



Universidad de Jaén

Facultad de Ciencias
Experimentales

**APLICACIONES DE LA DESCARGA DE
BARRERA DIELECTRICA COMO
FUENTE DE IONIZACIÓN EN
CROMATOGRAFÍA
LÍQUIDA/ESPECTROMETRÍA DE MASAS**

Autor: Julio García Martínez

Fecha: 26/07/2024

RUJJA

Los doctores Bienvenida Gilbert López, Profesora Titular de Universidad, y Marcos Bouza Areces, investigador postdoctoral, ambos del Área de Química Analítica de la Universidad de Jaén,

Informan:

Que la Tesis Doctoral titulada “**Aplicaciones de la descarga de barrera dieléctrica como fuente de ionización en cromatografía líquida/espectrometría de masas**”, realizada por D. Julio García Martínez, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Jaén, ha sido desarrollada bajo su inmediata dirección y supervisión, en el Departamento de Química Física y Analítica de la Universidad de Jaén.

Mediante la firma de este documento, doctorando y directores declaran que el trabajo es de autoría propia, y que, hasta donde alcanza su conocimiento, cuando se han consultado o utilizado trabajos de otros autores, estos han sido citados adecuadamente.

En Jaén, a 26 de julio de 2024

Fdo. Bienvenida Gilbert López

Fdo: Marcos Bouza Areces

Fdo. Julio García Martínez

Financiación

Los trabajos presentados en esta Tesis Doctoral se han llevado a cabo gracias a la financiación recibida a través de los siguientes proyectos de investigación:

- Proyecto TImPANI (*Twining in Atmospheric Pressure Plasma Science and its Applications*), financiado por la Comisión Europea (Programa H2020 WIDESPREAD-05-2017); identificador del acuerdo de subvención: 810686.
- Proyecto Plan Nacional titulado *Nuevos desarrollos de ionización en espectrometría de masas basadas en el uso de plasmas miniaturizados* (Ref. PID2019-107691RB-I00), financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades y la Agencia Estatal de Investigación (MCIN/AEI/10.13039/501100011033).

La publicación en acceso abierto de las contribuciones científicas derivadas de esta Tesis Doctoral ha sido financiada por el Consorcio de Bibliotecas Universitarias de Andalucía (CBUA).

AGRADECIMIENTOS

Las líneas escritas a continuación, aunque plasmadas al principio de esta memoria, reflejan todo el proceso que ha supuesto la presente Tesis Doctoral, desde su inicio hasta la defensa; incluyendo a las instituciones y a todas y cada una de las personas que me han brindado su apoyo en el transcurso de la misma:

En primer lugar, me gustaría agradecer a mis directores de Tesis Prof. Bienvenida Gilbert López y Dr. Marcos Bouza Areces el magnífico trabajo que han hecho al guiarme en este camino tan pedregoso, enseñándome cada día algo nuevo y dándome un voto de confianza en los momentos más duros. También es de agradecer que, ni cuando yo mismo me veía capaz de hacer algo, hayáis estado ahí brindándome vuestro apoyo y las ganas de seguir. Bienve, gracias por enseñarme tanto de la vida y nuestras charlas siendo unos “deslenguaos” y malas influencias. Marcos, serás siempre mi patrón por cómo me has guiado, todo lo que he aprendido de ti y tu ayuda; me siento afortunado de que llegases y poder compartir esta Tesis, además de ver cómo has conseguido lo que te has propuesto. Si alguna vez fui un dolor de cabeza para ambos de los de paracetamol cada 6-8 horas y mucho agua...disculpádmeme.

Gracias Juanfran por darme la oportunidad de iniciarme y guiarme en el amplio mundo de la investigación, así como el poner a mi disposición un equipo con el que trabajar y desarrollar esta Tesis. Me conformo con llevarme de esta etapa una milésima parte de todo el conocimiento y la capacidad de trabajo que tienes.

A Antonio Molina, eres un ejemplo como persona en todos los sentidos; he podido comprobar de primera mano tu humildad, honradez y calidad humana. Gracias por el apoyo y tu comprensión durante todo este tiempo y sobre todo por sacarnos a todos una sonrisa en mejores o peores momentos.

Gracias a toda la gente con la que he compartido horas y horas, tanto dentro como fuera del laboratorio. Delia y David, gracias por las clases de fontanería premium y por ofrecerme vuestra ayuda siempre que la he necesitado. Miriam, gracias también a ti por las charlas que tuvimos y enseñarme cómo una persona puede fumarse un cigarro en un minuto escaso cuando el estrés aprieta. Gracias Ana y Priss, por todos los momentos (buenos y peores) en los que habéis estado ahí; qué suerte poder haber coincidido con vosotras en esta vida bambolonas, todo lo que os diga

se queda corto (quién me iba a decir que me iba a encariñar con una de Murcia y otra de Canarias...). Por cierto, ¿quién me cuida ahora que voy a ser doctor? Gracias a mi Co-Directora Consorte, Vero, y a mi Patrón, por todos los momentos que hemos compartido riendo, desahogándonos y hablando de todo en general y de nada en particular. A los chicuelos, Alfonso e Irene (*a.k.a.* esclava ingrata/reina del drama/rayito), gracias también por estar aguantándome en el 107; nadie tiene la verdad absoluta y, os aseguro, que de vosotros también he aprendido muchísimo (incluso a hacer stickers de cada situación o saber QUE NO ES DE COLOR). No cambiéis jamás y confiad en vosotros porque tenéis muchísimo potencial que no se puede desaprovechar. Mucha fuerza y paciencia porque sé que lo haréis genial en vuestras respectivas Tesis. No puedo olvidarme de los visitantes que han pasado por el laboratorio: Ines, Ody, Lu, etc. *Grazzie mille ed è facile fare...!*

Gracias también por los años compartidos en la pasarela con la fruta y el café a Mada, Alba y Pilar. A los dos primeras, gracias también por ser mi compañía en urgencias después de ciertos accidentes con vapores no muy saludables de por medio. Siempre quedará en el recuerdo el día que me paseé por la Universidad y por medio Jaén hasta el hospital en "bata". ¡Menos mal que podemos recordarlo entre risas! También dar las gracias a Juan Ortega, por ser mi proveedor de disolventes orgánicos cuando necesitaba hacer experimentos rápidos y sencillos.

Sara, mil gracias por todo siempre. Cada momento, cada llamada, cada regañina, cada mensaje en los que has estado apoyándome desde que empecé esta Tesis (y mucho antes) te lo debería agradecer durante muchas vidas y me seguiría faltando tiempo para ello. Gracias por las nociones de Origin y hacer gráficas mucho más profesionales, además de aportar tu ojo clínico en otros aspectos, como los diseños de las presentaciones o decirme que los colores que elijo no te gustan. Sé que contigo pude, puedo y podré contar siempre. Porque como alguien dijo alguna vez: *no es necesario tener principios, lo importante es tener finales*. GRACIAS.

Mariloli, contigo me voy a poner igual de moñas porque eres una amiga con mayúsculas, aunque seas orgánica. Gracias por estar ahí cuando lo necesitaba, hablándote de cosas abstractas y de otras con más sentido. Porque hasta yo he acabado enterándome de cómo funcionalizar polímeros de esos raros (pista: no).

Gracias también a mis amigos de la piara abstractos, por los momentos de desconexión que han sido tan necesarios y que me han ayudado tanto. Mención especial a Eladio, no tengo palabras suficientes para agradecerte todas nuestras conversaciones y tu apoyo durante todo el tiempo en que nos conocemos.

Jennifer, gracias a ti por tu apoyo en los momentos duros y de agobio; esas cervezas y charlas siempre ayudan, aunque no comprendas de qué va el asunto. Gracias por estar.

No nos olvidemos de D. Jorge Salvador Molpeceres, gracias por la confianza y por darme la oportunidad de trabajar en algo que me encanta. Te di mi palabra de que defendería la Tesis y que tendrías tu hueco en los agradecimientos, así que aquí lo tienes.

Gracias a toda mi familia por el apoyo y el orgullo que sentís por mí, especialmente a mi abuela (Sibi); porque sé que esto te hace más ilusión incluso que a mí mismo. Gracias a todos los que estuvieron y ya no pueden estar para ver hasta dónde he llegado.

Por último, pero más importante, me faltan palabras para agradecer a mis padres, Encarni y Miguel Ángel, todo el apoyo y la confianza que han tenido siempre en mí. Gracias por enseñarme lo que significa tener vigor, firmeza y constancia. Porque me habéis enseñado desde siempre que el esfuerzo tiene su recompensa y que nada se regala, por eso este logro también es vuestro. Ana, no me olvido de ti, gracias por estar ahí sin tener que decir nada; los dos sabemos que tener un título de estos no nos hace ni más listos ni mejores personas y, por eso, tú jamás lo has necesitado.

De nuevo, GRACIAS a todas y cada una de las personas a las que he nombrado anteriormente (incluso de los que me haya olvidado). Que estas palabras sirvan para que cualquiera que las lea pueda sentir la misma gratitud y cariño que yo tengo hacia todos ellos.

Os quiero.

Julio

*“Good, Better, Best.
Never let it rest,
‘til your good is better
And your better is best”*

Michael Robinson

A mi familia

ÍNDICE

| | |
|--|-----------|
| I. Resumen | 23 |
| II. Summary | 29 |
| III. Introducción | 33 |
| III.1. Introducción a la espectrometría de masas. | 33 |
| III.2. Instrumentación en MS | 36 |
| III.2.1. Analizadores de masas | 37 |
| III.2.2. Espectrometría de masas en tándem (<i>MS/MS</i>) | 44 |
| III.3. Ionización en MS | 45 |
| III.3.1. Ionización electrónica (<i>Electron Ionization – EI</i>) | 46 |
| III.3.2. Ionización química (<i>Chemical Ionization – CI</i>) | 47 |
| III.3.3. Ionización/Desorción por láser asistida por una matriz (<i>matrix-assisted laser desorption ionization – MALDI</i>) | 48 |
| III.3.4. Fuentes de ionización a presión atmosférica (<i>Atmospheric Pressure Ionization – API</i>) | 49 |
| III.3.4.1. Ionización por electrospray (<i>ESI</i>). | 50 |
| III.3.4.2. Ionización química a presión atmosférica (<i>atmospheric pressure chemical ionization – APCI</i>). | 52 |
| III.3.4.3. Fotoionización química a presión atmosférica (<i>Atmospheric Pressure Photoionization – APPI</i>). | 54 |
| III.3.5. Espectrometría de masas en condiciones ambientales (<i>ambient ionization mass spectrometry – AIMS</i>) | 57 |
| III.4. Descarga de Barrera Dieléctrica como método de ionización en MS | 61 |
| III.4.1. Descarga de barrera dieléctrica (<i>DBD</i>) y principales aplicaciones | 61 |
| III.4.2. Uso de DBD en Química Analítica | 64 |
| III.4.3. Diseño de la fuente DBD para aplicaciones en MS | 68 |
| III.4.4. Principales parámetros de una fuente basada en DBD | 69 |
| III.4.4.1. Configuraciones básicas empleadas en DBD | 73 |
| III.4.4.2. Regímenes de los plasmas generados mediante DBD capilar | 75 |
| III.4.4.3. Modos de operación de la descarga | 76 |
| III.4.5. Principales diseños empleados en DBDI | 78 |
| III.4.5.1. Ionización por descarga de barrera dieléctrica “pin-to-plate” (<i>Dielectric Barrier Discharge Ionization – DBDI</i>) | 78 |
| III.4.5.2. Plasma de baja temperatura (<i>Low Temperature Plasma – LTP</i>) | 79 |
| III.4.5.3. Ionización por descarga de barrera dieléctrica “ring-to-ring” (<i>Dielectric Barrier Discharge Ionization – DBDI</i>) | 81 |

| | |
|--|------------|
| III.4.5.4. Ionización por plasma con capilar activo (Active Capillary Plasma Ionization – ACPi) | 82 |
| III.4.5.5. Plasma por microtubo flexible (Flexible Microtube Plasma – F μ TP) | 84 |
| III.4.6. Mecanismos de ionización | 85 |
| III.5. DBD como fuente de ionización en cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas (LC-DBD-MS) | 87 |
| III.6. DBD como fuente de ionización en cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-DBD-MS) | 91 |
| III.7. DBD como fuente de ionización en espectrometría de masas en condiciones ambientales | 94 |
| III.8. Referencias bibliográficas | 98 |
| IV. Objetivos | 125 |
| V. Resultados y discusión | 129 |
| V.1. Mecanismos de ionización en descarga de barrera dieléctrica: hidrocarburos policíclicos aromáticos como caso de estudio. | 131 |
| V.1.1. Resumen | 132 |
| V.1.2. Abstract | 133 |
| V.1.3. Introduction | 133 |
| V.1.4. Experimental | 135 |
| V.1.5. Results and discussion | 137 |
| V.1.6. Conclusions | 146 |
| V.1.7. References | 147 |
| V.1.8. Supporting information | 151 |
| V.2. Cromatografía líquida – espectrometría de masas con ionización de descarga de barrera dieléctrica para el análisis de lípidos neutros de interés arqueológico. | 157 |
| V.2.1. Resumen | 158 |
| V.2.2. Abstract | 159 |
| V.2.3. Introduction | 159 |
| V.2.4. Materials and methods | 160 |
| V.2.5. Results and discussion | 163 |
| V.2.6. Concluding remarks | 171 |

| | | |
|-------------|---|------------|
| V.2.7. | References | 171 |
| V.2.8. | Supporting information | 175 |
| V.3. | Cromatografía líquida – espectrometría de masas con ionización de descarga de barrera dieléctrica para el análisis de plaguicidas que no son fácilmente ionizables por electrospray. | 181 |
| V.3.1. | Resumen | 182 |
| V.3.2. | Abstract | 183 |
| V.3.3. | Introduction | 183 |
| V.3.4. | Experimental | 184 |
| V.3.5. | Results and discussion | 187 |
| V.3.6. | Concluding remarks | 197 |
| V.3.7. | References | 197 |
| V.3.8. | Supporting information | 200 |
| VI. | Conclusiones | 211 |

RESUMEN

I. Resumen

Las técnicas cromatografía líquida (*liquid chromatography - LC*) y cromatografía de gases (*gas chromatography - GC*) acopladas a espectrometría de masas (*mass spectrometry - MS*), son dos de las más empleadas en la determinación de contaminantes orgánicos en alimentos. La demanda constante de adaptación de los métodos analíticos a los cambios normativos buscando la protección de la salud de los consumidores conlleva una constante evolución de las técnicas de análisis. En ese sentido, la necesidad de flexibilizar la capacidad de análisis, concretamente de LC-MS, ha propiciado el desarrollo de nuevas fuentes de ionización, siendo un ejemplo de ello las basadas en plasmas generados por descarga de barrera dieléctrica (DBD).

La ionización por descarga de barrera dieléctrica (*dielectric barrier discharge ionization - DBDI*) ha mostrado potencial como alternativa a las fuentes de ionización convencionales de LC-MS, principalmente la ionización por electrospray (ESI). La ionización en ESI se produce en disolución, lo que hace que su aplicación a analitos de polaridad media o baja sea limitada. Para este tipo de analitos se puede utilizar la fuente convencional de ionización química a presión atmosférica (*atmospheric pressure chemical ionization - APCI*), pero ésta no puede ser empleada para compuestos que sean inestables térmicamente. Tanto en APCI como en DBDI la ionización se producen en fase gaseosa, pero estudios previos han demostrado una mayor versatilidad de DBDI. Las fuentes DBDI permiten la incorporación de la detección de compuestos generalmente analizados por GC-MS (*p.ej.* plaguicidas, compuestos organoclorados, hidrocarburos policíclicos aromáticos, lípidos, etc.). En comparación con ESI, estas fuentes basadas en ionización por plasma tienden a formar menos aductos moleculares y sufrir efecto matriz severo, permitiendo desarrollar métodos analíticos más sensibles y que cubran un mayor rango de polaridad de los analitos. Además, este tipo de fuentes pueden ser utilizadas para análisis de compuestos en MS en condiciones ambientales (*ambient mass spectrometry - AIMS*), es decir, sin utilizar una etapa de separación previa ni realizando un tratamiento de muestra.

El primer acoplamiento de una fuente DBDI con MS se dio en el año 2007. La novedad y potencial de este tipo de acoplamientos permite un amplio campo de aplicación, como su acoplamiento a LC. El objetivo principal de la presente Tesis Doctoral consistió en la profundización y utilización de los mecanismos de ionización de las fuentes basadas en DBD acopladas a LC-MS. La investigación se centró en la caracterización analítica de las mismas evaluando la influencia de parámetros fundamentales para las fuentes DBDI, como los gases de descarga, y comparando su comportamiento con fuentes de ionización comerciales en LC-MS como son ESI y APCI. Todo

ello, ha permitido el desarrollo de nuevos métodos analíticos empleando el acoplamiento LC-DBDI-MS para la determinación de compuestos de diversa índole en matrices agroalimentarias y muestras de importancia arqueológica.

Los principales hallazgos de la presente Tesis Doctoral se detallan a lo largo de tres capítulos, cuyos resultados se han difundido a través de tres artículos científicos publicados en revistas de alto impacto en el ámbito de la Química Analítica.

En el **capítulo V.1** se presenta el estudio de los mecanismos de ionización asociados a una fuente DBDI con una configuración de dos anillos. Para ello, se han evaluado las reacciones químicas a presión atmosférica asociadas a distintos gases de descarga, como helio o una mezcla de argón-propano. Uno de los procesos fundamentales que diferencian las fuentes ESI de las basadas en plasma es la capacidad de formar iones radicales ($[M]^{\cdot+}$). En este trabajo, se utilizaron hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs, por sus siglas en inglés) como analitos modelo, dada su facilidad para permutar entre la formación del ion protonado ($[M+H]^+$) y el ion radical $[M]^{\cdot+}$, en función de las condiciones de análisis. En este caso, se ha reproducido una estrategia utilizada en fotoionización a presión atmosférica (APPI) donde se introducen sustancias dopantes con bajos potenciales de ionización y facilidad para formar iones radicales, como el anisol, favoreciendo este tipo de mecanismos de ionización.

En el **capítulo V.2**, se recoge el desarrollo de un método para la determinación de lípidos neutros utilizando LC-MS de alta resolución con una fuente de ionización DBDI. Generalmente, este tipo de compuestos, dada su baja polaridad, son analizados mediante GC-MS o por LC-APCI-MS. Los resultados obtenidos mediante DBDI presentaron mejores prestaciones en términos de sensibilidad y precisión para los estándares inyectados, en una comparación con la fuente APCI. El método desarrollado se aplicó para determinar la presencia de lípidos neutros, especialmente glicerolípidos, en muestra de recipientes con interés arqueológico, y así poder evaluar el origen vegetal o animal del material almacenado en estos.

Por último, en el **capítulo V.3** se muestra el estudio del potencial de una nueva fuente de ionización miniaturizada basada en DBD: el plasma de microtubo flexible (F μ TP, por sus siglas en inglés). Ésta se ha aplicado a la determinación, mediante LC-MS, de plaguicidas de la familia de las ftalimidias, difíciles de ionizar mediante técnicas comercialmente implementadas como ESI o APCI. Esta clase de plaguicidas presentan baja polaridad y son termolábiles, lo que dificulta su análisis mediante GC-MS, técnica alternativa a LC-MS. En este trabajo, se evaluaron los mecanismos de ionización de la fuente comercial, APCI, y dos fuentes de ionización basadas en DBD: DBDI y

F μ TP. Los resultados de la investigación mostraron una mayor capacidad de ionización de las fuentes DBD, especialmente notable en el caso del F μ TP, permitiendo una mejora en la sensibilidad de la detección de ftalimidas, así como una disminución del efecto matriz presentado al analizar muestras reales agroalimentarias.

SUMMARY

II. Summary

Liquid chromatography (LC) and gas chromatography (GC) coupled with mass spectrometry (MS) represent two of the most commonly employed analytical techniques for determining organic contaminants in food. The constant demand to adapt methods to regulatory updates for consumer health protection entails continual evolution of analytical techniques. In this context, the need to enhance the flexibility of LC-MS analysis has driven the development of new ionization sources, such as those based on plasmas generated by dielectric barrier discharge (DBD).

Dielectric barrier discharge ionization (DBDI) has shown potential as an alternative to conventional LC-MS ionization sources, mainly electrospray ionization (ESI). In ESI, ionization takes place in solution, and consequently its application to analytes of medium or low polarity is limited. For this type of analytes, the conventional atmospheric pressure chemical ionization (APCI) source can be used, except for compounds that are thermally unstable. In both APCI and DBDI the ions are produced in the gas phase, but previous studies have shown greater versatility of DBDI. DBDI sources enable the detection of compounds typically analyzed by GC-MS (e.g., pesticides, organochlorine compounds, polycyclic aromatic hydrocarbons, lipids, etc.). Compared to ESI, these plasma-based ionization sources tend to form fewer molecular adducts and suffer less from matrix effects, facilitating the development of more sensitive analytical methods that cover a wider range of analyte polarities. Additionally, these sources can be used for compound analysis in MS under ambient conditions, without requiring prior separation or sample treatment.

The first coupling of a DBDI source with MS occurred in 2007. The novelty and potential of such couplings allow for a broad field of applications, including coupling with LC. The main objective of this PhD Thesis was to deepen and utilize the ionization mechanisms of DBD-based sources coupled to LC-MS. The research focused on the analytical characterization of these sources, evaluating the influence of fundamental parameters for DBDI sources, such as discharge gases, and comparing their performance with commercial ionization sources in LC-MS, such as ESI and APCI. This has enabled the development of new analytical methods employing LC-DBDI-MS coupling for the determination of various compounds in food and archaeologically significant matrices.

Therefore, the main findings of this Doctoral Thesis are detailed throughout three chapters, which correspond to three scientific articles published in high-impact journals in the field of Analytical Chemistry.

In **chapter V.1**, the ionization mechanisms associated with a two-ring DBDI source have been evaluated. This involved evaluating atmospheric pressure chemical reactions associated with different discharge gases, such as helium or an argon-propane mixture. A fundamental process differentiating ESI from plasma-based sources is their ability to form radical ions ($[M]^{\cdot+}$). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) were used as model analytes due to their ability to switch between protonated ion ($[M+H]^+$) and radical ion $[M]^{\cdot+}$ formation depending on analysis conditions. This study reproduced a strategy used in atmospheric pressure photoionization (APPI), where dopants with low ionization potentials and a tendency to form radical ions, such as anisole, were introduced to promote such ionization mechanisms.

Chapter V.2 discussed the development of a method for determining neutral lipids using high-resolution LC-MS with a DBDI source. Generally, such low-polarity compounds are analyzed by GC-MS or LC-APCI-MS. The results obtained with DBDI showed better performance in terms of sensitivity and precision of the injected standards compared to the APCI source. The developed method was applied to determine the presence of neutral lipids, particularly glycerolipids, in archaeological vessel samples to evaluate the origin, whether plant or animal, of the stored material.

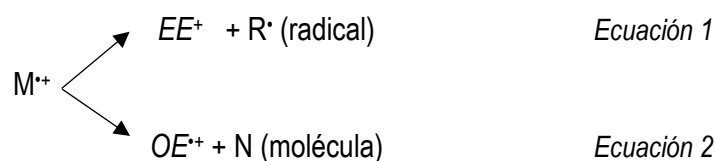
Lastly, **chapter V.3** explores the potential of a new miniaturized ionization source based on DBD, the flexible microtube plasma (F μ TP). This was applied to the determination of phthalimide pesticides, which are difficult to ionize using commercially implemented techniques like ESI or APCI. These pesticides exhibit low polarity and are thermally labile, complicating their analysis by GC-MS, an alternative technique to LC-MS. This study evaluated the ionization mechanisms of the commercial APCI source and two DBD-based ionization sources: DBDI and F μ TP. The results demonstrated a higher ionization capacity of the DBD sources, particularly notable in the case of F μ TP, leading to improved sensitivity in phthalimide detection and a reduction in the matrix effect when analyzing real agricultural food samples.

