pavia, Gary M. Lampma, George S. Kriz, James R. Vyvyan, *Books/Cole Editorial, Fourth Edition*, EEUU.
- NMR Spectroscopy: basic principles, concepts and applications in chemistry; Harald Günther, *Third Edition, Wiley-VCH editorial*, **2013**, Germany.
- Modern NMR Spectroscopy_ A Workbook of Chemical Problems; Jeremy K. M. Sanders, Edwin C. Constable, Brian K. Hunter, Clive M. Pearce, *second edition, Oxford University Press editorial*, **1993**, USA.