INTRODUCCIÓN

III. Introducción

III.1. Introducción a la espectrometría de masas.

La espectrometría de masas o MS es una técnica analítica instrumental que se caracteriza por su gran sensibilidad, así como la capacidad de identificación y cuantificación de múltiples analitos, a bajas concentraciones en mezclas complejas. El principio en que se basa es la separación y determinación simultánea de iones (moléculas con carga eléctrica neta [1]), en función de su relación *masa/carga* (m/z) y su abundancia; representando abundancia frente a m/z , se obtiene el espectro de masas de la molécula estudiada. Para que se produzca su detección, el compuesto de interés debe ser ionizado en fase gaseosa [2] y, dependiendo de las condiciones empleadas, se generará una mayor o menor fragmentación del mismo [2]. Según este proceso de fragmentación, la especie ionizada podrá generar otro ion con número par de electrones (*even electron ion – EE*) y un radical (R), o bien, se producirá una especie con número impar de electrones (*odd electron ion – OE*) y una molécula (N).



Cada una de estas especies producidas tendrán unas propiedades químicas distintas entre sí, como por ejemplo la polaridad de los analitos. En el apartado III.3. de esta Tesis se profundizará en los principales tipos de ionización que se utilizan en MS.

A finales del siglo XIX, se producen dos descubrimientos cruciales para el nacimiento de la MS: en 1897, J.J. Thomson observa por primera vez un electrón y establece su relación m/z [3] y, en 1898, W. Wien demostró que, al reflectar rayos anódicos a través de un campo eléctrico y/o magnético, estos presentaban una carga positiva [2]. A raíz de esto, Thomson construye el primer espectrómetro de masas en 1912, con el que obtiene los espectros de O₂, N₂, CO, CO₂ y COCl₂ [4]; en este experimento consigue observar especies cargadas negativamente e iones con carga múltiple. Durante la primera mitad del siglo XX, la MS sufrió un continuo desarrollo gracias a su uso en la identificación de masas moleculares en el ámbito de la química orgánica [5], así como la identificación de señales correspondientes a iones metaestables [6], acompañado de un constante diseño y desarrollo de nuevos y mejorados analizadores de masas. Hay resaltar que el primer analizador del que se tiene constancia es el *sector magnético* en 1918 [7], en el que el campo magnético generado separa los iones, con una trayectoria curvada, en base a su momento lineal.

Pasados unos años se desarrolló el analizador de tiempo de vuelo lineal (*Time Of Flight – TOF*) [8] y en 1949, se presentó el analizador de resonancia de ciclotrón iónico (*Ion Cyclotron Resonance – ICR*) [9]. Este último basado en la utilización de un campo magnético cuya frecuencia es igual a la de los iones, produciendo un aumento de la energía cinética de estos y, por ende, un aumento en el radio de la trayectoria circular que siguen, permitiendo la medición de ésta. En base a su energía cinética, cada ion deberá seguir una órbita distinta. Por último, en 1953, apareció otro de los analizadores con más uso hasta la fecha, el cuadrupolo [2], que será explicado en detalle, junto al analizador TOF, en el apartado **III.2.1**.

Sin embargo, la técnica alcanza su auge a finales de la década de 1950 y durante la década de 1960, gracias, entre otros hechos, a la comercialización de espectrómetros de masas con diversos analizadores, el desarrollo de nuevos tipos de ionización como la *ionización electrónica (electron ionization – EI)* y la *ionización química (chemical ionization – CI)* [10], la invención de la espectrometría de masas en tándem (*MS/MS*) [11] o el acoplamiento a técnicas de separación como GC o LC [12–16]. El conjunto de todos estos hitos permitió avanzar en el análisis estructural de compuestos, la determinación de analitos en mezclas complejas y su cuantificación. En los años posteriores, se descubrieron y desarrollaron diversos tipos de ionización empleados en MS como son, la ionización química a presión atmosférica (*Atmospheric Pressure Chemical Ionization – APCI*) [17], el bombardeo por átomos rápidos (*Fast atom bombardment – FAB*) [18], la ionización/desorción por láser asistida por una matriz (*Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization – MALDI*) [19, 20] y la ionización por electrospray aplicado a macromoléculas y moléculas de menor tamaño [21, 22].

En los últimos 20 años, se ha producido un destacado progreso técnico de los instrumentos de MS: la mejora de los analizadores y en la eficiencia del transporte de los iones, el diseño de nuevos analizadores como la trampa de iones lineal (*Linear Ion Trap – LIT*) [23], el analizador Orbitrap [24] o de la hibridación de distintos analizadores, como son el cuadrupolo-tiempo de vuelo (*Q-TOF*), el triple cuadrupolo (*QqQ*), la trampa de iones-tiempo de vuelo (*LIT-TOF*), etc. [2, 25]. Otro aspecto destacable de las últimas décadas ha sido la creación de una serie de librerías o bases de datos, de libre acceso, en las que quedan registrados los espectros de masas de una gran diversidad de compuestos químicos por parte de la comunidad científica. Entre las bases de datos más utilizadas para todo tipo de aplicaciones analíticas se encuentran: *NIST Mass Spectrometry Data Center*, *MassBank*, *Chemspider*, *mzCloud*, entre otras; también existen bases de datos para campos específicos, como metabolómica (*Human Metabolome Database – HMDB*, *METLIN Metabolomics Database*) [26].

Aunque ya aporta un alto nivel de especificidad dadas sus propiedades inherentes, la MS puede incrementar sus prestaciones si se utiliza acoplada con técnicas de separación, como GC, LC, electroforesis capilar (*Capillary Electrophoresis – CE*) y la espectrometría de movilidad iónica (*ion mobility spectrometry – IMS*). El primer acoplamiento realizado entre una técnica separativa y MS se realizó combinándola con GC (GC-MS) permitiendo el análisis de compuestos apolares, volátiles y térmicamente estables [27]. Sin embargo, no todas las moléculas son susceptibles de análisis mediante GC-MS y requieren una etapa adicional de derivatización que resultará en una mejor volatilidad de las moléculas, pero puede alargar los tiempos de preparación y análisis de muestras. Por este motivo, cada vez es más frecuente acoplar LC con MS (LC-MS) [28].

La MS destaca por ciertas características [2] tales como los bajos límites de detección, poca cantidad de muestra empleada, la velocidad de análisis, la aportación de información isotópica, su capacidad para diferenciar entre especies coeluidas en una técnica separativa, o la contribución en la elucidación estructural de compuestos mediante análisis MS/MS. Los campos de estudio en los que se usa ampliamente la MS son: la Química Analítica, dada su capacidad de determinación y cuantificación de compuestos en matrices complejas de diversa naturaleza, la ciencia forense, o el sector agroalimentario, aunque, por número de referencias en los últimos años, tanto la proteómica como la metabolómica son los campos en que más bibliografía se genera respecto a MS (Figura 1).

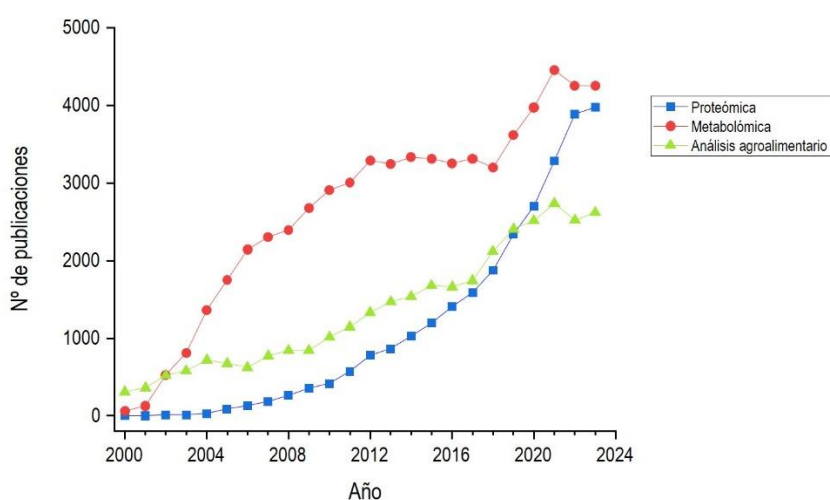


Figura 1. Número de publicaciones por año empleando MS en los campos de proteómica, metabolómica y análisis agroalimentario. (Fuente: Scopus, 24-07-2024; elaboración propia).

III.2. Instrumentación en MS

De forma general, un espectrómetro de masas consta de varios componentes, aunque los fundamentales son tres: la fuente de ionización, el analizador de masas y el detector. Estos dos últimos necesitan de un alto vacío, con presiones variables entre los 10^{-4} y 10^{-8} torr, reduciendo la probabilidad de neutralización y pérdidas de las especies generadas, electrones incluidos. En la **Figura 2** se muestra un diagrama general de un espectrómetro de masas.

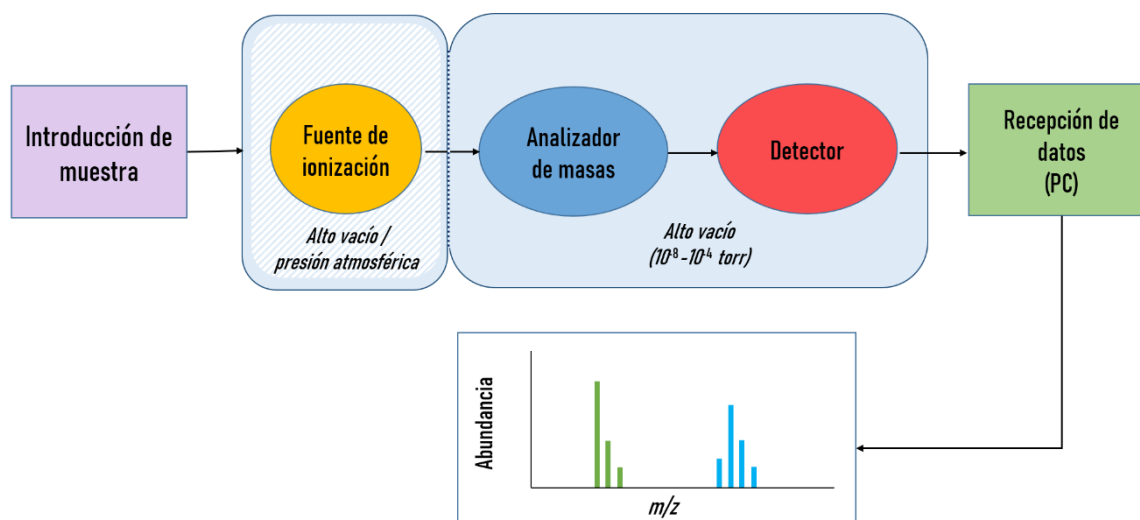


Figura 2. Esquema general de un espectrómetro de masas.

La etapa de ionización de un analito es la más importante en MS, dado que permite la formación de iones previa a su análisis y detección. Según el método de ionización empleado y sus características propias, hay innumerables fuentes de ionización; éstas podrán ser desarrolladas a presión atmosférica o en un alto vacío, influyendo directamente en la forma de introducir la muestra. Normalmente, la introducción de ésta puede realizarse de forma directa, o gracias a la mejoría que aportan en términos de especificidad y sensibilidad, también se acoplan a técnicas separativas como GC, LC o CE.

En cuanto a características generales de los procesos de ionización, las fuentes pueden agruparse en cuatro grupos principales: ionización electrónica, ionización química, ionización por electropulverización e ionización/desorción (**Tabla 1**). En el apartado **III.3.** se explicarán en mayor profundidad los tipos de ionización producidos y las fuentes de ionización empleadas para dicho fin.

Tabla 1. Clasificación de los principales tipos de ionización en MS molecular [29].

| Tipo de método | Especie ionizante | Estado de agregación de la muestra / Condiciones de presión | Ejemplo |
|--|-----------------------------------|---|---|
| Ionización electrónica (<i>Electron Ionization - EI</i>) | Electrones con elevada energía | Muestra en fase gas / Vacío | Ionización electrónica (<i>EI</i>) |
| Ionización química (<i>Chemical Ionization - CI</i>) | Especies iónicas en fase gas | Muestra en fase gas / Vacío o pres. atmosférica | Ionización química a presión atmosférica (<i>APCI</i>) |
| Ionización por electropulverización (<i>Spray Ionization - SI</i>) | Campo eléctrico / Gas nebulizador | Muestra en disolución / Presión atmosférica | Electrospray (<i>ESI</i>) |
| Ionización/Desorción (<i>Desorption Ionization - DI</i>) | Partículas energéticas / Fotones | Fase condensada / Vacío | Ionización/desorción por láser asistida por una matriz (<i>MALDI</i>) |

Los analizadores de masas, los cuales se detallarán en el siguiente apartado, son los encargados de realizar la separación de los distintos iones generados en la fuente para acabar guiándolos hasta los detectores. Estos últimos son la parte encargada de la transducción y amplificación de la detección de los iones para convertirla en una señal que pueda ser usada. Se pueden diferenciar distintos tipos de **detectores** en MS: la copa de Faraday, los de iones electro-ópticos o los multiplicadores de electrones, que son los más empleados en MS dada su alta eficacia [2, 30].

III.2.1. Analizadores de masas

Una vez que se han generado las distintas especies en fase gaseosa tras la etapa de ionización, éstas son transportadas a través del instrumento empleando un gradiente de vacío que disminuirá la posibilidad de colisiones, ayudadas por lentes iónicas; dichas lentes permitirán dirigir y/o enfocar los haces de iones e incluso variar su energía mediante la aplicación de un voltaje o campo magnético. Finalmente, las especies generadas deben llegar al **anализador de masas**.

El analizador es el encargado de separar los diferentes iones en función de su relación m/z , basándose en la aplicación de campos eléctricos y/o magnéticos (estáticos o dinámicos). Los analizadores de masas [2] se pueden diferenciar según parámetros como el *poder de resolución*, la *exactitud*, el *rango dinámico* y la *capacidad de tándem* [31].

- **Poder de resolución.** Capacidad de separar dos iones con m/z relativamente cercanas entre sí. Por tanto, para dos señales de igual altura, con relaciones m/z m_1 y m_2 , al haber una superposición entre ellos (un 10 % de la altura de pico, aproximadamente), el poder de resolución se define como [32]:

$$R = \frac{m_1}{m_1 - m_2} \quad \text{Ecuación 3}$$

Se considera que dos m/z consecutivas están separadas si la altura del valle entre ellas no es mayor de una fracción de su altura. Otra forma de calcular el poder de resolución es empleando una única señal con forma de pico, en el que Δm será la anchura del pico a la mitad de la altura (*full width half maximum – FWHM*) y m es el valor de m/z del pico seleccionado. Debe concretarse el método empleado, ya que mediante *FWHM* el poder de resolución será aproximadamente el doble que usando dos picos. Un espectrómetro de masas se considera de alta resolución si $R > 10000$ (*FWHM*), mientras que si $R < 10000$ (*FWHM*), será de baja resolución [2].

- **Exactitud.** Es la aproximación del valor experimental de m/z obtenido para un ion con el valor considerado teórico (m/z exacta) en base a la fórmula elemental del mismo [33]. Está estrechamente relacionada con el poder de resolución, dada la capacidad del instrumento para detectar, identificar y diferenciar entre especies químicas. Una de las maneras de expresar el error en la exactitud en MS serían las partes por millón (*ppm*), utilizando para ello la diferencia entre el valor experimental y el teórico de la m/z correspondiente al analito:

$$\text{Error (ppm)} = \frac{(m/z_{\text{experimental}} - m/z_{\text{teórica}}) \times 10^6}{m/z_{\text{teórica}}} \quad \text{Ecuación 4}$$

- **Rango dinámico lineal.** Es el parámetro que relaciona, de forma lineal, la señal producida por un ion y la concentración del analito. Éste variará en función del dispositivo que emplee el instrumento en la detección de los iones, ya que podría producirse una saturación del mismo y dejar de proporcionar una señal verídica respecto a la concentración suministrada.

Una vez se han definido las características principales de los analizadores de masas, se pasará a explicar, de manera más específica, aquellos cuyo uso está más generalizado: cuadrupolo, trampa de iones, analizador de tiempo de vuelo y analizadores cuyo fundamento se basa en *transformada de Fourier (FT)*, *FT-ICR* y *Orbitrap*.

- ❖ **Cuadrupolo (Q).** Gracias a su sencillez y fácil operatividad, es uno de los analizadores más empleados comúnmente. Está formado por cuatro barras cilíndricas (**Figura 3A**), opuestas entre sí, con disposición dos frente a dos; se conectan de igual forma, dos a dos, con un potencial total positivo o negativo, pero distinto entre los pares de barras. El campo eléctrico de un cuadrupolo está constituido por una componente de corriente continua (*direct current – DC*) y otra de corriente alterna (*alternating current – AC*) de radiofrecuencia, responsable de la oscilación de los iones y permitiendo la separación de los mismos [25]. Este analizador funciona como un filtro

donde los iones, con una determinada m/z , son transmitidos al detector cuando se aplican unos valores específicos de potencial y radiofrecuencia; las especies con una m/z distinta al rango seleccionado por el cuadrupolo oscilarán más por el campo eléctrico hasta chocar con las barras, o salir del campo de trabajo, y convertirse en moléculas neutras, sin posibilidad de transmitirse al detector. Estos potenciales que permiten la separación de iones se componen de un voltaje de corriente continua U y uno V , de corriente alterna, de radiofrecuencia con una frecuencia ω , por lo que el potencial total aplicado (ϕ_0) a las barras se expresa según la ecuación de Mathieu [34]:

$$\phi_0 = U + V \cdot \cos \omega t \quad \text{Ecuación 5}$$

❖ **Trampa de iones lineal (LIT)**. Son dispositivos en los que los iones generados son retenidos mediante campos eléctricos oscilantes. En este analizador, de carácter cuadrupolar, los iones quedan atrapados en el interior de la componente radial (perpendicular al eje de la trampa), por aplicación del campo eléctrico de radiofrecuencia, y en la componente axial (en el mismo eje), por aplicación de un campo eléctrico a los laterales de la trampa [2, 35]; ahí se encuentran unas lentes que repelen los iones del interior tras la aplicación del campo eléctrico, con potencial positivo para iones positivos y viceversa. Los iones son termalizados por colisión, utilizando para ello un gas inerte. Para que las especies deseadas pasen al detector, ha de modificarse el potencial aplicado y el resto de iones quedará confinado en el interior; la expulsión de estos se puede realizar de forma axial (siguiendo el eje del cuadrupolo) o radial (perpendicular al eje).

❖ **Trampa de iones tridimensional (IT)**. Al igual que el LIT, es un dispositivo en el que los iones quedan confinados en su interior, pero cuya arquitectura está compuesta por tres electrodos, uno anular y dos electrodos colectores (**Figura 3B**) [25]. Los iones generados pasan a través del primer electrodo colector hasta el electrodo anular, donde quedan retenidos mediante campos eléctricos tridimensionales oscilantes producidos por el cuadrupolo; a continuación, se aplica un potencial específico al electrodo por el que los iones abandonan la cavidad de manera secuencial y pasan, mediante el segundo electrodo colector, al detector. Hay que destacar el alto tiempo que pasan retenidos en la cavidad los iones generados, debido al carácter pulsado y el alto ciclo de trabajo o *duty cycle* de su análisis; éste se define como la ratio entre los iones producidos en la fuente de ionización y los iones detectados para el análisis [25].

A diferencia de la trampa de iones lineal, ésta tiene una capacidad de retención de iones bastante menor, ya que la trampa tridimensional focaliza los iones en torno a un punto y no de forma lineal, generando un mayor *efecto espacio-carga*. Este efecto es una consecuencia de la repulsión entre iones de igual carga, reduciendo la sensibilidad y precisión del analizador. Por tanto, cuando se introducen demasiados iones en una trampa, los que estén en el exterior generan un

apantallamiento que afectará al campo eléctrico que actúa sobre los iones ubicados en el interior, modificando la estabilidad del dispositivo.

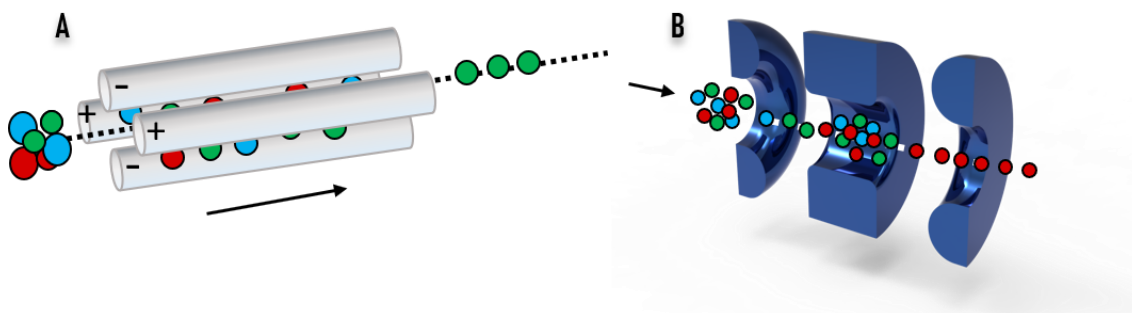


Figura 3. Esquema del analizador cuadrupolar (A) y de la trampa de iones tridimensional (B).

❖ **Analizador de tiempo de vuelo (TOF).** Dado que es el analizador utilizado para el desarrollo de la presente Tesis Doctoral, se hará un especial énfasis en este. Su fundamento está basado en el tiempo que tardan los iones (generados en la fuente de ionización) en atravesar el tubo de vuelo para llegar al detector. Una vez generados, los iones poseen diferentes energías y llegan con pequeños desfases al detector; para igualar esto, los iones, antes de ser analizados en el tiempo de vuelo, son expuestos a una aceleración generada por una fuente de impulso o *pulser* que aplica un campo eléctrico de 10^3 - 10^4 V y de frecuencia entre 10 y 50 kHz. Todas las especies generadas tienen la misma energía cinética al ser introducidas en el tubo de vuelo, por lo que su velocidad vendrá determinada por la relación m/z de cada partícula, de manera que hay una relación inversamente proporcional entre velocidad y m/z , es decir, llegarán antes al detector aquellos iones con menor m/z [2, 25].

Por lo general, es un analizador de alta resolución; esto se consigue gracias a la distancia que recorren los iones dentro del tubo de vuelo, produciéndose una mayor separación de las especies y obteniendo espectros de masas cada pocos milisegundos. Para aumentar esta resolución y el tiempo de vuelo de los iones, se utiliza el modo reflectrón (*reflectron*) que está compuesto por varios electrodos y actúa como un espejo de iones (**Figura 4B**). De esta forma, el reflectrón consigue aumentar la distancia recorrida por los iones y también permite corregir las variaciones de energía cinética que sufrirían los iones si eso mismo recorrido fuera solamente lineal.

Para relacionar el poder de resolución (basado en las diferencias de Δm) de este analizador con el tiempo y la distancia que tarda un ion en alcanzar el detector, debe tenerse en cuenta lo siguiente:

La velocidad (v) a la que los iones salen de la fuente de ionización tras la aplicación de un potencial V se muestra en la **Ecuación 6**, siendo e la carga del electrón y z el número de cargas que presentan los iones.

$$v = \left(\frac{2 \cdot e \cdot z \cdot V}{m} \right)^{1/2} \quad \text{Ecuación 6}$$

El tiempo (t) necesario para que el ion recorra la distancia L hasta llegar al detector vendrá dado por la ecuación:

$$t = \frac{L}{v} \quad \text{Ecuación 7}$$

Si se combinan esta ecuación y la anterior, y sustituyendo el valor de v , se obtiene que

$$t^2 = m/z \left(\frac{L^2}{2 \cdot e \cdot V} \right) \quad \text{Ecuación 8}$$

donde se observa que la relación m/z podrá ser calculada en base al tiempo que tarden los iones en recorrer la distancia hasta el detector, siendo denominados como constantes los términos en el interior del paréntesis. Por tanto, y basándose en la definición de poder de resolución mencionada anteriormente, se puede afirmar que, a mayor longitud de vuelo, la resolución de los iones también será mayor [36].

Las características que hacen de este analizador un gran recurso respecto a otros analizadores son:

- Alta sensibilidad. Este analizador, al emplear GC como técnica separativa, presenta unos límites de detección de contaminantes orgánicos en aguas de 0,02-1 $\mu\text{g/L}$ y entre 1-460 ng/g en matrices alimentarias [37]. Por otra parte, utilizando LC-TOF-MS, se alcanzan niveles bajos de detección en aplicaciones como análisis de residuos de plaguicidas (0,06-200 $\mu\text{g/L}$) [38] o análisis de fármacos en muestras biológicas (0,02-10 ng/L) [39].
- Detección de especies no esperadas y/o desconocidas. Empleando el modo *Full Scan*, se obtendrá un espectro de masas con todos los iones producidos en una muestra concreta. La obtención de un espectro completo puede ser de gran ayuda en la resolución de un problema analítico posterior, detectando especies que no resultaban de interés o se desconocía su presencia en la muestra en un momento concreto. Este modo puede ser empleado desde en un Q sencillo hasta un Orbitrap, pero la diferencia con un TOF es la resolución que aporta, frente al primero, y que no hay impedimentos *espacio-carga*, como en el segundo. Un ejemplo concreto de este uso es su aplicación a la detección de plaguicidas en función de los límites máximos de residuo permitido (*Maximum Residue Levels – MRL*) [40, 41], pudiendo sufrir cambios estos límites legales si se presentan estudios que demuestren la toxicidad de los compuestos a menores

concentraciones; se podrá comprobar si una muestra antigua ya mostraba sustancias prohibidas previamente o si presentó un falso negativo [42].

- Rango de m/z elevado. Dado que las especies se separan en base a su energía cinética principalmente, además de la energía potencial y distancia recorrida, este analizador podrá detectar analitos de bajo y alto peso molecular con la resolución y exactitud adecuadas.
- Gran velocidad de análisis.
- Robustez respecto a otros analizadores, como la trampa de iones, dada la capacidad de no sufrir alteraciones en las medidas, provocadas por los parámetros del instrumento.
- Calibración instrumental constante. Con uno o dos puntos de referencia, cuya masa es conocida perfectamente, se puede calibrar el equipo en continuo. Además, esta calibración influye notablemente en la exactitud de masas proporcionada por este analizador, dado que proporciona hasta cuatro cifras decimales en los valores de m/z obtenidos; esto se debe a la introducción constante de una disolución de referencia que contiene distintos estándares cuyos valores de ratio m/z son conocidos con gran precisión.

Sin embargo, este analizador también presenta ciertas desventajas. Aunque muestre una gran velocidad de análisis, no tendrá la capacidad de generar la máxima resolución de los iones en un amplio rango de m/z , ya que se generarán archivos de gran tamaño y el procesado de estos se ve limitado por el ordenador empleado. Además, la resolución de masas disminuirá a mayores longitudes de tubo de vuelo si se emplea un diseño lineal; esto podría solucionarse reduciendo el voltaje de aceleración aplicado, pero produciría una disminución directa de la sensibilidad [2].

Los analizadores de tiempo de vuelo son empleados, mayoritariamente, en aplicaciones de análisis biológico, utilizando fuentes de ionización como *ESI* o *MALDI* [43, 44], ya que, gracias a su alta resolución, se pueden crear bases de datos con las que cotejar los compuestos en base a su masa exacta [26].

❖ ***Espectrómetros de masas de Transformada de Fourier.*** En este apartado se desarrollarán dos de los más importantes analizadores que se basan en el uso de la Transformada de Fourier, como son FT-ICR y Orbitrap. Este tipo de analizadores se caracterizan por un elevado poder de resolución y exactitud de masas, entre otras; sin embargo, también cabe mencionar desventajas tales como su elevado coste, un rango dinámico limitado o la dificultad de generar espectros con alta resolución a elevadas m/z [30].

El FT-ICR se puede considerar una trampa iónica, pero con la diferencia de que se aplica un campo electromagnético en lugar de uno eléctrico; con esto, los iones adquirirán una trayectoria circular. Primero, las señales asociadas a los iones serán detectadas en base a la frecuencia, es decir, cada vez que pasan por el detector; como la trayectoria de cada ion tiene una frecuencia

característica asociada a cada m/z y, tras aplicación de FT , se puede pasar de una dimensión temporal a una basada en la frecuencia. Con dicha operación, y dado que se conoce el campo magnético aplicado, se podrá determinar la relación m/z de cada ion. Los imanes empleados en este analizador son superconductores preservados criogénicamente [45].

El Orbitrap, desarrollado por Makarov y *col.* en el año 2000 [24, 46, 47], es una trampa de iones electrostática que usa la FT para obtener el espectro de masas de las especies. Aunque el principio de funcionamiento es similar al FT -ICR, éste no emplea campos magnéticos en la determinación de iones. Este analizador consta de dos electrodos: uno exterior con forma de barril y otro interior con forma de huso, en el que los iones oscilan y quedan retenidos (**Figura 4A**) [48]. Los iones se introducen tangencialmente por el espacio que hay en el electrodo exterior, describiendo trayectorias en forma de espiral alrededor del electrodo interior. El principio sobre el que se fundamenta este analizador es la relación que existe entre la frecuencia y las m/z de los iones; gracias a esto, se puede medir la corriente que producen los iones que oscilan alrededor del electrodo y, aplicando la FT , se consiguen frecuencias específicas de cada especie que se verán reflejadas en un espectro de masas. Gracias a sus características, este analizador presenta una mayor sensibilidad si se compara con el TOF; en contraste, la velocidad de análisis se verá afectada por el tiempo empleado en el cambio de la recolección de iones y su posterior expulsión del huso.

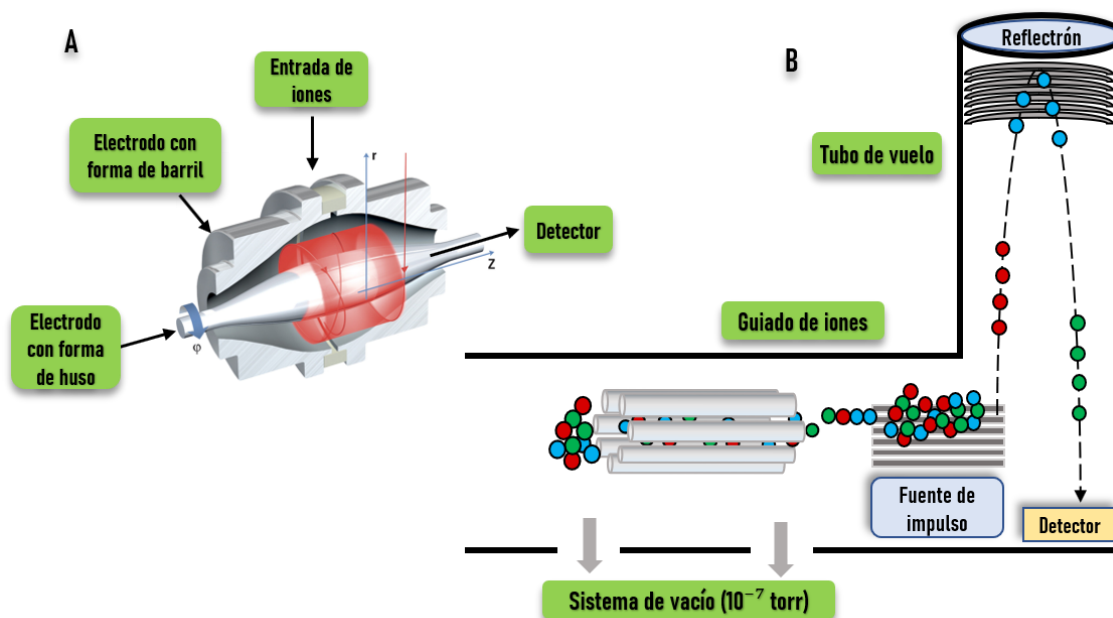


Figura 4. Esquema de los analizadores Orbitrap (A) [48] y tiempo de vuelo (TOF) (B).

En la **Tabla 2** se muestra un resumen de los distintos tipos de analizadores de masas con sus principales características en función de si son de baja o alta resolución.

Tabla 2. Tipos de analizadores de masas [49–51].

| Resolución | Analizador | Principio de separación | Llegada de los iones al detector | Poder de resolución ($\times 10^3$) (FWHM) | Exactitud de masas (ppm) |
|------------|--|--|----------------------------------|--|--------------------------|
| Baja | Cuadrupolo (Q) | m/z (estabilidad de la trayectoria) | Secuencial | 3-5 | Baja |
| | Trampa de iones lineal (LIT) | m/z (frecuencia de resonancia) | Simultánea | 4-20 | Baja |
| | Trampa de iones tridimensional (IT) | m/z (frecuencia de resonancia) | Simultánea | | |
| Alta | Tiempo de vuelo (TOF) | Velocidad | Simultánea | 10-60 | 1-5 |
| | Resonancia de Ciclotrón Iónica por Transformada de Fourier (FT-ICR) | m/z (frecuencia de resonancia) | Simultánea | 750-10000 | 0,3-1 |
| | Orbitrap | m/z (frecuencia de resonancia) | Simultánea | 100-1000 | 1-3 |

III.2.2. Espectrometría de masas en tándem (**MS/MS**)

Los analizadores de masas descritos tienen la capacidad de combinarse entre sí, siendo una tendencia recurrente en los últimos años en MS molecular, propiciando una mayor sensibilidad y selectividad. Se denomina MS en tándem (**MS/MS**) y su finalidad es la de obtener información estructural, además de conseguir una mejora en la sensibilidad de los analitos estudiados mediante la fragmentación de los mismos. Para realizar un análisis de MS/MS primero se realiza un barrido o *screening* que localiza el ion con m/z de interés, denominado *ion precursor*, para, a continuación, aplicar una energía de fragmentación y que éste se rompa en fragmentos de estructura conocida. Estos mecanismos de fragmentación son conocidos y controlables, por lo que se obtendrá una serie de *iones producto* provenientes del ion precursor. La función del primer analizador es la de seleccionar un rango de m/z específico que corresponda a la de los iones precursores deseados, los cuales son fragmentados una celda de colisión. Seguidamente, otro analizador colocado en tándem recoge los iones producto generados, en función de su m/z , pudiendo así llegar al detector [52].

El acoplamiento de los distintos analizadores da lugar a que, para la determinación de distintas especies o la aplicación deseada, haya diversos métodos de trabajo en el tándem *MS/MS*. Principalmente, se puede trabajar en modo *Full Scan*, en el que se separarán todos los iones presentes y pasarán al detector, produciendo un espectro de masas completo; y en modo *Selected Ion Monitoring (SIM)*, en el que se selecciona un rango de masas, obviando el resto, y consiguiendo una mayor relación señal-ruido. Además, combinando estos dos modos, se puede trabajar de cuatro formas distintas, presentadas en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Métodos de trabajo en tándem *MS/MS* [2].

| Modo de trabajo | Configuración Analizador 1 | Configuración Analizador 2 |
|---|------------------------------------|------------------------------|
| Product-Ion Scan | <i>SIM</i> de iones precursores | <i>Full Scan</i> |
| Precursor-Ion Scan | <i>Full Scan</i> | <i>SIM</i> de iones producto |
| Neutral Loss Scanning | <i>Full Scan</i> | <i>Full Scan</i> |
| Multiple Reaction Monitoring (<i>MRM</i>) | <i>SIM</i> de iones de precursores | <i>SIM</i> de iones producto |

Las combinaciones de analizadores que han tenido una mayor repercusión en el mercado y que, por tanto, son las más empleadas en el campo de la *MS*, pueden ser clasificadas en dos grupos: (i) hibridación de analizadores de baja resolución, como el triple cuadrupolo (*QqQ*) o el acoplamiento cuadrupolo- trampa de iones lineal (*Q-TRAP*), y (ii) combinación de analizadores de baja y alta resolución, como el cuadrupolo-tiempo de vuelo (*Q-TOF*), la trampa de iones lineal-Orbitrap (*LIT-Orbitrap*) o el cuadrupolo-Orbitrap [53].

III.3. Ionización en *MS*

La ionización es la fase esencial en *MS*, ya que de ésta depende la determinación o no de analitos. Las especies se ionizarán en fase gas, siendo transportadas a una región de alto vacío para dirigirse hacia al analizador.

En función de la energía que sea aplicada por la fuente de ionización, se distinguen dos tipos: fuentes de ionización **duras** y **blandas**. En las de primer tipo se transferirá la suficiente energía como para propiciar iones compuestos por átomos con estados de energía altamente excitados; esto supondrá la ruptura de ciertos enlaces en la molécula tras la relajación de los estados, generando fragmentos originados a partir del compuesto original y, por tanto, aportando una mayor información estructural de los analitos estudiados; incluso en algunos casos puede llevar a la ruptura completa de los moléculas detectando elementos de manera individual. Por otra parte, en

las fuentes suaves la energía aplicada es menor y se obtendrán las moléculas levemente fragmentadas e incluso intactas, protonadas o desprotonadas, según la polaridad utilizada (positiva o negativa, respectivamente).

Las fuentes de ionización también pueden encontrarse a presión atmosférica o alto vacío, provocando ésta última una gran desventaja en la introducción de muestra y versatilidad del método. Como se ha adelantado al inicio de la sección III.1. (Tabla 1), en base de sus características generales, las técnicas de ionización se pueden clasificar en cuatro tipos: ionización electrónica, ionización química, ionización por electropulverización e ionización/desorción. A continuación, se describirán las fuentes de ionización más representativas de cada una de estas categorías y, además, se dedicará un apartado específico a la ionización de compuestos en condiciones ambientales (*Ambient Ionization Mass Spectrometry – AIMS*).

III.3.1. Ionización electrónica (*Electron Ionization – EI*)

La ionización electrónica, antes denominada *impacto electrónico*, fue ideada por Dempster y mejorada por Bleakney [54] y Nier [55]; está basada en el bombardeo de las moléculas gaseosas con electrones de alta energía, lo que producirá la fragmentación de los analitos y la formación de especies ionizadas. Para generar los electrones de alta energía, se aplica un voltaje a un filamento calentado, generalmente de renio, que producirá la emisión de dichos electrones. La cantidad de electrones emitidos variará en función del flujo de corriente aplicado al filamento y dependerá de cada instrumento. La aceleración de los electrones se produce por la conexión a un ánodo, permitiendo la aplicación de un potencial o *energía electrónica* variable siendo 70 eV la energía de trabajo más utilizada.

La energía que poseen los electrones acelerados es bastante superior a la de los enlaces que forman las moléculas a estudiar, por lo que, si los electrones tienen una frecuencia equivalente a la energía de una transición molecular, dicha molécula perderá un electrón [56]. La especie resultante, cargada positivamente, se denomina *ion molecular*. A pesar de la pérdida del electrón, el ion mantiene un exceso de energía que provocará la fragmentación del mismo hasta alcanzar una estabilización energética. A continuación, se muestra el esquema de ionización general y, como ejemplo de ésta, el caso del metanol:



El uso de este tipo de ionización está ampliamente generalizado en cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS). Las fragmentaciones, producidas por la energía electrónica, alcanzan tal grado de reproducibilidad que existen bases de datos con los espectros de compuestos orgánicos, p.ej. NIST [57], y son empleados en la detección de moléculas de origen desconocido.

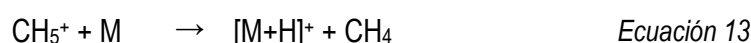
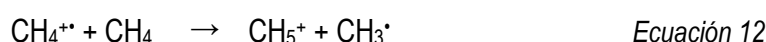
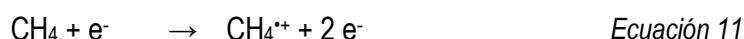
La principal desventaja de esta fuente de ionización reside en el estado gaseoso previo en que debe estar el analito para sufrir el proceso de ionización, por lo que no se detectarán correctamente compuestos no volátiles y térmicamente lábiles.

III.3.2. Ionización química (Chemical Ionization – CI)

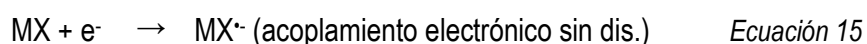
Tiene un diseño parecido a la fuente de EI, siendo la principal diferencia entre ellas es que las moléculas no se ionizan por una incidencia directa del haz de electrones, sino que dicho haz incide sobre un gas reactivo [25], además de la menor energía aplicada, que provoca una menor o incluso nula fragmentación. El gas reactivo empleado al colisionar con el haz de electrones, genera iones que, mediante reacción química, ionizarán los analitos presentes en estado gaseoso. Este proceso se produce bajo unas condiciones de alrededor de 1 torr de presión y una ratio 1:1000 entre moléculas de muestra y moléculas de gas reactivo; este exceso de reactivo garantiza que el haz de electrones no incida sobre las moléculas de muestra. Generalmente, los gases reactivos que se emplean en ionización química son metano, amoníaco e isobutano.

Una ventaja respecto a la ionización electrónica es la formación mayoritaria de especies moleculares intactas protonadas ($[M+H]^+$) o desprotonadas ($[M-H]^-$), debido a que los electrones no transfieren totalmente su energía a los analitos y, por tanto, no se producen las fragmentaciones para alcanzar la estabilidad energética. Esto se traduce en espectros de masas de mayor sencillez.

➤ La ionización química positiva (*positive chemical ionization – PCI*) se produce por la transferencia de protones en reacciones consecutivas entre las moléculas de gas reactivo, como se muestra a continuación usando metano:



➤ La ionización química negativa (*negative chemical ionization – NCI*) se produce mediante mecanismos de acoplamiento electrónico (con y sin disociación) y de formación de par iónico, pero en aquellas moléculas que están compuestas por átomos muy electronegativos:



III.3.3. Ionización/Desorción por láser asistida por una matriz (*matrix-assisted laser desorption ionization – MALDI*)

Esta fuente de ionización fue desarrollada en 1988, casi de forma simultánea, por Karas y Hillenkamp [20, 58] en Alemania, y por Tanaka y *col.* [19] en Japón, basada en la desorción e ionización de analitos mediante un láser. Esta técnica de ionización aborda los problemas generados por otras fuentes de ionización las cuales trabajan en un ambiente de vacío, como EI, dado que permite analizar compuestos de alto peso molecular, con alta polaridad y/o que se degradan al exponerlos a altas temperaturas, generando iones moleculares sin fragmentación en fase gaseosa. Por todo ello, MALDI es la técnica principalmente elegida en el análisis de biomoléculas (proteínas, oligosacáridos, etc.) [59, 60] o polímeros sintéticos [61] dada la mejora obtenida en la sensibilidad de los métodos. Los análisis que usan esta fuente requieren de dos etapas:

➤ Primero debe hacerse una mezcla compuesta por el analito a estudiar y un disolvente al cual se le han añadido moléculas orgánicas de pequeño tamaño, denominadas *matriz*. Debe existir un exceso molar grande (ca. 1:10000) entre las moléculas de analito y matriz. La mezcla debe secarse antes de empezar el análisis, dando como resultado una “solución sólida”. Los requisitos que debe reunir una matriz son [30]: gran absorción de la radiación del láser a su longitud de onda, capacidad de disolver correctamente el analito (reduciendo sus fuerza intermoleculares) y formar cristales de un tamaño apropiado, baja temperatura de sublimación, y capacidad de participar en reacciones fotoquímicas para asegurar la eficiencia de la formación de iones.

➤ La segunda etapa o ionización se produce dentro del espectrómetro de masas, bajo condiciones de vacío. Los cristales de la solución matriz-analito serán irradiados con un láser de pulso corto, que transferirá una alta cantidad de energía a los cristales formados, permitiendo la desorción del analito y posterior generación de iones intactos en fase gaseosa de forma simultánea. La ionización de los compuestos de interés se producirá a través de una transferencia de protones entre las moléculas de matriz y analito [62]; una vez que se produzca la transferencia, el ion sufrirá una desolvatación y se liberará en forma gaseosa.

En el año 2000, Laiko y *col.* [63, 64] desarrollan una fuente de ionización MALDI a presión atmosférica (*AP-MALDI*), cuya principal diferencia es la presión de trabajo a la que se produce la ionización y, por tanto, ésta se encuentra fuera de la zona de vacío del espectrómetro de masas. Se consumirá mayor solución sólida de muestra que en MALDI convencional, ya que la transferencia de iones hacia el espectrómetro no será completamente eficiente; para ello, debe aplicarse una corriente de alto voltaje (2-3 kV) al soporte que alberga la matriz. Sin embargo, este aumento no afecta a las señales obtenidas dado que se respeta la mínima cantidad para realizar el análisis [65]. En los últimos años, esta técnica se ha convertido en una herramienta de alto valor en la determinación de moléculas biológicas en muestras reales por análisis directo. Además, la simultaneidad de analizar tanto las especies de interés como aquellas que se encuentran a su alrededor, permiten avanzar en el estudio de los procesos biológicos en los que intervienen dichas moléculas [66, 67].

III.3.4. Fuentes de ionización a presión atmosférica (*Atmospheric Pressure Ionization – API*)

En GC-MS, las fuentes de ionización se encuentran a presión reducida, pero para el acoplamiento LC-MS surgen las fuentes de ionización a presión atmosférica (*atmospheric pressure ionization – API*). Este tipo de fuentes fueron desarrolladas para abordar la problemática que supone combinar los grandes volúmenes de disolvente y muestra procedentes del cromatógrafo y el vacío requerido por el espectrómetro de masas, por lo que el efluente líquido deberá ser transformado en una corriente gaseosa compuesta por iones. Por tanto, se requieren fuentes que produzcan la evaporación del disolvente y la ionización de los compuestos de interés de forma simultánea, permitiendo el análisis de compuestos termolábiles y poco volátiles, evitando la derivatización necesaria para la determinación de los mismos mediante GC. El éxito en la resolución de estas cuestiones ha hecho que las fuentes API sean la más empleadas en la actualidad.

Este tipo de fuentes de ionización presentan una serie de ventajas, que pueden ser resumidas en los siguientes puntos [68]:

- Permiten trabajar con los volúmenes de líquidos propios de LC.
- Tienen la capacidad de analizar compuestos no volátiles, polares y térmicamente inestables que se determinan por LC.
- Presentan sensibilidad en los resultados, llegando a obtener límites de detección similares o mejores que los adquiridos mediante GC-MS [28].
- Son fuentes robustas y de manejo sencillo.

Las principales fuentes de ionización API se diferencian principalmente en el proceso de ionización de las muestras, la sonda por la que se introduce la muestra y las aplicaciones analíticas de cada una. En la **Figura 5** se muestra un diagrama del rango de aplicación de las tres fuentes principales API (ESI, APCI y APPI) en base a la polaridad y peso molecular del analito de estudio.

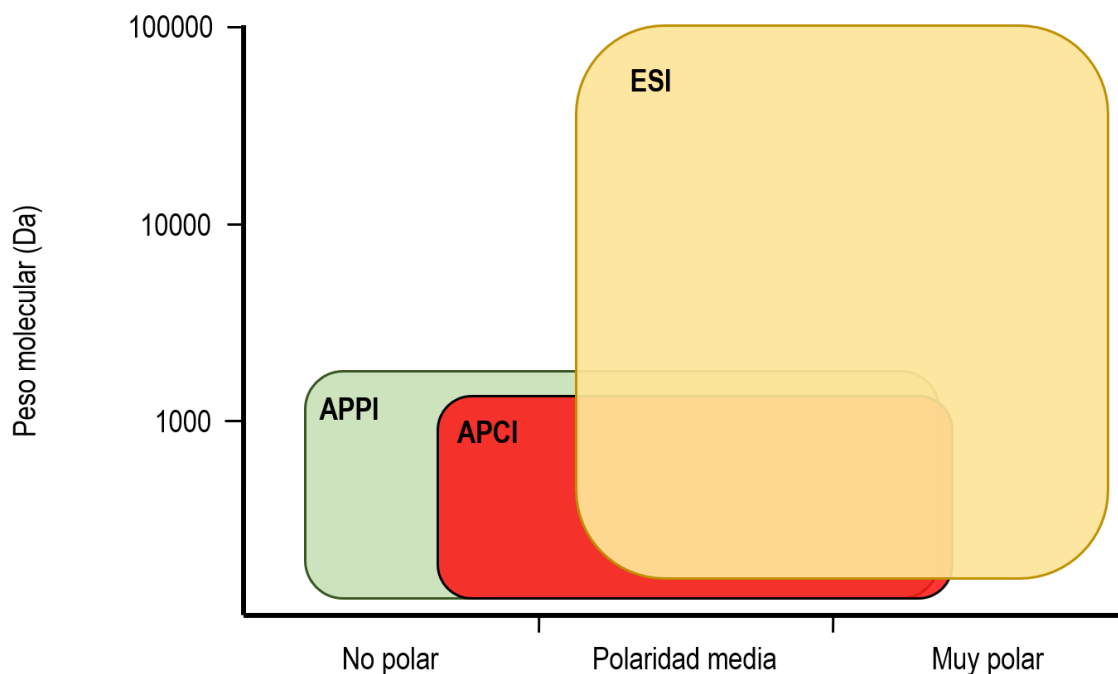


Figura 5. Rangos de aplicación de las fuentes API según polaridad y peso molecular (APPI, fotoionización a presión atmosférica; APCI, ionización química a presión atmosférica; ESI, electrospray) [69].

III.3.4.1. Ionización por electrospray (ESI).

Desarrollada como herramienta analítica, para su uso en LC-MS, a principios de los años 80 [70–73], es la fuente de ionización más utilizada en esta técnica. Su funcionamiento se basa en la introducción de la muestra líquida, a un flujo bajo ($100\text{-}1000\ \mu\text{L min}^{-1}$), a través de un capilar metálico (*aguja de nebulización*) al que se le aplica un fuerte campo eléctrico a presión atmosférica; éste se produce como resultado de una alta diferencia de potencial ($\pm 3\text{-}6\ \text{kV}$) entre el capilar y un electrodo de referencia. En este apartado se desarrollará el funcionamiento de la ionización por ESI para moléculas pequeñas, aunque hay diversos mecanismos de ionización en función de la molécula [74]. El campo eléctrico generará una acumulación de carga en la superficie de las gotas nebulizadas, la cual, ayudada por una corriente de gas a alta temperatura ubicado de forma coaxial (generalmente N_2) que elimina el exceso de disolvente y limita la dispersión del líquido nebulizado, formará un spray de microgotas cargadas con una alta densidad de carga; este spray vendrá iniciado tras alcanzar un voltaje crítico de ruptura y formar un cono de Taylor [75, 76]. Una vez

alcanzada la cantidad de carga que puede soportar un cuerpo manteniendo su volumen o límite de Rayleigh (10^8 V cm^{-3}), las gotas sufren explosiones culómbicas haciendo que su volumen se vea reducido. Los iones contenidos en las gotas se desolvatarán del disolvente por potenciales electrostáticos y éstos pasarán a fase gaseosa. Finalmente, los iones de analito serán conducidos a través de un capilar hacia el analizador (**Figura 6**).

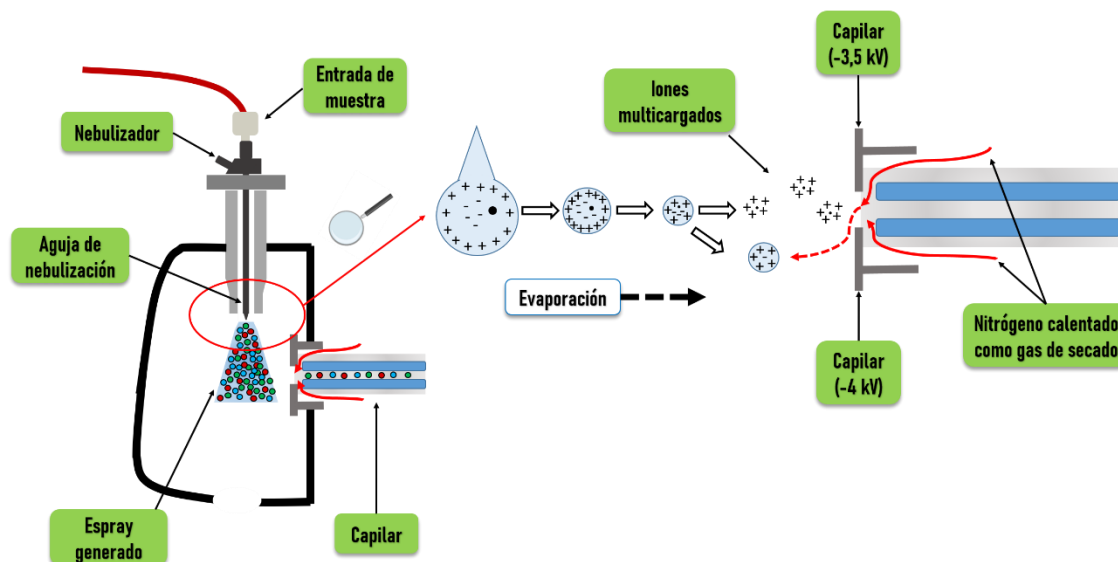


Figura 6. Esquema de ionización en una fuente ESI.

Al ser una técnica de ionización suave, las especies generadas, tanto en positivo como en negativo, serán los iones de los analitos, en su mayoría, intactos. Con polaridad positiva, se pueden producir iones con carga múltiple, si sus características lo permiten, $[M+nH]^{n+}$, o pueden generarse, siendo muy habitual, aductos de sodio, potasio o amonio, entre muchos otros. Si se analizan compuestos en modo negativo, se detectarán, de forma general, los iones que se producen por la desprotonación de las moléculas, $[M-nH]^{n-}$.

Por tanto, al ser un proceso en el que se acumula carga en la superficie de las gotas, se puede afirmar que el electro spray formado depende no tanto de la cantidad de muestra introducida, sino de la concentración de analito. Basándose en esto, se desarrolló el denominado “nanoelectrospray” (*nano-ESI*) [77], una miniaturización de la técnica ESI en la que se reduce considerablemente la cantidad de muestra necesaria para el análisis, así como el flujo de trabajo (20 nL min^{-1}) [78]. Se ha demostrado que nano-ESI disminuye las interferencias producidas por sales y/o efecto matriz y no requiere una instrumentación compleja (*p.ej.* calefacción ni flujo para la desolvatación), lo que permite obtener métodos con una mayor sensibilidad [79]. Gracias a esto,

el análisis más habitual mediante esta técnica es en el campo de la proteómica, dada la posible baja cantidad de muestra disponible [80].

Según se muestra en la **Figura 5**, el rango de aplicación de ESI es muy amplio, abarcando compuestos de bajo a alto peso molecular. Además, también se pueden analizar especies no volátiles, térmicamente sensibles o lábiles [81]. Algunos de los compuestos más analizados mediante ESI son residuos de plaguicidas [82], residuos de productos farmacéuticos [83] y la determinación de péptidos y proteínas [84].

En el análisis de productos alimenticios deben considerarse las interferencias que pueden producir los distintos componentes sobre la detección del analito de interés una vez se ionicen. Estas interferencias constituyen el denominado *efecto matriz*, pudiendo favorecer, disminuir e incluso llegar a impedir completamente la ionización de las moléculas de analito (*supresión de señal*) [85, 86].

III.3.4.2. Ionización química a presión atmosférica (*atmospheric pressure chemical ionization – APCI*).

En esta fuente de ionización, desarrollada por Horning y *col.* [87, 88] en la década de los 70, el flujo proveniente del cromatógrafo entra a una cámara con una alta temperatura (200-500 °C) y con un gas auxiliar a alta presión, de forma coaxial, para que sea vaporizado rápidamente. Tras aplicar un alto voltaje (\pm 3-5 kV) a un electrodo con forma de aguja, se producirá una corriente (de hasta 10 μ A) y se generará un plasma por efecto corona; este plasma se formará alrededor de la punta de la aguja e ionizará tanto las especies de interés como las moléculas de disolvente en fase gaseosa (**Figura 7**). El haz de electrones generado por la corriente eléctrica da lugar a reacciones de ionización de los gases de la fuente, en forma de N_2^{++} y O_2^{++} generalmente, además de producirse reacciones secundarias que permiten la formación de especies reactivas y los iones de los analitos estudiados.

Es una técnica de ionización suave, por lo que principalmente se obtendrá la molécula protonada en modo positivo y la desprotonada para negativo, pero con mayor propensión que ESI a dar lugar a posibles fragmentos. Dada la necesidad de emplear temperaturas altas en el modo de trabajo, esta técnica no es apropiada para el análisis de compuestos termolábiles.

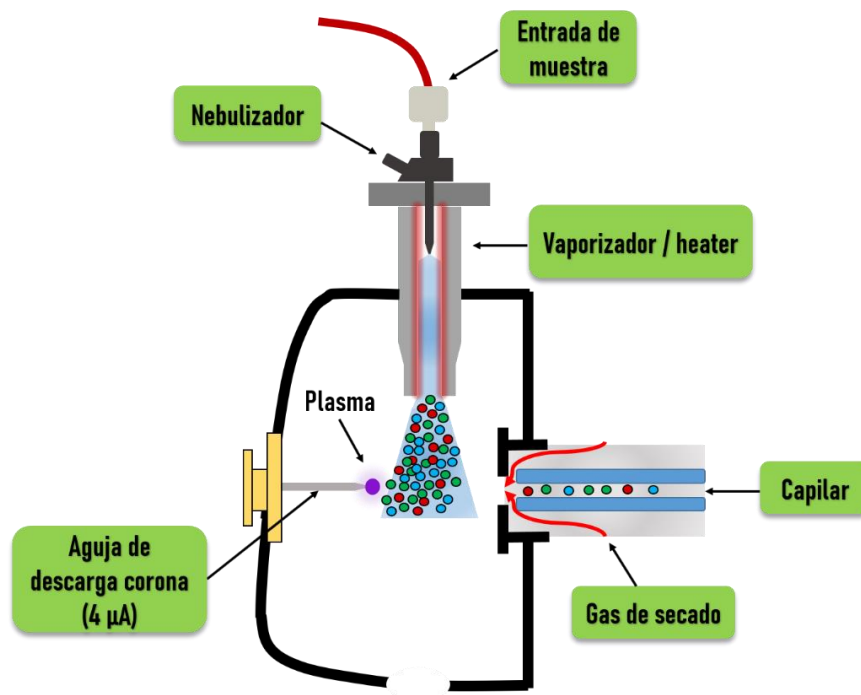
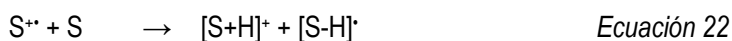


Figura 7. Esquema de una fuente de ionización APCI.

Esta fuente es complementaria a ESI para el análisis de analitos con una polaridad y peso molecular intermedios (<1000 Da). Sin embargo, las diferencias más significativas entre ellas residen en el mecanismo de ionización y en el caudal de trabajo empleado. En cuanto a ionización, en ESI los iones generados en fase líquida son desolvatados y evaporados posteriormente; mientras que en APCI los iones ya se encuentran en fase gas por la evaporación del disolvente cromatográfico (S) antes de entrar en contacto con el plasma. En APCI, a diferencia de ESI, se puede trabajar con flujos altos de efluente ($\geq 1 \text{ mL min}^{-1}$) sin que haya una pérdida de sensibilidad; de hecho, si los valores de caudal son muy bajos, la sensibilidad podría verse afectada. El mecanismo de ionización principal por el que se rige esta fuente de ionización, en modo positivo, es el siguiente [89]:





El nitrógeno es excitado por los electrones que emite la descarga de corona (*Ecuación 21*), dando lugar a la especie N_4^{*+} que será la responsable de ionizar el disolvente. Estas especies de disolvente ionizadas terminarán ionizando la molécula de analito mediante un proceso de transferencia de protón.

En vista de la complementariedad de APCI y ESI, en 1998 se desarrolló una fuente que combinaba ESI y APCI y fue comercializada por Agilent [90, 91]. Este tipo de fuentes se caracterizan por su versatilidad, ya que en un único análisis se pueden analizar compuestos tanto por ESI (+/-) como por APCI (+/-). A pesar de esta ventaja, el coste y los resultados obtenidos no son los esperados, ya que no se consigue la misma sensibilidad ni robustez que utilizando las dos fuentes por separado.

III.3.4.3. Fotoionización química a presión atmosférica (*Atmospheric Pressure Photoionization – APPI*).

El principio sobre el que se fundamenta esta técnica es la ionización de las moléculas en fase gas producida por fotones [92, 93]. Es una variante de la fuente APCI en la que se sustituye el electrodo de aguja por una lámpara UV (**Figura 8**), siendo común la entrada de moléculas que serán evaporadas para producir una ionización efectiva. Se genera un haz de fotones desde la lámpara UV con una cierta energía ($h\nu$) *p.ej.* 10 eV; ésta, siendo mayor o igual al potencial de ionización de las moléculas, será la encargada de fotoionizar las especies como ion molecular [2].

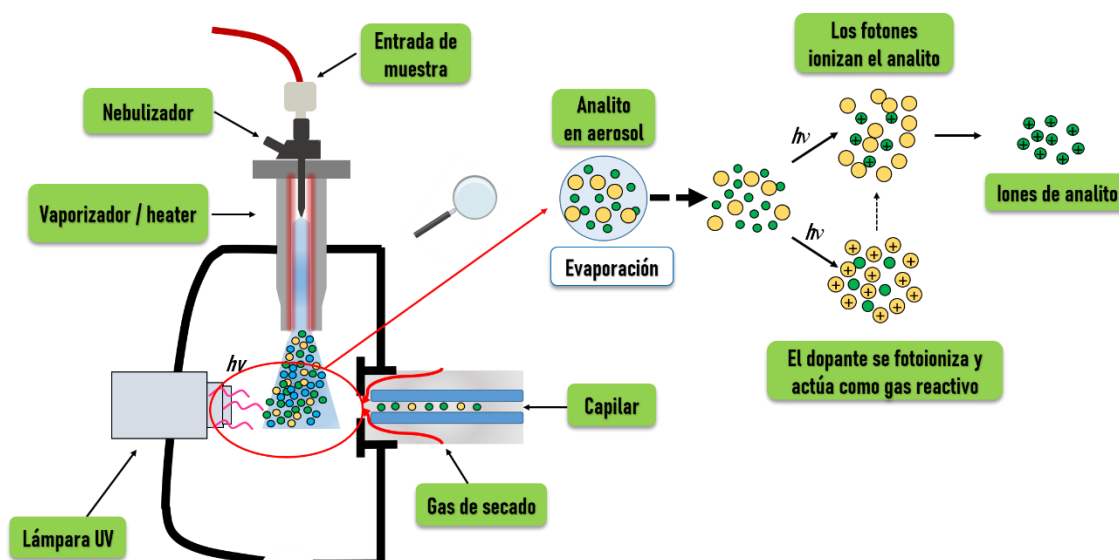


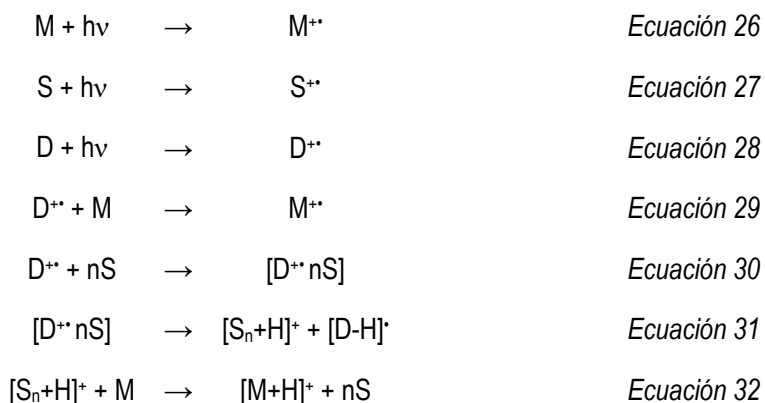
Figura 8. Esquema de la fuente de ionización APPI.

Para propiciar la ionización en APPI se hace uso de agentes dopantes (D), unos disolventes adicionales cuya energía de ionización es inferior a 10 eV, formando iones moleculares (D^{+}) que permitirán ionizar tanto las moléculas de S como los analitos (M) por cascada de reacciones. Estos dopantes deben añadirse en exceso para conseguir la reacción adecuada, pudiendo ser introducidos en la fuente mediante una pieza en forma de T post-columna (en LC), en una corriente gaseosa o añadido directamente en la fase móvil [94]. En la **Tabla 4** se muestran los dopantes más empleados, así como sus energías de ionización y afinidad protónica.

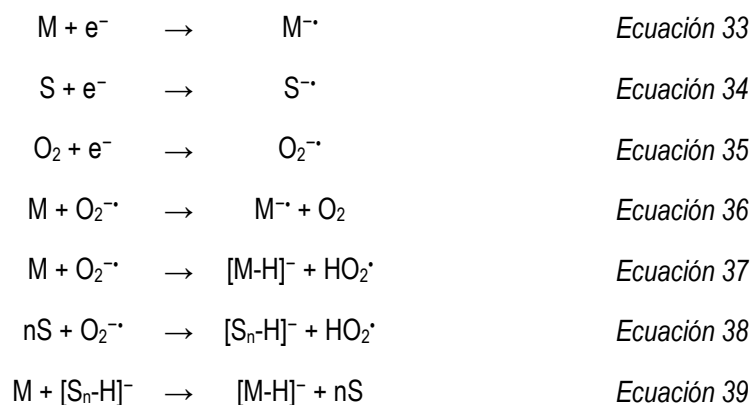
Tabla 4. Ejemplos de los dopantes más empleados en APPI, junto a sus energías de ionización y afinidad protónica [94].

| Dopante | Energía de ionización (eV) | Afinidad protónica (kJ/mol) |
|-----------------------|----------------------------|-----------------------------|
| 1,3,4-Trimetilbenceno | 8,40 | 836,2 |
| Acetona | 9,70 | 812,0 |
| Anisol | 8,20 | 839,6 |
| Bromobenceno | 9,00 | 754,1 |
| Clorobenceno | 9,07 | 753,1 |
| Fluorobenceno | 9,20 | 755,9 |
| Tetrahidrofurano | 9,40 | 822,1 |
| Tolueno | 8,83 | 784,0 |

En esencia, en polaridad positiva, el analito, el disolvente y el dopante son ionizados por el haz de fotones. Sin embargo, el dopante tiene la capacidad de ionizar tanto el analito, dando lugar a iones radicales (por transferencia electrónica), como el disolvente, por la formación de un clúster que propiciará el ion protonado del compuesto (por transferencia de protón). Los mecanismos de ionización son como se muestran a continuación [94]:



Para la ionización en polaridad negativa, ésta se iniciará por captura electrónica, formando los iones moleculares de las especies. En este proceso, se producirán iones superóxido ($O_2^{\bullet-}$) que tendrán un papel crucial en la ionización de los analitos, ya que reaccionarán con estos mediante transferencia electrónica y, además, también intervendrán en la formación de los iones $[M-H]^-$ por la formación de clústeres con el disolvente. Las reacciones que tienen lugar en la ionización en polaridad negativa son las siguientes [94]:



La fuente APPI es complementaria a APCI y ESI, ya que tiene la capacidad de analizar especies muy apolares, como los hidrocarburos policíclicos aromáticos [95, 96], o aquellas con baja sensibilidad en las dos fuentes mencionadas. También se ha demostrado que la fuente APPI presenta un menor efecto matriz que las fuentes APCI y ESI.

III.3.5. Espectrometría de masas en condiciones ambientales (*ambient ionization mass spectrometry – AIMS*)

A mediados de los años 2000, surgieron nuevas técnicas en MS que permiten realizar análisis directo de muestras, propiciando una mayor rapidez de los mismos y reduciendo los costes al no producirse etapas previas de preparación. Al conjunto de estas nuevas técnicas se le denomina espectrometrías de masas en condiciones ambientales (*ambient ionization mass spectrometry – AIMS*) y cumplen los siguientes requisitos [97–99]:

- La muestra no debe someterse a tratamiento previo, o debe minimizarse éste al mínimo.
- El análisis debe realizarse en condiciones ambientales, es decir, sin estar bajo una atmósfera controlada.
- Deben obtenerse mayoritariamente iones con una fragmentación mínima.

Se considera que la AIMS surgió en el año 2004 cuando Takats y *col.* desarrollaron la técnica de ionización de desorción por electrospray (*desorption electrospray ionization – DESI*) [100] y, al año siguiente, Cody y *col.* desarrollan una técnica basada en plasma denominada análisis directo en tiempo real (*direct analysis in real time – DART*) [101]; desde entonces han surgido decenas de nuevas técnicas basadas en los principios mencionados anteriormente [98, 102, 103].

En AIMS, uno de los métodos para la separación de los analitos de la matriz es la desorción, en la cual las moléculas pueden ser transferidas desde la muestra, en pequeñas gotas desde la superficie y hacia la entrada del espectrómetro de masas. Independientemente del estado de agregación en que se encuentre la muestra, ésta es la etapa crítica durante el análisis en condiciones ambientales, teniendo lugar a la vez que la ionización o no. La desorción puede producirse de diferentes maneras [103–105]:

- *Extracción mediante líquidos*, por la que se emplea un disolvente en forma de spray para extraer el analito de la superficie en que se encuentra, con la posterior ionización e introducción en el espectrómetro de masas.
- *Desorción térmica*, en la que se aplica temperatura a la muestra para fomentar la eficiencia de desorción de las especies más volátiles presentes; el rango de especies detectadas aumenta al calentar el gas de descarga del plasma. Se puede afirmar que la desorción y la ionización ocurren en procesos separados ya que, primero, los analitos son desorbidos y, una vez que ya están en fase gaseosa, serán ionizados.
- *Desorción química o por plasma*, en la que las especies excitadas generadas en la descarga, con una alta energía, son capaces de desorber los analitos presentes en la muestra por

transferencia de energía química. Esto se ha comprobado con compuestos en los que el vapor de presión es muy bajo y/o nulo, por lo que no hay lugar para la desorción térmica.

➤ *Desorción/ablación láser*, empleando láseres de UV o IR enfocados directamente sobre la muestra se produce desorción con gran eficiencia gracias a la alta energía del láser empleado y la capacidad de formar especies multicargadas, aunque con bajos resultados de ionización. Por este motivo, se acoplan a fuentes de ionización como ESI.

Sin embargo, uno de los criterios, y el empleado en esta Tesis, para clasificar las técnicas de AIMS se basa en los mecanismos de ionización más comunes, surgiendo dos grupos bien definidos: las técnicas basadas en mecanismos de electrospray (*ESI-related*) y las basadas en ionización química a presión atmosférica (*APCI-related*) [98, 106, 107]. Las técnicas basadas en ESI transfieren las moléculas desorbidas, ya ionizadas, hacia el espectrómetro de masas en forma de microgotas de disolvente cargadas en fase gas. Por otro lado, las técnicas basadas en APCI necesitan de un plasma que ionizará los analitos a través de la ionización de otras especies; las técnicas basadas en plasmas, gracias a las especies reactivas formadas, tendrán la capacidad de ionizar los analitos mediante transferencia de energía, afinidad protónica o la abstracción de protones. En la **Tabla 5** se muestran las técnicas más empleadas en condiciones ambientales clasificadas según el criterio anterior.

Tabla 5. Técnicas en condiciones ambientales más empleadas [103].

| | Técnica | Mecanismo de desorción | Mecanismo de ionización |
|-----------------------|---|------------------------------|---------------------------------|
| <i>Basado en ESI</i> | Desorción / ionización por electrospray (<i>DESI</i>) | Extracción mediante líquidos | Electrospray |
| | Ionización por papel espray (<i>PSI</i>) | Extracción mediante líquidos | Electrospray |
| | Ablación láser-ionización por electrospray (<i>LAESI</i>) | Ablación láser | Electrospray |
| <i>Basado en APCI</i> | Análisis directo en tiempo real (<i>DART</i>) | Desorción por plasma | Descarga de corona |
| | Descarga luminiscente a presión atmosférica (<i>APGD</i>) | Desorción por plasma | Descarga de corona |
| | Plasma a baja temperatura (<i>LTP</i>) | Desorción por plasma | Descarga de barrera dieléctrica |

| | | | |
|--|--|----------------------|---------------------------------|
| | Ionización por descarga de barrera dieléctrica (DBD) | Desorción por plasma | Descarga de barrera dieléctrica |
|--|--|----------------------|---------------------------------|

El desarrollo de éstas ha dado lugar a diversas aplicaciones como el desarrollo de espectrómetros de masas portátiles [108], la determinación de explosivos *in situ* [102] o el análisis de compuestos, contaminantes o no, presentes en alimentos [104, 109–111]. Además, gracias a fuentes de ionización como DESI, se ha contribuido al desarrollo de un campo basado en la elaboración de imágenes por espectrometría de masas (*mass spectrometry imaging – MSI*) [112], en el que se reconoce toda la superficie de muestra, detectando los distintos analitos presentes y generando una imagen compuesta por todas las señales obtenidas en cada punto.

A pesar del elevado número de fuentes de ionización en condiciones ambientales, las más empleadas aún a día de hoy, gracias a su comercialización [113, 114], son DESI y DART (**Figura 9**); sirviendo como modelo en los fundamentos del desarrollo de nuevas técnicas ambientales. La técnica DESI [98, 100, 104] emplea un spray cargado, tras la aplicación de un alto voltaje, de microgotas a alta velocidad enfocado sobre la muestra que se quiere analizar; este spray genera unas primeras gotas que forman una capa de sobre el analito que lo disuelve e ioniza mediante mecanismo de electrospray. Una segunda tanda de gotas transfiere hacia la entrada del espectrómetro de masas al analito, donde el disolvente se evapora y los iones pasan a fase gaseosa (**Figura 9A**). El gas nebulizador debe estar a alta presión (10^6 Pa) para ayudar a formar las microgotas.

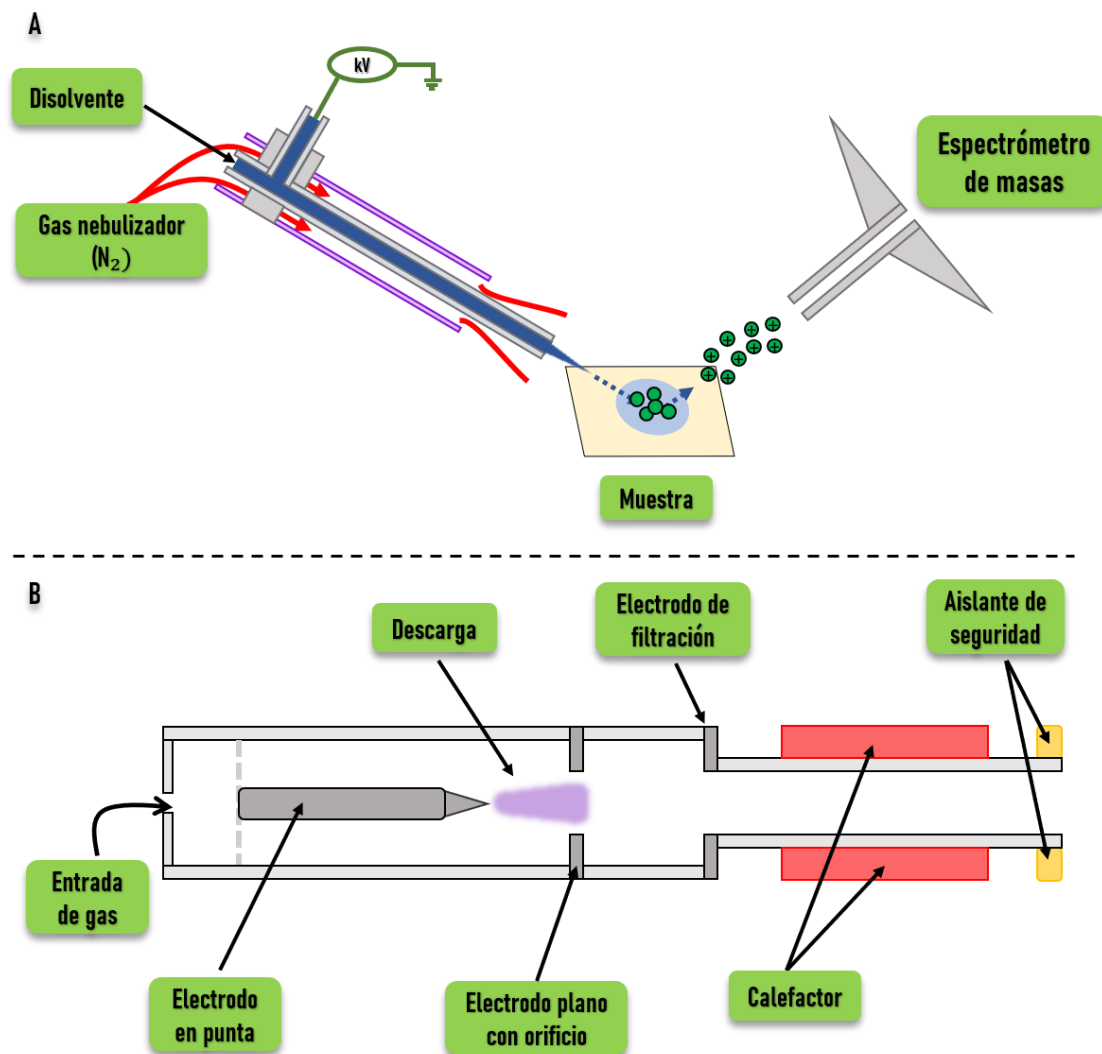


Figura 9. Esquema de funcionamiento de una fuente DESI (A) y esquema general del dispositivo empleado en DART (B).

DART [101] es una fuente de ionización en la que se aplica un voltaje entre dos electrodos, uno en punta y otro plano con un orificio, en presencia de un gas de trabajo (He o N₂); la corriente de electrones generada por la descarga de corriente continua entre electrodos dará lugar a la formación de un plasma. Esta descarga se desarrolla en un régimen corona-descarga luminiscente, en la que se originan especies excitadas, electrones y especies neutras. La configuración de DART (**Figura 9B**) consiste en un tubo dividido en varias cámaras, conteniendo la primera de éstas los electrodos que darán lugar al plasma; las especies generadas saldrán por un electrodo con un orificio, conectado a toma de tierra, y seguirán hacia un segundo electrodo que actúa como filtro para la eliminación de especies iónicas. Finalmente, las especies reactivas pasan a una segunda cámara con una sección que calentará el gas de descarga; dichas especies

salen del dispositivo e interaccionan con las moléculas atmosféricas, sufriendo una serie de reacciones hasta ionizar las moléculas de analito presentes en la muestra.

Se han desarrollado disposiciones de muestreo de DART, muy parecidas a las empleadas en DESI, denominadas modo de transmisión [115] donde la fuente se coloca enfrentada a la muestra. En este tipo de disposición, la muestra es colocada sobre una superficie que puede ser calentada y, por tanto, la desorción de los analitos se vería favorecida.

Otra de las técnicas basadas en condiciones ambientales más empleada y con mayor utilidad es el plasma de baja temperatura (*low temperature plasma – LTP*). Desarrollada por Harper y col. en 2008 [116], se basa en la generación de un plasma ionizante por DBD, la cual se estudiará en detalle en apartados posteriores.

III.4. Descarga de Barrera Dieléctrica como método de ionización en MS

III.4.1. Descarga de barrera dieléctrica (DBD) y principales aplicaciones

Un **plasma** se define como un gas ionizado, en mayor o menor medida, compuesto por electrones, iones y especies en estados neutros y/o excitados [117]. Para la generación de dicho plasma, debe aplicarse una energía al gas empleado que derivará en la reorganización estructural de las especies presentes, dando lugar a otras, como iones y/o átomos excitados; dicha energía puede ser térmica, a través de un potencial eléctrico o por radiación electromagnética [118]. Dependiendo del tipo de energía y la cantidad aplicada, esto cambiará la química del plasma y se podrán clasificar en dos: **plasmas térmicos** o **plasmas en no equilibrio o fríos** [117]. Dentro de estos últimos, se incluyen los plasmas generados a presión atmosférica, de interés en la esta memoria y cuyas características son [117, 119]:

- Baja densidad electrónica ($<10^{19} \text{ m}^{-3}$).
- Colisiones inelásticas entre los electrones y las partículas más pesadas del plasma.
- Baja temperatura del plasma, propiciada por las pocas colisiones elásticas que sufren las partículas pesadas; como consecuencia, los electrones presentan una elevada energía.

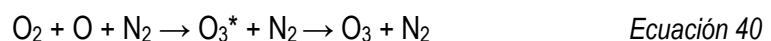
La presente Tesis Doctoral se centrará en los llamados plasmas fríos, concretamente en aquellos generados por el principio de DBD o descarga silenciosa. Ésta se basa en la ionización de un gas de trabajo o *de descarga*, empleando uno o dos electrodos, donde al menos uno de ellos estará cubierto por una capa de material dieléctrico (*p.ej.* vidrio). Dada la presencia del material dieléctrico, la DBD no podrá trabajar con corrientes DC debido a problemas de carga, por lo que

el modo general de trabajo será aplicando corrientes AC [120]. Además de polarizarse y generar un campo eléctrico que desplace las cargas, el material dieléctrico también actúa como un aislante entre el plasma generado y los electrodos, disminuyendo el desgaste de éstos producido por las especies reactivas del plasma.

Una de las grandes ventajas de las DBD reside en la versatilidad de su diseño, es decir, se han desarrollado dispositivos tanto a nivel industrial como miniaturizados para su uso en aplicaciones analíticas; la distribución de los electrodos y el dieléctrico, el tipo de gas elegido o los valores de amplitud de voltaje escogidos, entre otros, darán lugar a distintos tipos de plasma que se explicarán en mayor detalle en futuros apartados, haciendo especial énfasis en su aplicación en MS.

Debido al voltaje aplicado y al cambio de polaridad del dieléctrico, se producirán electrones de gran energía que, dada su gran población y las interacciones entre sí, permitirán interactuar con los átomos y moléculas pese a la diferencia de tamaño. Esto dará lugar a especies excitadas y metaestables sobre todo procedentes del gas de trabajo que, junto a la presencia de los electrones, llegarán a formar iones. La DBD presenta una aplicabilidad muy alta en el sector industrial, por lo que a continuación se procederá a explicar algunas de las aplicaciones más relevantes.

La DBD fue introducida por W. Siemens y colaboradores en 1857, tras proponer un método para la generación de ozono (O_3) a partir de aire empleando dos electrodos anulares, separados entre sí por un dieléctrico (**Figura 10**) [121]. A principios del siglo XX se hicieron importantes contribuciones al desarrollo del diseño industrial de generadores de ozono, haciendo que esta aplicación haya sido la principal durante muchos años empleando DBD; a día de hoy, las dimensiones de los dieléctricos empleados varían entre 20-50 mm de diámetro, de 1 a 3 m de longitud y con voltajes aplicados alrededor de 5 kV [122]. En lo que respecta a los mecanismos involucrados en la formación de ozono, el ambiente presentará un carácter altamente oxidante, y, por tanto, tendrá lugar una reacción a tres partes en la que están involucrados O, O_2 y N_2 del aire. Primero se disociará el oxígeno molecular por impacto electrónico formando especies radicales y a continuación, éste reacciona con el nitrógeno ambiental, presente generando ozono excitado (O_3^*) para después estabilizarse [122]:



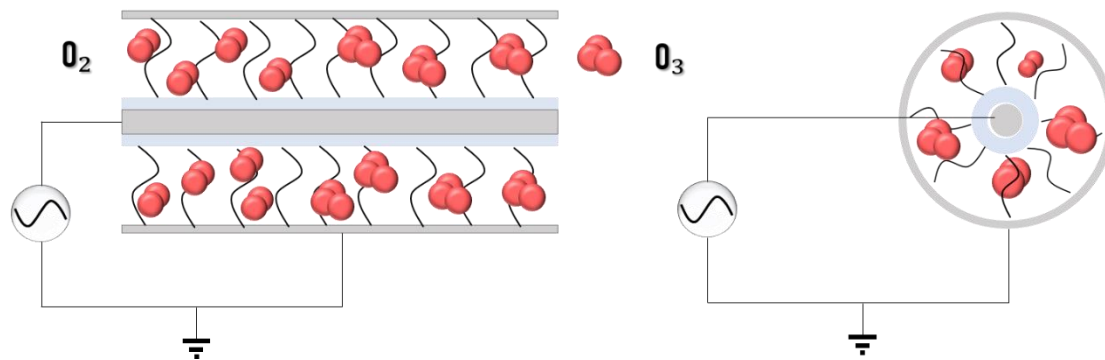


Figura 10. Esquema de la DBD desarrollada por Siemens [121] para la generación de ozono.

Basándose en el principio de generación de ozono, otra de las aplicaciones empleando DBD es la limpieza de flujos de gas con agentes contaminantes presentes como pueden ser compuestos orgánicos volátiles (*volatile organic compounds – VOC*), perfluorocarbonos (*perfluorocarbons – PFC*), hidrocarburos policíclicos aromáticos (*polycyclic aromatic hydrocarbons – PAH*), etc. Mediante la aplicación de la DBD, se formarán especies radicales (H^+ , OH^+ , etc.) a partir de H_2O que descompondrán los compuestos tóxicos en otras sustancias menos dañinas y de fácil eliminación (*p.ej.* CO , CO_2 , O_3 , sales o ácidos). Las principales ventajas de emplear DBD es la baja energía usada en comparación con otros métodos, como incineración térmica, además de la sencillez y disponibilidad de los generadores de plasma [122].

Otra de las aplicaciones empleando DBD es el tratamiento de superficies; se puede aplicar un plasma, en el que las especies radicales de éste actuarán sobre las moléculas del material para fines muy diversos, tales como la transformación de las moléculas superficiales del material para modificar las características del mismo (permeabilidad, dureza o niveles de oxidación), la activación de superficies, la reducción de la resistencia aerodinámica, etc. [123–125]. Además de esto, también se usa en la desinfección y esterilización de superficies en las que hay involucrados alimentos, eliminando especies microbiológicas, ya que se ha observado que la radiación UV producida por el plasma, sumado a las especies reactivas generadas, afectan directamente a los mecanismos relacionados con el ADN, ya que terminan dañándolo [126–131].

Por último, otra de las aplicaciones es la construcción de lámparas o láseres excimer [119], ya que los plasmas DBD se asemejan a las descargas luminiscentes de alta presión y, por tanto, se pueden emplear como fuentes de radiación ultravioleta; éstas fuentes generarán especies excitadas que serán utilizadas en el uso de técnicas como la fotolitografía [120]. Además, el deseo de querer reducir la concentración de CO_2 emitido a la atmósfera requiere de procesos de transformación a CO y O_2 con un alto gasto energético; gracias a los plasmas DBD y a

empaquetamientos con materiales inorgánicos (*p.ej.* ZrO_2) se han conseguido desarrollar procesos más eficaces y empleando mucha menos energía [132–134]. Finalmente, en la **Tabla 6** se muestran, a modo de resumen, las principales aplicaciones de la DBD en el ámbito industrial.

Tabla 6. Principales aplicaciones industriales con DBD como principio físico.

| Aplicaciones industriales empleando DBD | | |
|---|--|------------|
| Aplicación general | Ejemplo | Ref. |
| Transformación de compuestos presentes en el gas de trabajo | <i>Generación de ozono</i> | [121, 122] |
| | <i>Descontaminación de gases con agentes tóxicos</i> | |
| | <i>Reducción de emisiones de CO₂</i> | [132–134] |
| Tratamiento de superficies | <i>Activación de superficies</i> | [123–125] |
| | <i>Disminución de la resistencia aerodinámica</i> | |
| | <i>Desinfección y esterilización en alimentos</i> | [126–131] |
| Desarrollo de dispositivos | <i>Lámparas excimer UV</i> | [119] |

III.4.2. Uso de DBD en Química Analítica

En este apartado se desarrollarán las principales aplicaciones analíticas empleando DBD, excepto su uso en MS, el cual se detallará más adelante en la presente memoria. La principal ventaja de este fenómeno físico es la posibilidad de fabricación de dispositivos miniaturizados con las siguientes características [135, 136]:

- Gran poder de disociación de especies a baja temperatura.
- Configuración sencilla y modificable.
- Trabajo en condiciones ambientales, no requiere de sistemas de vacío.
- Larga duración de dispositivos.

Las aplicaciones en Química Analítica usando DBD pueden ser clasificadas en dos según el tipo de analitos a determinar: la detección de especies elementales y moleculares [137]. Mientras que el primer caso necesita de un aporte energético medio-alto para disociar y excitar las especies para su posterior detección, en el segundo se requiere baja potencia para llevar a cabo la ionización de los analitos minimizando las disociaciones. A continuación, se exponen las técnicas analíticas que son empleadas en la determinación de especies químicas mediante DBD (**Tabla 7**):

❖ **Espectrometría de emisión atómica (atomic emission spectrometry – AES).** Esta técnica es una de las más utilizadas en análisis de rutina de elementos metálicos y no metálicos, ya que presenta una gran eficiencia y alta sensibilidad [136, 138]. Su fundamento se basa en la excitación de los átomos a niveles electrónicos superiores, por parte de una llama o un plasma, y su posterior emisión de energía hasta regresar a niveles fundamentales [139]. Gracias a las características propias de gran disociación y excitación de especies en los plasmas DBD producidas bajo unas condiciones concretas de voltaje y campo eléctrico, estos son considerados como una alternativa de bajo consumo a las fuentes de excitación para la técnica [136]. De forma generalizada, la configuración de DBD será de tipo cilíndrico, debido a la forma de introducir la muestra. Por ejemplo, para el análisis directo de muestras sólidas mediante DBD-AES miniaturizado, habrá que recurrir a una etapa adicional de atomización de muestra, empleando vaporización electro-térmica o ablación láser, para evitar una disminución en la eficacia de la técnica ya que el efecto matriz tendrá una gran influencia en las etapas de muestreo y atomización [140, 141]. Respecto a la introducción de muestras líquidas, la problemática reside en la reducción de la capacidad de excitación del plasma e incluso que éste pueda apagarse. Por ello se han desarrollado varios sistemas, como por ejemplo uno basado en un microtubo por el que se introduce la muestra con una bomba de jeringa para el análisis de Na, Sr, Pb y Hg, que gracias a su configuración evita la electrolisis y, por tanto, la degradación de la muestra, ya que el líquido no está en contacto con el electrodo de alto voltaje [142]; por el contrario, también se desarrolló un dispositivo para la detección de Na, K, Cu, Zn y Cd [143] en el que la muestra se deposita en una lámina de vidrio con un hueco, lo que hace que no se requiera un componente para introducir la muestra, reduciendo el efecto memoria y el consumo de muestra. Además, como alternativa a la introducción directa de líquidos, se emplea la nebulización o la formación de un spray a partir de la muestra que ayuda a la construcción de un sistema miniaturizado utilizando un microplasma, por lo que se reducen los impedimentos mencionados anteriormente [144]. En cuanto a fase gaseosa, el efecto matriz de las muestras juega un papel crucial, ya que puede interferir enormemente en la determinación de analitos a nivel traza; por ello, una alternativa es emplear métodos basados en la generación de vapor [145, 146]. Estos pueden ser estándar, o bien añadiendo agentes oxidantes (*p.ej.* KMnO_4 o H_2O_2) que generarán las especies volátiles, las cuales tendrán una buena separación entre sí, además de obtener mejores resultados, alrededor de cuatro órdenes de magnitud, en la detección de elementos no metálicos como C, S, Cl, Br y I [147]. Cabe decir que los mecanismos de excitación producidos en el plasma aún no están completamente vislumbrados, aunque dadas las características presentadas se pueden construir sistemas miniaturizados funcionales para DBD-AES.

❖ **Espectrometría de absorción atómica (atomic absorption spectrometry – AAS).** Es una técnica basada en la absorción de energía con longitudes de onda correspondientes a transiciones electrónicas de radiación ultravioleta o visible, por parte de sustancias atomizadas previamente [139]. El componente fundamental de esta técnica será el atomizador (*p.ej.* de llama) que, de forma clásica, muestra una gran robustez y reproducibilidad, aunque presenta baja sensibilidad y capacidad de atomización [136, 138]. Por ello, los atomizadores basados en DBD son una gran alternativa, ya que han presentado mejores resultados de sensibilidad, hasta dos órdenes de magnitud, y mejor eficiencia en la atomización de las especies de interés frente a los atomizadores clásicos como el tubo de cuarzo calentado para el análisis de Se, As y Pb [148–151]. Además, sus condiciones de trabajo a baja temperatura (temperatura ambiente), bajo consumo de energía (alrededor de 5 W), y la configuración planar de los electrodos y el dieléctrico, hacen de la DBD un candidato idóneo para desarrollar dispositivos miniaturizados acoplados a la fuente de radiación y al detector en un único diseño compacto [152]. Se han desarrollado atomizadores basados en DBD a los que se les ha añadido una pieza en *T* de cuarzo para realizar en el mismo procedimiento una etapa de preconcentración y la posterior atomización [153]. La primera fase de retención ocurre tras aplicar un flujo de O₂ sobre el cuerpo del DBD, quedando atrapadas las especies de interés; en la segunda etapa, la de volatilización, se para el flujo de gas y las especies se liberarán y atomizarán; este sistema fue aplicado a análisis ultratraza de As, Sb y Se, mostrando una evidente mejora en la detección [152, 154, 155]. Al igual que en DBD-AES, aún no están claros los mecanismos de atomización, como por ejemplo la forma en que se generan los átomos libres y su decaimiento.

❖ **Espectrometría atómica de fluorescencia (atomic fluorescence spectrometry – AFS).** Es una técnica analítica basada en la luminiscencia de las especies, por lo que, tras aplicar una radiación, se produce la excitación por fotones de los átomos y estos emiten desde los estados excitados en un corto período de tiempo ($<10^{-5}$ s) [139]. Es empleada en análisis de rutina gracias a la sencillez de trabajo, aunque no está tan generalizada como AAS por sus bajas ventajas respecto a ésta. Al igual que en AES y AAS, el atomizador es la parte fundamental y, basándose en DBD y sus características, se pueden construir atomizadores miniaturizados que compitan con los clásicos como el de llama, la radiación UV, etc [136, 138]. La mayoría de las configuraciones descritas en la bibliografía presentan DBDs con disposición cilíndrica [156–159], en las que la radiación fluorescente, perpendicular al haz de luz, fue medida a la salida del atomizador. Un ejemplo de esto es el sistema desarrollado por Zhu y *col.* [160], en el que el atomizador tiene una temperatura de trabajo de 52 °C, lo que permite el acoplamiento de los distintos elementos (fuente de radiación, atomizador y detector) en un dispositivo portátil; este diseño se aplicó a la

determinación de elementos como Se, Sb y Pb en muestras vegetales y en pelo humano. También se desarrolló un reactor DBD que actúa como atomizador y recolector, es decir, aplicando una etapa de preconcentración y limpieza [161]; el analito, en este caso arsénico, se retiene en el plasma aplicando una corriente de O₂, siendo llevado a un circuito durante un tiempo para eliminar interferencias de vapor de agua y, finalmente, la especie se libera y se atomiza tras aplicar un flujo de H₂ [161]. Debido a la configuración cilíndrica empleada, se puede perder eficacia en la técnica ya que la señal de fluorescencia solo podrá ser medida en la zona del plasma; esto da lugar a una separación entre las etapas de atomización y excitación y la de decaimientos de los átomos generados. La investigación para avanzar en la técnica DBD-AFS se está centrando en el desarrollo de nuevos métodos de introducción de muestra que mejoren la técnica y permitan la simultaneidad de los procesos de atomización y excitación [136].

❖ **Quimioluminiscencia (QL).** Su fundamento se basa en la radiación emitida por especies que han sido excitadas previamente y formadas durante una reacción química [139]. Dadas sus características de elevada sensibilidad, rapidez de análisis y bajo coste, es una de las técnicas analíticas más elegidas para aplicaciones de rutina. Para tratar muestras en fase líquida, los reactivos necesitan ser oxidados y generar radicales para poder emitir intensamente [135]. Sin embargo, con el fenómeno de DBD se pueden crear un método efectivo y sencillo de generación de especies radicales. En 2007, He y *col.* [162] desarrollaron un dispositivo DBD, con configuración planar, para la determinación de alcoholes, aldehídos y compuestos aromáticos entre otros; además, este diseño se aisló en una caja negra con el fin de evitar un alto ruido de fondo. En el mecanismo de excitación de las especies influyen dos factores: el propio plasma y la radiación UV que genera la descarga; también se comprobó que la anchura de los picos generados está relacionada proporcionalmente con la cantidad de radicales generados, así como con la reactividad de los mismos.

❖ **Detectores GC.** Dentro de este apartado habría que resaltar tres tipos de detectores desarrollados para GC basándose en la DBD [135]: detector DBD similar al detector de llama [163], un detector de láser de diodo con absorción atómica (DL-DBD-AAS) [164] y un detector empleando quimioluminiscencia [165]. En el año 2006 se comercializó un detector para GC que empleaba helio y argón como gases de descarga a contracorriente, obteniendo una línea base más estable y evitando la posible contaminación del electrodo [163]; la recolección de las especies cargadas se realiza aplicando un voltaje entre los dos electrodos del DBD. Con este detector se consiguió detectar arsano (AsH₃) y fosfano (PH₃) en hidrocarburos a concentraciones de partes por millón (ppm) [166]. El detector basado en AAS [164], especialmente para analitos que contienen Cl (aunque también se pueden detectar especies de S, I, Br y F), se acopla de forma perpendicular

al final de la columna de GC y en contacto con el plasma generado; para conseguir una señal de fondo constante, se utiliza un gas auxiliar. Por último, el detector fundamentado en quimioluminiscencia, se aplicó a la detección de analitos hidrocarburos halogenados volátiles (cloroformo, diclorometano, perfluorometano, etc.), obteniendo límites de detección del orden de picomoles [165].

Tabla 7. Técnicas analíticas que utilizan DBD para la detección de analitos.

| Aplicación DBD | Configuración DBD estándar | Especies detectadas | Ref. |
|----------------|----------------------------|---|-----------|
| AES | <i>Cilíndrica</i> | Na, Sr, Pb, Hg, K, Cu, Zn, Cd, C, S, Cl, Br y I | [140–147] |
| AAS | <i>Planar</i> | Se, As, Pb, Bi Pb Sn | [148–153] |
| AFS | <i>Cilíndrica</i> | As, Pb, Se, Sb | [156–161] |
| QL | <i>Planar</i> | Alcoholes, aldehídos, bencenos, cloroalcanos, etc. | [162] |
| Detectores GC | <i>Cilíndrica</i> | Arsano, fosfano, S, I, Br, F, hidrocarburos halogenados volátiles | [163–166] |

III.4.3. Diseño de la fuente DBD para aplicaciones en MS

Como se ha expuesto anteriormente, la MS es una de las técnicas con mayor potencial en la detección y cuantificación de especies, con gran sensibilidad en sus medidas; esto, sumado a las características propias de los plasmas generados mediante DBD ha conducido al desarrollo de estas fuentes de ionización acopladas a MS[167]. Principalmente, este tipo de fuentes fueron diseñadas para su uso en AIMS, dada la capacidad de estos plasmas de trabajar a presión atmosférica, así como su capacidad de analizar la muestra sin tratamiento previo o la posibilidad de poder construir dispositivos miniaturizados. No obstante, su uso se ha extendido en los acoplamientos LC-MS y GC-MS, tal y como se detallará más adelante. Estas fuentes de ionización basadas en DBD están consideradas blandas, dado que a las especies de interés analizadas no se les aplicará una alta energía por parte de los plasmas y, por tanto, las moléculas quedarán intactas o levemente fragmentadas.

Dadas las características de las fuentes DBD, éstas pueden considerarse una alternativa a APCI, e incluso a APPI, ya que se pueden analizar compuestos con igual eficiencia en los mismos rangos

de peso molecular y polaridad, además de la versatilidad presentada. De igual modo, las fuentes basadas en DBD podrían competir también con la fuente ESI, ya que tiene la capacidad de ionizar analitos polares con un bajo peso molecular (<1000 Da); por tanto, se puede afirmar que la fuente DBD comparte lugar con APCI y APPI en el diagrama mostrado en el apartado III.3.4. (Figura 5). En apartados posteriores se realizará un análisis comparativo la eficiencia de las fuentes de ionización DBD con respecto a las fuentes comerciales para diversas aplicaciones analíticas.

El tipo de plasma que se genere dependerá de los parámetros elegidos tales como el voltaje, los electrodos, el dieléctrico, etc. A su vez, según la naturaleza del plasma, estos tendrán distintas aplicaciones; por ello, en el siguiente apartado se desarrollarán los parámetros necesarios para producir, bajo unas condiciones idóneas, un plasma que será empleado como fuente de ionización en MS.

III.4.4. Principales parámetros de una fuente basada en DBD

La descarga debe producirse entre dos electrodos, uno conectado a alto voltaje (*High voltage electrode – HV*) y otro conectado a tierra (*ground electrode – GND*), y el material o materiales dieléctricos que los separa, mientras fluye un gas de trabajo que va a ser ionizado y, de este modo, generar el plasma. El dieléctrico también actúa como una barrera que separa el plasma de los electrodos, a los que se aplica un voltaje AC, en el que tanto su constante dieléctrica como el espesor del material darán lugar al valor de corriente que puede discurrir a lo largo del mismo para producir la descarga; ésta se generará si el campo eléctrico es lo suficientemente elevado para igualar o superar el voltaje de ruptura del gas de trabajo empleado [168]. El material más utilizado para actuar como barrera dieléctrica es el vidrio, aunque también se emplean otros como cuarzo, materiales cerámicos o poliméricos [136, 169].

Por otro lado, se encuentran los gases de trabajo o descarga empleados, que influyen en la selección de valores de los parámetros involucrados para producir la generación del plasma; estos parámetros se elegirán en función de características como la naturaleza de los gases o el flujo al que se trabaja. El gas de descarga (G) se selecciona, en MS, en base a su capacidad de producir especies metaestables (G^M) (Ecuación 41) que inicien una cascada de reacciones que lleven a una ionización de los analitos de interés [170].



El gas de descarga debe ionizarse para generar las especies metaestables. En la **Tabla 8** se muestran los potenciales de ionización de los gases más utilizados. Como puede observarse en

dicha tabla, normalmente los gases más empleados para este tipo de fin son los gases nobles, especialmente el helio, dados sus potenciales y capacidad de ionización, aunque también se emplean otros como nitrógeno. Además, también se están empleando mezclas de gases como helio con pequeñas cantidades de nitrógeno, argón con un pequeño porcentaje de propano, o nitrógeno con un pequeño porcentaje de humedad, ya que se ha demostrado que estas “impurezas” que van en menor cantidad mejoran y fomentan los mecanismos de ionización [171]. Además, estos gases también ayudarán al transporte de los iones generados hacia el interior del espectrómetro de masas. En el epígrafe **III.4.6.** se explicarán en mayor profundidad los mecanismos de ionización que tienen lugar en los plasmas basados en DBD, así como la función de los gases de descarga en los mismos.

Tabla 8. Relación de elementos de la tabla periódica más empleados ordenados por su primer potencial de ionización (eV).

| Elemento | Primer potencial de ionización (eV) |
|---------------|-------------------------------------|
| Helio (He) | 24,5874 |
| Neón (Ne) | 21,5645 |
| Argón (Ar) | 15,7596 |
| Nitrógeno (N) | 14,5341 |
| Oxígeno (O) | 13,6181 |
| Hidrógeno (H) | 13,5984 |

Respecto al flujo de trabajo empleado, cabe decir que éste variará en función de las dimensiones de los dispositivos diseñados, pero para fuentes miniaturizadas el rango de flujo de gas será de 50 – 1000 mL min⁻¹. Como se ha mencionado anteriormente, el gas más utilizado es helio dada su alta energía y, por ende, un menor consumo de la fuente.

El voltaje necesario para la ignición de un plasma y su estabilización vendrá determinado por la *ley de Paschen* (**Ecuación 42**), enunciada por Friedrich Paschen en 1889 [172], en la que se describen los límites para generar dicho plasma en función de la presión de trabajo y la distancia entre electrodos:

$$V = \frac{a \cdot P \cdot d}{\ln(P \cdot d) + b} \quad \text{Ecuación 42}$$

Siendo V = Tensión disruptiva (V); P = Presión del gas (Pa); d = Distancia entre los electrodos (m); a y b constantes dependientes del gas de descarga.

Como se puede comprobar en esta relación, el voltaje y el gas de descarga empleado son los parámetros cruciales a la hora de desarrollar dispositivos para la generación de plasmas basados en DBD; la optimización de dicho factor también estará influenciada por otros parámetros como la configuración de los electrodos. En este sentido, si se aplica un voltaje superior al valor crítico de ruptura del gas de descarga utilizado, se obtendrá un grado de ionización lo suficientemente alto para que las especies iónicas y neutras permitan la formación del plasma [168]; el voltaje de ruptura variará en función del gas de descarga. En el caso de una fuente de DBDI de dos anillos, de la que se hablará en la sección III.4.5.3., bastará con aplicar 2 kV al utilizar helio para obtener un plasma estable; mientras que, si se utiliza argón como gas de descarga, serán necesarios entre 4 y 5 kV para la formación de un plasma estable. Además, este voltaje producirá la polarización del material dieléctrico, distribuyendo las cargas en el interior de la lámina dieléctrica y a lo largo del eje del campo eléctrico aplicado; puede afirmarse que es un parámetro que controla de forma directa la cantidad total de cargas presentes en la descarga, conociendo de forma anticipada el comportamiento que presentará. Si se estudia la variación de la amplitud de voltaje, al emplear valores bajos se muestra un descenso en la cantidad total de carga influyendo directamente en la energía que tendrá el plasma, así como en la longitud del mismo; por el contrario, si se aumenta demasiado el voltaje, se generarán demasiadas cargas a lo largo del capilar que cambiarán la naturaleza del plasma formado y le darán una mayor capacidad disociativa [173].

El valor del voltaje de ruptura es de suma importancia en el desarrollo de dispositivos miniaturizados que empleen un plasma DBD trabajando a presión atmosférica, ya que conocer este voltaje permite controlar la distancia mínima entre electrodos para obtener un plasma estable. Por ejemplo, si se hiciera un cálculo teórico, concretamente para el helio, en el que se aplicara una corriente de 240 V y se trabajara a 1000 mbar, aplicando dicha ley, el cátodo y el ánodo deberán estar separados, como mínimo, por 24 μm para provocar el encendido y posterior estabilización del plasma [174].

Los plasmas fríos, concretamente los generados por DBD, se producen mediante pulsos de voltaje, es decir, los plasmas sufren ciclos de encendido y apagado imperceptibles para el ojo humano. Por su operatividad a presión atmosférica, dichos voltajes dependerán de las características del material dieléctrico empleado.

Los generadores de onda de alto voltaje en corriente alterna trabajan en rangos bajos de frecuencia (500 Hz – 500 kHz) presentando distintas formas de onda, siendo las más típicas las de *onda cuadrada*, *sinusoidal* o *por pulsos* [138, 175]. Los generadores más empleados son los de onda cuadrada y sinusoidal (**Figura 11**), donde las primeras presentan un tipo de onda en las que se pasa de forma regular de un valor de voltaje positivo a uno negativo, y viceversa, en un tiempo reducido; por el contrario, las ondas sinusoidales se caracterizan por ser la función matemática del seno en base al voltaje máximo aplicado, con una amplitud constante. Ciertos estudios han demostrado que los generadores de onda cuadrada ofrecen numerosas ventajas en cuanto a estabilidad de la corriente, produciendo un plasma más estable y reproducible, y su aplicabilidad en el campo de la Química Analítica [137]; además, también se ha demostrado que el uso de estos generadores fomenta la intensidad de las líneas de emisión de las especies metaestables de helio, produciendo un plasma jet más intenso y, por consiguiente, una mayor eficacia para la ionización suave de las especies. Otra diferencia de los generadores de onda cuadrada respecto a los generadores de onda sinusoidal es la capacidad de trabajo a menores valores de alto voltaje, ya que estos permiten mantener mejor el área bajo la onda, repercutiendo directamente en un mayor precio para el desarrollo del generador [176, 177].

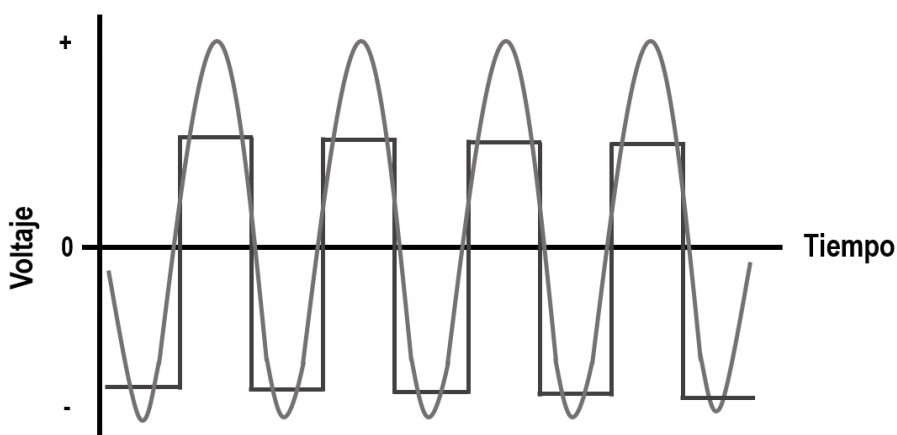


Figura 11. Onda sinusoidal y onda cuadrada generadas en HV con corriente alterna.

La gran ventaja de este tipo de fuentes reside en la versatilidad de diseño que presentan. Por ello, a lo largo de las últimas dos décadas, se han propuesto diferentes configuraciones en las que se varía la disposición entre electrodos y dieléctrico, todo ello enfocado a las necesidades de la aplicación que se pretenda desarrollar. En el caso de que los electrodos estén separados por completo del plasma formado, se habla de una DBD completa, generando un plasma con menor capacidad energética; mientras que si alguno de los electrodos está en contacto con el plasma se denomina DBD media, presentando el plasma una mayor energía. De forma general, se puede

hacer una clasificación de estas configuraciones en función de si el plasma se encuentra encapsulado entre los electrodos o no; si el plasma está confinado se definirá como descarga en volumen, mientras que si se forma en un dispositivo con abertura al exterior se denomina descarga capilar (*capillary discharge*) [120, 136]. La principal característica para elegir entre un plasma encapsulado o que salga al exterior es la capacidad disociativa que presenta. En descarga en volumen, los plasmas tendrán una mayor energía que disociará las especies y se usarán en técnicas como espectrometría de emisión; por el contrario, el plasma que sale al exterior será aplicado como ionización suave en MS [120].

III.4.4.1. Configuraciones básicas empleadas en DBD

Dentro de las descargas en volumen hay dos configuraciones básicas: planar y cilíndrica; la primera de ellas se utiliza principalmente en el desarrollo de plasmas aplicados a otras técnicas analíticas como espectrometría de absorción o emisión, mientras que la configuración cilíndrica encuentra su aplicación en la rama industrial (*p.ej.* generación de ozono). En la **Figura 12** se muestra un esquema con las principales disposiciones de los electrodos para dispositivos DBD. Debe destacarse que la dirección de propagación del plasma dependerá de la configuración elegida y la disposición de electrodos, variando al identificar cuál se conectará a tierra y cuál a alto voltaje. En este sentido, se hará hincapié en las distintas disposiciones que tomarán los electrodos HV y GND en la DBD capilar, ya que esta configuración es la más utilizada en su aplicación en MS molecular.

❖ En disposición planar, los electrodos estarán enfrentados de forma paralela, dejando un hueco en el que se colocará la lámina o láminas de material dieléctrico y, por tanto, se producirá la descarga. Según se muestra en la **Figura 12A**, cuando la lámina se coloca en mitad del espacio entre los electrodos permitirá emplear dos gases de trabajo distintos en un mismo dispositivo. Por otra parte, al poner el dieléctrico en contacto con uno de los electrodos (**Figura 12B**) se puede generar una contaminación en el plasma provocada por el arranque de partículas o *sputtering* del otro electrodo que está en contacto directo con la descarga. Por último, aquella disposición (**Figura 12C**) en la que se produce una descarga completa, por recubrimiento total de los electrodos, será la de mayor aplicabilidad, dado que se emplea para análisis elemental y generará plasma de más pureza, es decir, sin especies producidas por *sputtering* [136, 178].

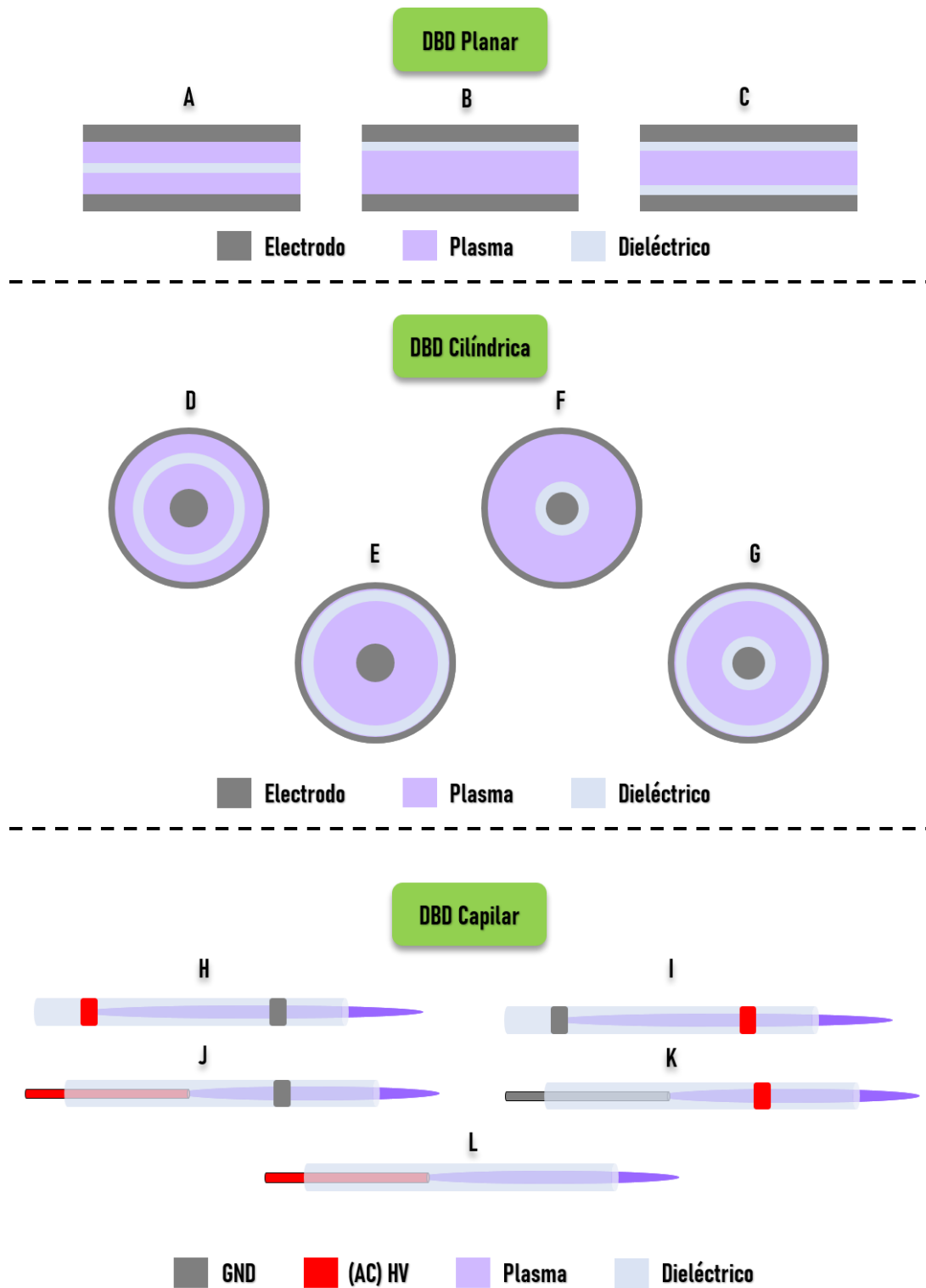


Figura 12. Diagrama de las principales configuraciones empleadas en DBD. En la parte superior se representan las principales disposiciones de la configuración planar: un dieléctrico entre los dos electrodos (A), un dieléctrico junto a un electrodo (B) y dos dieléctricos junto a ambos electrodos (C); en la parte media se muestran las disposiciones de la configuración cilíndrica: el dieléctrico entre los electrodos (D), el dieléctrico junto a uno de los electrodos (E, F) y dos dieléctricos junto a cada electrodo (G); en la parte inferior se muestra la DBD capilar mostrando el intercambio de la posición de los electrodos: configuración *ring-to-ring* (H, I), *pin-to-ring* (J, K) y *single-pin* (L).

❖ La DBD cilíndrica consiste en dos electrodos anulares, uno centrado y el otro de forma concéntrica al primero, con la(s) lámina(s) de dieléctrico entre ellos; ésta puede estar justo en el medio (**Figura 12D**), junto a uno de los electrodos (**Figura 12E-12F**) o en la que los electrodos están recubiertos con dos láminas de dieléctrico (**Figura 12G**). Al igual que con la configuración anterior, si no se cubren completamente los electrodos se pueden provocar contaminaciones en el plasma al producirse arrancado de material de estos. Este tipo de diseño se aplica principalmente en el tratamiento de gases para eliminar contaminantes presentes o en reacciones catalíticas basadas en plasmas más que en MS [136, 178].

❖ Por último, en la DBD capilar el material dieléctrico tendrá forma tubular, abierto por ambos extremos, y en el que los dos electrodos se dispondrán entorno a éste o un electrodo en el interior del dieléctrico, generando un plasma dentro del capilar y permitiendo su salida. Según la forma de los electrodos (anular o en punta), así como la disposición del electrodo de alto voltaje y el que está conectado a tierra, se distinguen tres configuraciones [136, 179]:

- *Anillo a anillo (ring-to-ring)*. Los dos electrodos tienen forma anular y están dispuestos en alrededor del capilar del dieléctrico. Cuando ambos electrodos están dispuestos en el exterior del capilar, el electrodo de alto voltaje podrá estar, o bien al inicio del capilar (**Figura 12H**) o al final (**Figura 12I**). En el diseño en el que un electrodo se encuentra en el exterior del capilar y otro en el interior del mismo, el alto voltaje se puede conectar al electrodo interno o al externo.

- *Varilla a anillo (pin-to-ring)*. Ambos electrodos estarán separados por el dieléctrico, ya que aquel con forma puntiaguda (varilla) se encontrará en el interior y estará en contacto directo con el plasma; el electrodo interno puede estar conectado a alto voltaje (**Figura 12J**) o a tierra (**Figura 12K**).

- *Una única varilla (single-pin)*. Únicamente se empleará un electrodo conectado a alto voltaje que discurrirá por el interior del capilar dieléctrico (**Figura 12L**); para generar la descarga dieléctrica se utilizarán las paredes del dieléctrico y la propia entrada del espectrómetro de masas, actuando como un electrodo “virtual” a tierra.

III.4.4.2. Regímenes de los plasmas generados mediante DBD capilar

Una vez explicadas las diversas configuraciones, se procederá a desarrollar los distintos regímenes de plasmas que pueden producirse en base a las cargas generadas. La aplicación de un gran campo eléctrico con elevada amplitud de voltaje producirá una DBD en la que se generará principalmente, en la misma ignición, dos regímenes de plasma diferentes denominados *plasma jet* y *plasma coincidente* [180] (**Figura 13**). El *plasma jet* es aquel que sale del capilar al exterior tras la descarga y se caracteriza por tener una alta densidad de especies reactivas (*p.ej.* clústeres

de agua) y baja cantidad de especies de alta energía (metaestables), produciendo una baja fragmentación de las moléculas que son estudiadas [173, 181, 182]. Por el contrario, el plasma coincidente se forma debido al elevado valor del campo eléctrico aplicado y éste se genera en la distancia que hay entre los dos electrodos, “coincidiendo” con la corriente aplicada entre los mismos; las especies generadas en este tipo de plasma tendrán una mayor energía y, por tanto, una mayor capacidad disociativa que supondrá un aumento también en la fragmentación de las especies que se pretendan analizar [173, 179, 180].

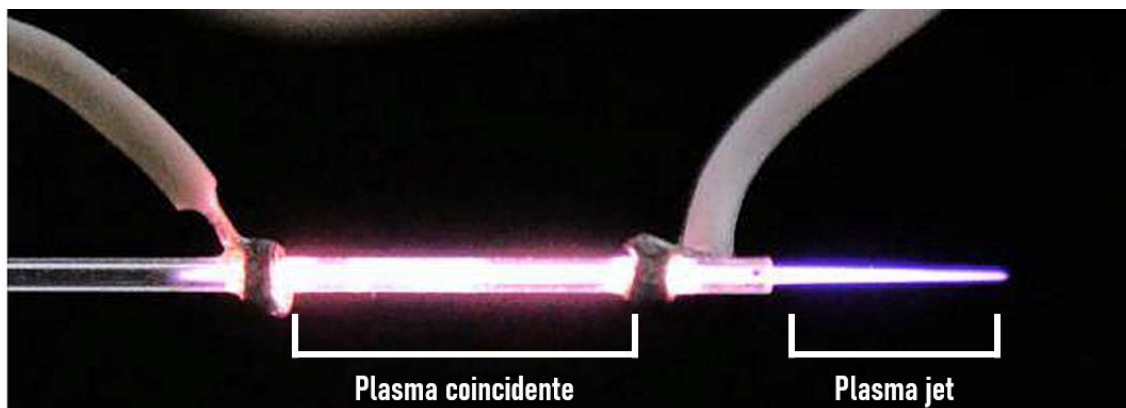


Figura 13. Fotografía de la sonda DBDI operando con helio como gas de descarga, en la que se distinguen el plasma jet y el plasma coincidente generados [167].

Si se pretende desarrollar una fuente de ionización para MS molecular basada en DBD, lo ideal sería tener una en la cual la fragmentación de los analitos fuera nula o, en su defecto, mínima. En este sentido, juega un papel importante el ciclo de trabajo o *duty cycle*, que se define como el tiempo en el que se aplica voltaje al sistema para producir la ignición del plasma. El *duty cycle* influye en el régimen formado (coincidente o plasma jet), así como el tiempo en que la fuente estará encendida o apagada, por lo que este parámetro será de gran utilidad ya que permite un control adicional en las características del plasma deseadas, como los mecanismos de excitación.

III.4.4.3. Modos de operación de la descarga

La DBD produce electrones de elevada energía que, al colisionar con los átomos del gas de descarga, permiten la excitación de éstos dando lugar a especies metaestables que se ven envueltas en los mecanismos de ionización de los analitos. En apartados posteriores de la presente Tesis Doctoral se profundizará en la explicación de dichos mecanismos.

Según los procesos de generación de corriente que predominen en DBD, se distinguen dos modos: *filamentario* y *homogéneo* [183, 184]; si el campo eléctrico es demasiado elevado para causar la

descarga, se formarán microdescargas individuales ($< 200 \mu\text{m}$), de corta duración ($< 100 \text{ ns}$), distribuidas de forma aleatoria en el dispositivo DBD, correspondiéndose con un modo filamentario. En el campo de su uso como fuente de ionización intenta evitarse este tipo de régimen en los plasmas dada su alta energía y, por tanto, su capacidad disociativa sobre la molécula. Por el contrario, en el modo homogéneo, el plasma generado se distribuirá de forma uniforme a lo largo de los electrodos y tras aplicar voltajes menores, haciendo de este régimen el idóneo en plasmas que serán utilizados para MS molecular.

En cuanto a la aplicabilidad en el análisis de compuestos mediante MS, y según se ha visto en medidas experimentales [185], trabajar en modo homogéneo y la presencia de plasma jet de gran longitud propicia la formación de más especies N_2^+ en el plasma que, como consecuencia, fomentará la ionización de los compuestos y, por tanto, dará lugar a mejores señales. Sin embargo, el plasma en modo filamentario presenta un comportamiento más disruptivo, haciendo que haya una menor concentración de especies ionizantes en el medio, como por ejemplo N^+ , lo que derivará en una peor eficiencia del proceso de ionización y, por ende, en la disminución de las señales de los analitos estudiados.

Finalmente, y a modo de resumen, en la **Tabla 9** se muestran los principales parámetros que son determinantes en la formación y aplicación de un plasma mediante DBD.

Tabla 9. Resumen de los principales parámetros involucrados en la formación de un plasma DBD.

| Componente principal | Parámetros optimizables |
|-----------------------------|---|
| <i>Material dieléctrico</i> | Grosor (mm) |
| | Naturaleza (vidrio, cerámica, etc.) |
| <i>Gas de descarga</i> | Tipo de gas empleado (He, Ar, N_2 , etc.) |
| | Flujo de trabajo (mL min^{-1}) |
| <i>Electrodos</i> | Amplitud de voltaje (V - kV) |
| | Distancia (mm) |
| | Disposición (planar, cilíndrica, capilar) |
| | Duty cycle |
| | Frecuencia de pulsos (onda cuadrada, sinusoidal o pulsada; kHz) |
| <i>Plasma</i> | Regímenes: <i>plasma jet</i> / plasma temprano / coincidente |
| | Modos de operación: homogéneo / filamentario |

III.4.5. Principales diseños empleados en DBDI

Como se ha comentado en el anterior apartado, hay un número razonable de parámetros que deben tenerse en cuenta a la hora de diseñar una fuente de ionización para MS basada en DBD; estos parámetros deben optimizarse en función de la aplicación requerida, ya que la naturaleza del plasma generado variará según las condiciones fijadas.

Basándose en esto, hay diversas fuentes DBD que han sido diseñadas para su uso en MS [186]; según el criterio de la disposición de los electrodos y el material dieléctrico. En la presente Tesis se profundizará en cinco fuentes de ionización, en base a la configuración utilizada: *ionización por DBD “pin-to-plate”, plasma de baja temperatura, ionización por DBD “ring-to-ring”, ionización por plasma con capilar activo y plasma por microtubo flexible.*

III.4.5.1. Ionización por descarga de barrera dieléctrica “pin-to-plate” (Dielectric Barrier Discharge Ionization – DBDI)

En el año 2007, el grupo del profesor Xinrong Zhang desarrolló la primera fuente de ionización suave basada en DBD acoplada a un espectrómetro de masas, denominándola **DBDI** [187]. Se diseñó como una alternativa a las fuentes de ionización ya empleadas en MS en condiciones ambientales, como DESI o DART [103]. A diferencia de estas dos, DBDI no requiere que el disolvente esté en forma de spray para ionizar como en el caso de DESI [100] ni tiene una configuración tan compleja como es el caso de DART [101]. La finalidad de este diseño es la de desorber e ionizar los analitos presentes en la muestra en la misma etapa, gracias al volumen de plasma generado.

Este primer dispositivo DBDI presenta una disposición *pin-to-plate*; el electrodo conectado a alto voltaje tiene forma de aguja y está hueca por dentro para permitir la introducción del gas de descarga, mientras una lámina de cobre actúa como electrodo conectado a tierra como se muestra en la **Figura 14**. El material dieléctrico empleado es una lámina de vidrio que se sitúa entre los dos electrodos, concretamente depositado sobre la lámina de cobre, y a una distancia entre 5 y 10 mm de la punta de la aguja; el vidrio actúa a su vez como soporte para colocar las muestras que se quieran analizar, colocándose sobre una plataforma que permite el movimiento de la muestra en tres dimensiones para posicionar correctamente cada una de ellas bajo el plasma generado. La descarga forma un plasma estable entre ambos electrodos tras aplicar un voltaje AC entre 3,5 y 4,5 kV, con una frecuencia de 20,3 kHz y el gas de trabajo que discurre por el interior del electrodo de aguja a 50 mL min⁻¹; los gases testados en este diseño fueron helio, argón, nitrógeno y aire [187].

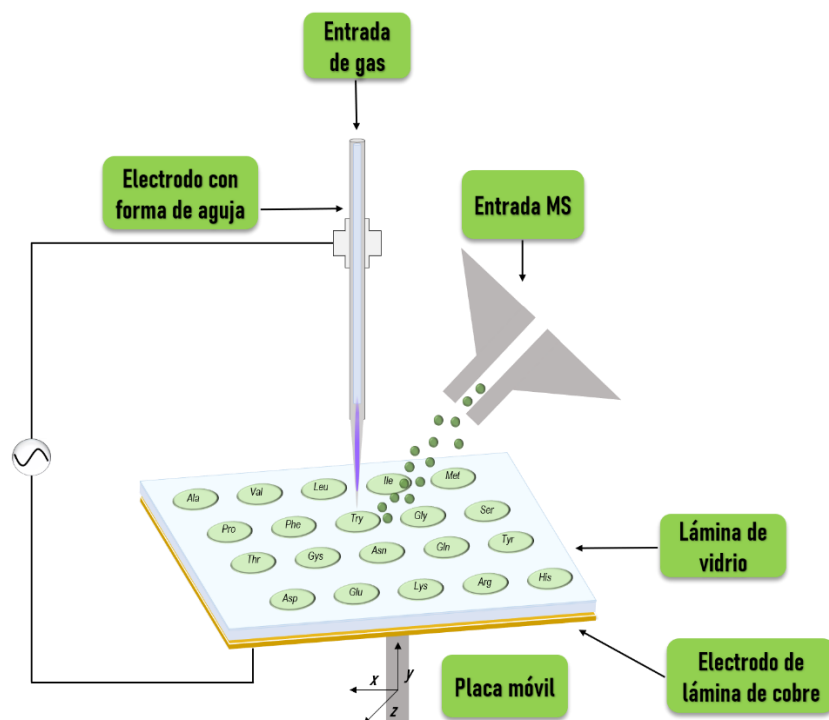


Figura 14. Esquema de la fuente DBDI desarrollada por Na y col. [187]

Las especies de interés elegidas para su análisis utilizando este dispositivo fueron 20 aminoácidos, los cuales se depositaron sobre la lámina de vidrio que actúa como dieléctrico; los resultados mostraron, para la evaluación de L-alanina, una buena reproducibilidad y un límite de detección de 3,5 pmol.

III.4.5.2. Plasma de baja temperatura (Low Temperature Plasma – LTP)

Un año después de ser publicado el primer trabajo utilizando una fuente DBDI acoplada a MS [187], el grupo del profesor R. Graham Cooks reportó una nueva fuente de ionización basada en DBD que denominaron plasma de baja temperatura (*Low Temperature Plasma – LTP*) [116]. Esta fuente está basada en el diseño de Na, aunque con ciertas modificaciones cruciales como el uso de un capilar de mayor tamaño o el cambio en la configuración de los electrodos (*pin-to-ring*) que permite la interacción directa del plasma jet generado con las moléculas presentes en la superficie de la muestra.

Harper y colaboradores presentaron el diseño de LTP [116] que consiste en un capilar de vidrio que actúa como dieléctrico, un electrodo de acero inoxidable con forma de pin conectado a tierra, centrado axialmente en el interior del capilar, y un anillo de cobre colocado en el exterior del capilar y en lado opuesto del pin, actuando como electrodo de alto voltaje (**Figura 15**). Para operar el plasma en el interior del capilar y mantenerlo estable se aplicó un voltaje entre 2,5 – 5 kV y una frecuencia de 2 a 5 kHz, produciendo los pulsos con un generador de onda cuadrada.

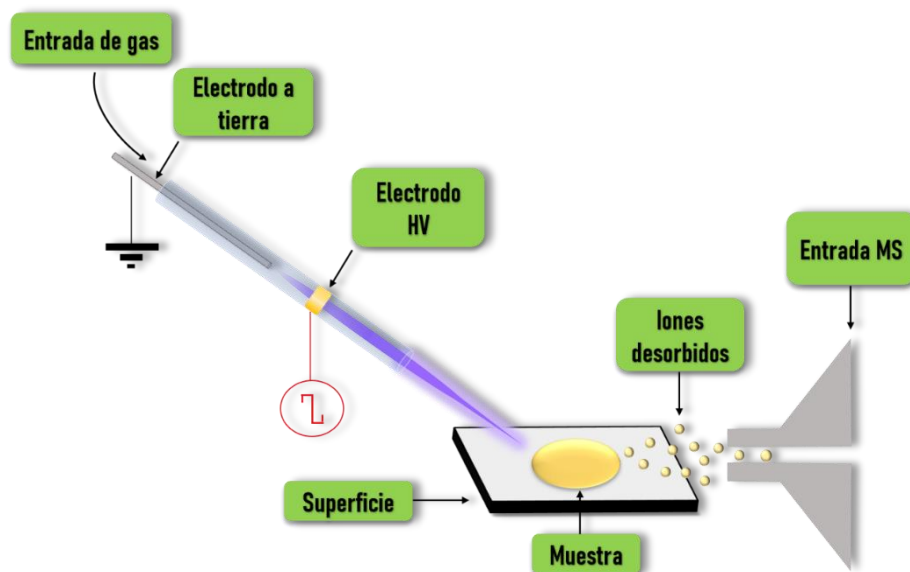


Figura 15. Esquema de la fuente LTP diseñada por Harper y col. [116].

Respecto al gas de trabajo utilizado en LTP, éste presenta dos finalidades: fluir a lo largo del interior del capilar para producir la descarga y transportar los analitos, ya ionizados y/o desorbidos, hacia la entrada del espectrómetro de masas. El tamaño y diseño de la fuente de ionización LTP permite el uso de gases de descarga como aire, argón, nitrógeno y helio, siendo estos dos últimos los más comunes permitiendo el uso de flujos de entre $5 - 1000 \text{ mL min}^{-1}$ [188]. El diseño de esta fuente genera un plasma jet que sobresale un par de centímetros respecto al capilar, el cuál puede ser modificado tras variar la posición del electrodo con forma de pin, dando lugar al posible control de la fragmentación producida por el plasma [186]. Gracias a que el electrodo HV se encuentra separado de la región de descarga, la muestra no se dañará por un impacto eléctrico; además, la temperatura del plasma está alrededor de $30 \text{ }^\circ\text{C}$, lo que deriva en la posibilidad de analizar directamente sustancias sin daño térmico (Figura 16).

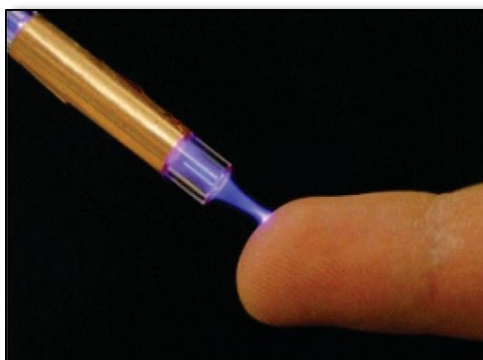


Figura 16. Fotografía del plasma jet actuando sobre la superficie de un dedo para su análisis [116].

Además del diseño original explicado anteriormente, a lo largo de los últimos años han surgido nuevos diseños de LTP tras aplicar, desde modificaciones leves, hasta otras de carácter crítico. Dentro del amplio número de diseños presentados [107, 186, 188], se podrían destacar: la utilización de múltiples sondas de LTP (*LTP array*) [189], cambios en la configuración de los electrodos (*LTP ajustable*, *LTP dual*) [190, 191], modificación de su tamaño (*LTP miniaturizado*) [192], o el intercambio de la conexión de los electrodos (*LTP inverso – iLTP*) [193].

Gracias a todas las características explicadas anteriormente, la fuente LTP se ha convertido en una de las herramientas más útiles y con mayor número de aplicaciones presentadas para AIMS. Esta técnica es capaz de analizar compuestos en estado sólido, líquido o gaseoso, incluso si las muestras presentan una matriz compleja.

III.4.5.3. Ionización por descarga de barrera dieléctrica “ring-to-ring” (Dielectric Barrier Discharge Ionization – DBDI)

Desde el año 2001, el grupo del Dr. Joachim Franzke ha estado desarrollando microchips basados en DBD para su uso en técnicas como la espectrometría de absorción con diodo láser [194]. Dicho grupo siguió desarrollando estos dispositivos basados en DBD y, en 2007, presentó un acoplamiento de esta fuente de ionización con espectrometría de movilidad iónica [195], cuya mejora y perfeccionado se llevó a cabo en años posteriores [170, 196]; a este dispositivo se le denominó **DBDI**.

En 2009 presentaron un diseño de dispositivo DBDI que serviría como fuente de ionización suave para MS [197]; la principal diferencia con la DBDI desarrollada por Na y *col.* [187] es la configuración que presentan los electrodos y el material dieléctrico, ya que ésta muestra una disposición *ring-to-ring* que permite una mayor versatilidad y adaptación como fuente de ionización. Como se observa en la **Figura 17**, el dispositivo consiste en un capilar de vidrio, que actúa como dieléctrico y sobre el que se disponen dos electrodos con forma de anillo, con una cierta separación entre ellos; en este diseño, el primer electrodo es el conectado a tierra y el segundo el de alto voltaje, encontrándose a 2 mm de distancia del final del capilar. Para la ignición del plasma, se aplica una corriente alterna con un voltaje de 5,5 kV, una frecuencia de 35 kHz y la anchura de los pulsos fue de 2 μ s. Por el interior de este capilar discurre el gas de trabajo, en este caso helio, a un flujo de 150 mL min⁻¹; el plasma generado saldrá por la abertura del capilar y, como ya se ha explicado anteriormente, se formará un *jet* que contendrá las especies encargadas de ionizar los compuestos.

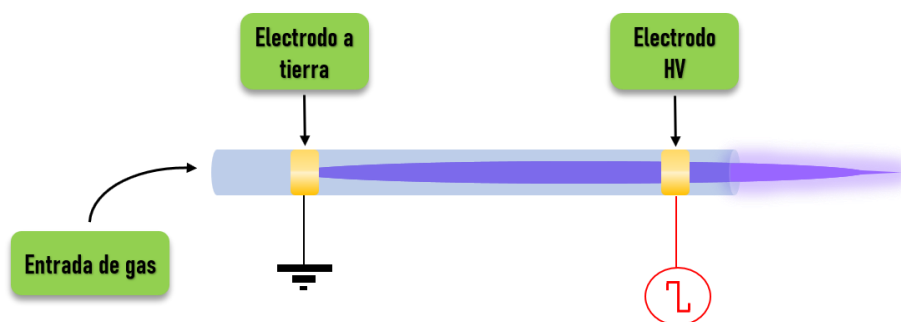


Figura 17. Esquema de la fuente DBDI desarrollada por el grupo de Franzke [170, 195–197].

La novedad que mostró este trabajo fue el acoplamiento de la fuente DBDI a un equipo de LC-MS, ya que se buscaba una alternativa para el análisis de moléculas con un amplio rango de polaridades y cuyo comportamiento fuera comparable con las fuentes de ionización comerciales API (ESI, APCI y APPI). Este acoplamiento se resolvió con éxito tras realizar una modificación sencilla en la fuente comercial de APCI, empleando una sonda de poliéterétercetona (PEEK) y una junta tórica para ajustar fácilmente la posición del plasma en relación con la entrada del espectrómetro de masas. La sonda se puede colocar de forma ortogonal o axial con respecto a la entrada del espectrómetro de masas, en la posición óptima para obtener la máxima ionización de las especies de interés, dependiendo del diseño del espectrómetro de masas en cuestión. En esta tesis doctoral, se ha empleado un posicionamiento de la sonda axial, como se detallará en el apartado de materiales y métodos. En cualquier caso, para que se produzca una ionización eficiente de los compuestos con DBDI, es necesario que el flujo procedente de la LC sea vaporizado, como ocurre con APCI y APPI; es decir, la ionización se produce en fase gas. Hasta la fecha, este diseño de la fuente DBDI ha sido la más empleada en el acoplamiento con la técnica LC-MS, habiéndose publicado diversas aplicaciones analíticas basadas en LC-DBDI-MS con resultados prometedores, como la determinación de contaminantes en alimentos [198, 199] o explosivos [200].

III.4.5.4. Ionización por plasma con capilar activo (Active Capillary Plasma Ionization – ACaPI)

Otro de los dispositivos desarrollados en el campo de la DBD es el presentado por el grupo del Prof. Renato Zenobi en 2012 [201]. En este trabajo, se reportó el uso de una fuente DBD denominada fuente de ionización por plasma utilizando un capilar activo (Active Capillary Plasma Ionization - **ACaPI**). Dicho capilar, además de albergar el plasma generado que actúa como fuente de ionización, también es el encargado de transportar las moléculas hasta la entrada del espectrómetro de masas para su análisis.

La sonda desarrollada se basa en una configuración de los electrodos *ring-to-ring*, tal y como se muestra en la **Figura 18**; se compone de un electrodo hueco de acero inoxidable por cuyo interior discurre el gas de descarga; este electrodo está centrado axialmente en un capilar de cuarzo que actúa como dieléctrico y que está a su vez recubierto por una lámina de cobre en la zona en la que se genera el plasma. En función de la polaridad seleccionada, positiva o negativa, para el análisis de especies variará la conexión de los electrodos a toma de alto voltaje o tierra.

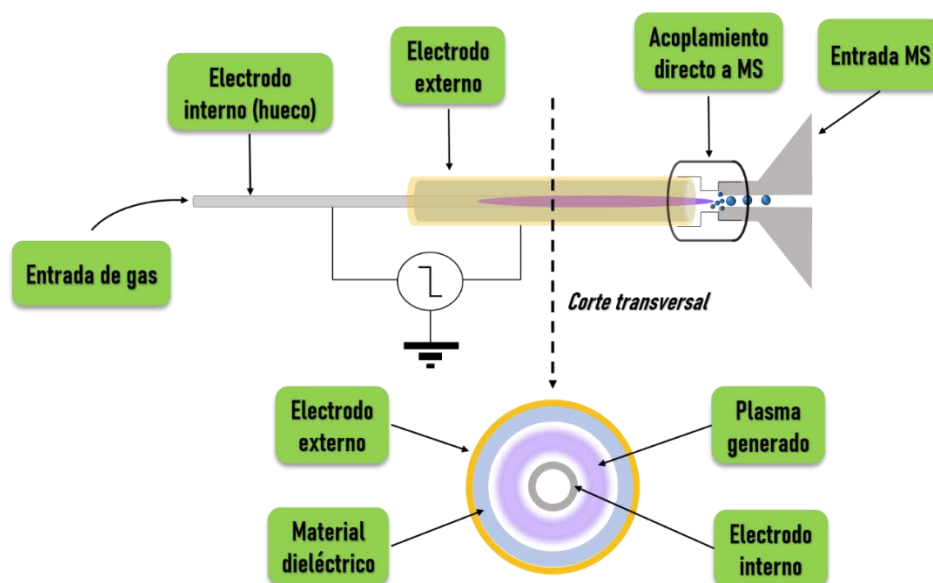


Figura 18. Representación esquemática de la fuente de ionización A CaPI desarrollada por Nudnova y col. [201].

Respecto a términos de encendido del plasma, se aplicó una corriente AC de 2,5 – 5 kV, con una frecuencia de 10 kHz. Este diseño no utiliza un flujo de gas de descarga como tal, sino que, gracias al gradiente de presión generado entre la entrada del espectrómetro (a vacío) y la presión atmosférica, produciéndose la ignición de este flujo y las especies ionizadas viajarán por el capilar hasta ser introducidas en el espectrómetro para su análisis. El final del capilar de cuarzo está acoplado directamente a la entrada del espectrómetro para evitar la dispersión de las especies y se produzca un gradiente eficiente. Hay que destacar que la eficiencia de desorción se ve mejorada, dado que se emplea un gas a altos flujos ($1,5 - 3 \text{ L min}^{-1}$) [202]. Recientemente, el grupo del Prof. William A. Donald ha conseguido desarrollar una fuente A CaPI en la que se ha disminuido la amplitud de los pulsos empleados, en el orden de nanosegundos, logrando un descenso en el consumo de potencia y un menor ruido de fondo en los espectros [175]. Este tipo de fuente ha sido comercializada bajo el nombre de SICRIT® (*Soft Ionization by Chemical Reaction in Transfer*) [203], pudiendo ser adaptada a las principales marcas de espectrómetros de masas.

III.4.5.5. Plasma por microtubo flexible (Flexible Microtube Plasma – F μ TP)

Por último, en este epígrafe se va a hablar sobre la fuente más reciente desarrollada basada en DBD: el plasma por microtubo flexible (F μ TP). Este dispositivo fue presentado por Brandt y *col.* en 2018 [204], basándose en la configuración del iLTP, es decir, el electrodo con forma de pin (interno) conectado a alto voltaje y el anillo que recubre el capilar dieléctrico se conecta a tierra; la principal diferencia que presenta, y por la que se caracteriza este diseño, es que no presenta un electrodo físico conectado a tierra. Esto ha llevado a la miniaturización del dispositivo, derivando en una elongación del capilar que contiene el electrodo HV y, a su vez, la pared de este capilar actúa como un “electrodo virtual” que permite la formación del plasma.

Como puede verse en la **Figura 19**, se utiliza una pieza en T de PEEK, empleada normalmente en HPLC, para fijar el capilar flexible de sílica fundida (125 mm de longitud; d.i. 250 μ m; d.e. 350 μ m), así como el electrodo de Wolframio (d. 100 μ m) el cual estará conectado a alto voltaje; por la entrada que queda libre en la T discurrirá el gas de trabajo empleado, desplazándose únicamente hacia el capilar ya que el resto de aberturas estarán selladas para evitar fugas. Todo el capilar tendrá un recubrimiento de politetrafluoroetileno – propileno etileno fluorado (PTFE – FEP), que añadirá un punto más de seguridad al separar la zona de descarga del contacto directo.

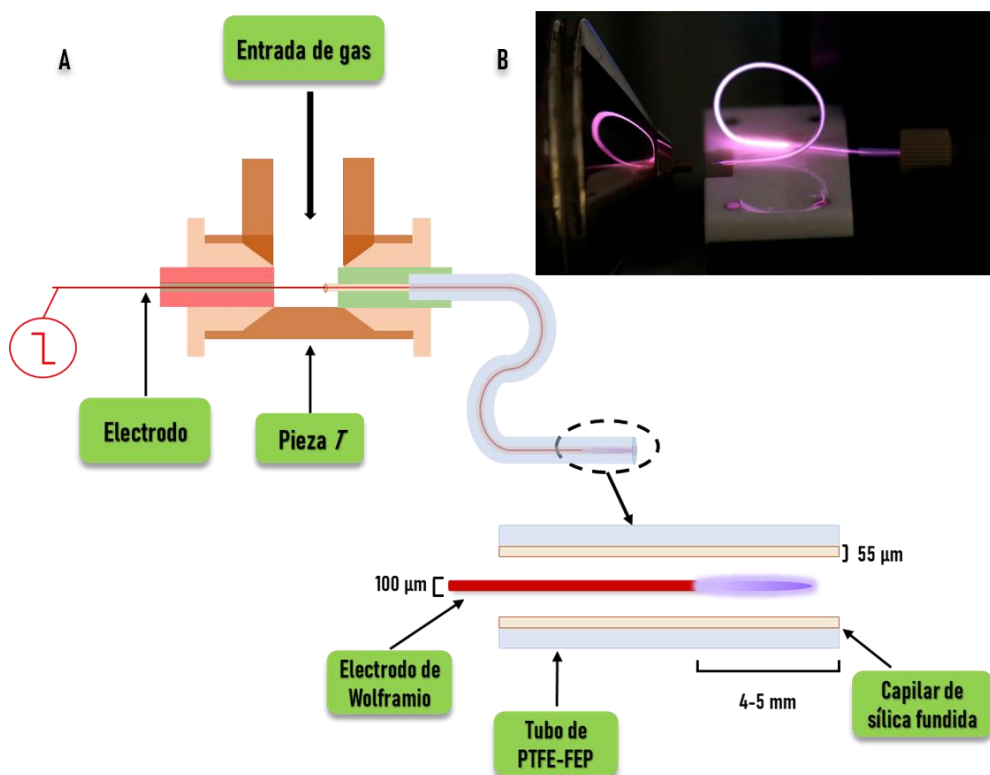


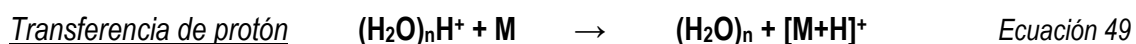
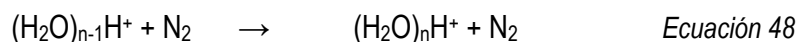
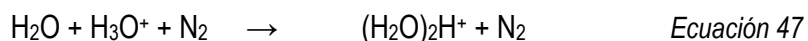
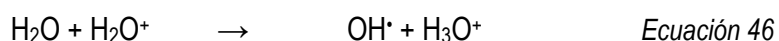
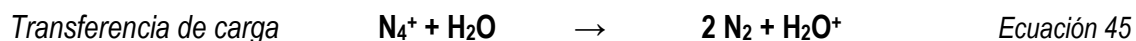
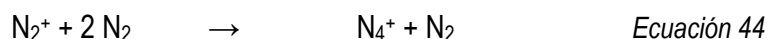
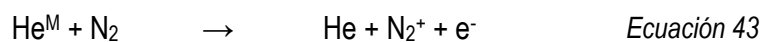
Figura 19. Representación de la fuente F μ TP diseñada por Brandt y *col.* [204] (A) y fotografía de la formación de plasma a lo largo del canal y posicionado a la entrada del espectrómetro de masas (B) [204].

Gracias a la miniaturización, también se reduce el flujo de gas empleado ($<100 \text{ mL min}^{-1}$), lo que, unido a la disminución de los voltajes, hace que puedan utilizarse distintos gases (N_2 , aire, H_2 , etc.) y no solo los gases nobles más comunes, como helio o argón; por tanto, puede confirmarse que esta reducción en las dimensiones, los voltajes y los flujos empleados abaratan el precio de este diseño. En el estudio presentado por Brandt y *col.* se trabajó con helio como gas de descarga a un flujo de 50 mL min^{-1} , siendo suficiente con un voltaje de $1,5 \text{ kV}$ para poder producir la ignición del plasma [204], lo que supone una reducción en comparación con los $5,5 \text{ kV}$ empleados, por ejemplo, en la fuente DBDI (*ring-to-ring*) [197].

III.4.6. Mecanismos de ionización

En este epígrafe se va a explicar en detalle la forma en la que las especies generadas en el plasma, formado mediante DBD, propician la ionización de las moléculas de interés que posteriormente serán analizadas mediante MS. Aunque puedan emplearse distintos gases de trabajo para operar el plasma, los mecanismos de ionización en plasma DBD han sido bien establecidos por Franzke y colaboradores [170, 195, 196] usando helio como gas de descarga en la fuente DBDI.

Se ha establecido que, para la ionización de especies en positivo, las cascada de reacciones asociada con los mecanismos de ionización comienzan por la ionización tipo *Penning* [97] a presión atmosférica. Los átomos de un gas noble en estado excitado metaestable interaccionan con las moléculas y especies de su entorno, produciendo la ionización de éstas tras la pérdida de un electrón. Esta interacción inicia una cascada de reacciones, hasta que el analito de interés es ionizado en su forma protonada. Dado que el gas de descarga más común es helio y su mecanismo de ionización está bien definido, a continuación, se muestran las distintas reacciones que tienen lugar:



Como se puede observar, usando He como gas de descarga, los iones de helio metaestables (He^M) producen la ionización de N_2 , que acaba produciendo la ionización de vapor de agua, siendo

finalmente los clústeres de agua los responsables de la ionización de los analitos de interés. Los mecanismos de ionización en DBD son muy similares a los que ocurren en la descarga de corona o APCI, en el sentido de una ionización primaria de moléculas por parte de los electrones que derivará en la ionización del analito; sin embargo, la presencia de un gas de descarga con alta energía de ionización provocará la ionización de las moléculas que estén en niveles inferiores y, por tanto, dando lugar a una mayor eficiencia en los mecanismos de ionización. En este sentido, como se puede observar en la **Figura 20**, el estado metaestable de helio tiene una alta energía comparado con otros gases de descarga comunes, mientras que, por ejemplo, el estado metaestable de argón (11,56 eV) se encuentra a un nivel de energía inferior al nivel de ionización del agua (12,6 eV), por lo que se necesitaría una especie de un rango superior que aportara la energía suficiente y que se produzca la cascada de reacciones de manera eficaz. Así, para el uso de otros gases de descarga como argón, se han descrito mecanismos de ionización basados en la ionización química mediante el uso de dopantes [181] o mecanismos de ionización mediados por radicales, en ausencia de agua [205].

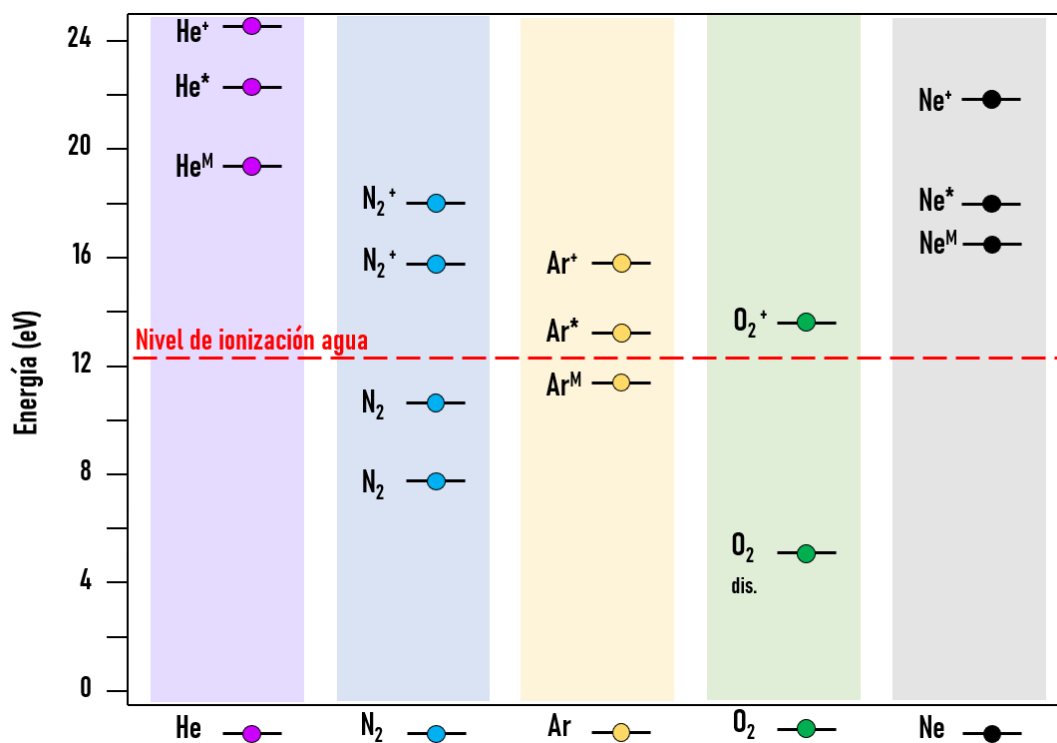


Figura 20. Diagrama de energía de los estados electrónicos de helio, nitrógeno molecular, argón, oxígeno molecular y neón. En línea roja y discontinua se presenta el nivel de ionización del agua (12,6 eV) [170, 181].

Los mecanismos que se producen en modo negativo aún no están bien definidos para este tipo de plasmas, aunque se ha observado que las especies generadas son iguales al usar tanto la fuente DBDI como la APCI [200]; se propusieron distintos procesos que tienen lugar en técnicas basadas en plasma para obtener iones M^- y $[M-H]^-$ [97]: captura electrónica, disociación por captura electrónica, transferencia de protón, unión aniónica o el intercambio de carga por el ion O_2^- .

Uno de los objetivos de esta Tesis Doctoral es indagar en mayor profundidad en los mecanismos de ionización que tienen lugar en el plasma de DBD, por ello se estudiará el posible rol que desempeñan los parámetros de la descarga en el control de los mecanismos de ionización.

III.5. DBD como fuente de ionización en cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas (LC-DBD-MS)

Como se ha descrito anteriormente, el acoplamiento de técnicas separativas a MS hace que mejore la selectividad, permitiendo a la vez una mayor automatización del proceso y una mejora en la reproducibilidad. El crecimiento de este tipo de acoplamiento ha permitido que fuentes tradicionalmente utilizadas en AIMS se utilizaran con este tipo de acoplamientos. En este apartado se van a detallar algunos de los trabajos más relevantes que utilizan DBD acoplado a LC-MS.

El primer trabajo en que se acopló LC-DBDI-MS fue el reportado por Hayen y colaboradores [197] donde se testaron analitos de diversa polaridad (azuleno, bifenilo, PAH, etc.) haciendo una comparación entre distintas fuentes de ionización (DBDI, ESI, APCI y APPI). Se asume que la fuente DBDI debe regirse por un mecanismo similar al de APCI; por ello, en este trabajo la mayoría de iones detectados mediante DBDI fueron $[M]^{++}$ y $[M+H]^+$, al igual que en APCI, pero observándose una mejora en la sensibilidad. Aunque se compartan mecanismos de ionización, esta mejora puede justificarse por un mayor tamaño de plasma y la capacidad de generar más especies reactivas. En el caso de ESI y APPI existen otras limitaciones. La ionización por electrospray es bien sabida como fuente de ionización para moléculas polares, no en este caso, y para APPI la eficiencia de ionización se ve limitada, ya que no se han empleado dopantes.

Aunque el gas de descarga más empleado sea helio, la extracción de éste es cara y existen alternativas como el argón; este gas presenta mayores voltajes de ruptura y además puede producir un plasma filamentario no apto como ionización suave. Sin embargo, es posible utilizar un dopante añadido al argón para disminuir el voltaje necesario para la ignición del plasma y

ayudar en la ionización de las moléculas de interés. Por ello Schütz y *col.* [181] caracterizaron el plasma de DBDI empleando una mezcla argón-propano utilizando un equipo LC-TOF-MS para separar y evaluar la eficacia de ionización de distintos analitos (atrazina, cocaína, simazina, etc.). Los resultados con argón-propano mostraron espectros similares a los obtenidos con helio, llegando a ser una alternativa al diseño clásico.

Uno de los campos en los que se ha abordado la presente Tesis es el análisis agroalimentario; en este campo se han desarrollado diversas aplicaciones utilizando DBDI como fuente de ionización para LC-MS. El primer trabajo que reportó que utilizó este acoplamiento fue el presentado por Gilbert-López y *col.* en 2012 [198], en el que se analizaron plaguicidas (simazina, diuron, terbutilazina, etc.) y PAHs (fluoreno, pireno, benzo[a]pireno, etc.) para realizar una comparación entre fuentes de ionización (DBDI, APCI y ESI) en tres matrices distintas: aceite de oliva, aguas residuales y naranja; los tratamientos de muestra empleados para realizar una etapa de eliminación de interferentes de la matriz y/o preconcentración de los analitos fueron el método QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*) y la extracción en fase sólida (*Solid Phase Extraction – SPE*). En este estudio se concluyó que DBDI ofrecía unos mejores valores de linealidad y efecto matriz que las fuentes comerciales ESI y APCI, además de una mayor capacidad de ionización, ya que usando solo la técnica LC-DBDI-MS, se consiguió la ionización de compuestos con propiedades fisicoquímicas muy diferentes entre sí, los cuales requerían para su detección el uso combinado de las técnicas LC-ESI-MS y GC-MS [28]. Posteriormente, se publicó otro estudio en el que se evaluaron distintos plaguicidas en muestras de manzana, naranja y tomate con tres fuentes distintas (ESI, APCI y DBDI) [206]; la fuente DBD ofreció unos valores de efecto matriz mejores que los de APCI y una supresión de señal inferior a la de ESI, además de mejorar la sensibilidad de compuestos que no son fácilmente ionizables por electrospray. Lara-Ortega y *col.* [199] presentaron el análisis de 80 plaguicidas, incluyendo algunos de ellos organoclorados (típicamente analizador por GC-MS), en DBDI, APCI y ESI; los resultados mostraron que, la fuente DBDI tenía la capacidad de ionización de analitos que no pueden hacerlo con ESI, había un aumento en la sensibilidad, en parte debido a la ausencia de aductos de sodio formados, y una disminución del efecto matriz comparándolo con APCI. Siguiendo en esta línea, también se ha descrito el análisis de plaguicidas en manzanas utilizando un nanoLC y el dispositivo ACaPI como fuente de ionización, mejorando la sensibilidad frente a LC-ESI-MS o GC-EI-MS [207].

Otro de los campos de aplicación es el análisis de contaminantes, como la determinación de explosivos en suelo y el análisis de aguas residuales [200]. La naturaleza de estos analitos, con

presencia de grupos nitroaromáticos, hace que su análisis con ESI sea difícil y se recurra a APCI. En este sentido, se desarrolló un método para la determinación de explosivos mediante LC-DBDI-MS y su posterior comparación con APCI; en cuanto a los resultados obtenidos, en muestras reales se reportaron unos LOQ del orden de ppb ($\mu\text{g kg}^{-1}$) y unos efectos matriz muy similares a los que se presentan con la fuente comercial APCI. Por último, caben mencionar otras aplicaciones, como el método desarrollado por Hagenhoff y Hayen [208] para la determinación de vitamina D y sus metabolitos en suero sanguíneo empleando LC-DBDI-MS, obteniendo mejores valores de efecto matriz y sensibilidad que ESI; también Brecht y *col.* [209] analizaron vitamina D y su metabolito usando la técnica LC-iLTP-MS con argón como gas de descarga y obteniendo mejores resultados que usando helio o la detección de lípidos en muestras biológicas mediante DBDI [210].

En la **Tabla 10** se muestra un resumen de las principales aplicaciones que han sido desarrolladas basándose en la técnica LC-DBDI-MS.

Tabla 10. Resumen de las aplicaciones realizadas empleando la técnica LC-DBDI-MS.

| Configuración | Categoría de aplicación | Análitos | Matriz | Tratamiento de muestra | Ref. | |
|------------------------------|-------------------------|--------------------------|--|---------------------------|------------------------------------|-------|
| DBDI (<i>ring-to-ring</i>) | Caracterización | PAHs | Disolvente | - | [197] | |
| | | Plaguicidas | | | [181] | |
| | Contaminantes orgánicos | Plaguicidas y PAH | Aceite de oliva Naranja Aguas residuales | QuEChERS SPE | [198] | |
| | | | Manzana Naranja Tomate | QuEChERS | [206] | |
| | | Plaguicidas | Aceite de oliva Naranja Aguas residuales | QuEChERS SPE | [199] | |
| | | | Explosivos | Suelo Aguas residuales | Extracción por ultrasonidos SPE | [200] |
| | Biomoléculas | Vitamina D y metabolitos | Suero sanguíneo | SPE | [208] | |
| | | Lípidos | Hígado bovino | Extracción sólido-líquido | [210] | |
| | ACaPI | Contaminantes orgánicos | Plaguicidas | Manzana | QuEChERS | [207] |
| | iLTP | Caracterización | Vitamina D y metabolito | Disolvente | - | [209] |

III.6. DBD como fuente de ionización en cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-DBD-MS)

Otra de las técnicas cromatográficas que se pueden acoplar a DBD es GC. El uso de flujos bajos y la capacidad de analizar muestras en estado gaseoso facilita, en teoría, el acoplamiento de este tipo de fuentes de ionización. Esta clase de acoplamientos requieren de una interfase calentada para evitar la condensación de los compuestos en la parte de la columna que se posiciona fuera del horno del cromatógrafo para su acercamiento a la fuente de ionización y la entrada del espectrómetro de masas. En esta sección se expondrán las aportaciones más relevantes acoplando GC a DBDI-MS (**Tabla 11**).

Uno de los primeros diseños en que se probó el acoplamiento GC-DBD-MS se hizo usando una sonda LTP como fuente de ionización para el análisis de compuestos volátiles como alcanos, PAHs, terpenos, etc. [211], siendo una opción más económica y permitiendo complementar los datos de impacto electrónico con resultados de masa molecular. Posteriormente, Mirabelli y *col.* reportaron el acoplamiento de un cromatógrafo de gases a su fuente de ionización ACaPI [212], testándolo con plaguicidas (simazina, atrazina, etc.) y drogas de abuso (cocaína, diazepam, etc.); para acoplar ambos instrumentos se utilizó un capilar en el que se insertó la salida de columna del cromatógrafo y la entrada de la fuente de ionización, calentando dicho capilar alrededor de 300 °C para evitar una condensación de los analitos. Posteriormente, Huba y *col.* [213] indagaron en los mecanismos de ionización de PAHs empleando ACaPI, detectando iones $[M+H]^+$ no vistos con anterioridad. Gracias al uso de la microextracción en fase sólida (*Solid-Phase Microextraction – SPME*), la cual permite la preconcentración de los analitos o el *cleanup* frente a interferentes [214], se aumentó la sensibilidad de los analitos estudiados en comparación con las técnicas clásicas GC-MS y, además, no fue necesario el uso de una interfase de vacío dedicada como ocurre también en la técnica convencional. En 2021, se publicó un trabajo en el que se comparaban las técnicas GC-EI-MS y GC-ACaPI-MS para la detección de n-alcanos [215], permitiendo resolver mezclas complejas de estos analitos que no se resuelven bien con la técnica tradicional.

Por otro lado, Schütz y *col.* [216] presentaron en 2015 el primer acoplamiento de la fuente DBDI (*ring-to-ring*) a un cromatógrafo de gases, cuya salida de columna se colocó en 90° respecto al plasma y la entrada del espectrómetro de masas ya que se comprobó que era la posición óptima para la ionización; se analizaron en modo negativo compuestos perfluorados (*Perfluorinated compounds – PFC*), como el perfluorooctano o el ácido perfluorooctanoico, como alternativa a las fuentes convencionales ESI, APCI y APPI. En 2019, Vogel y *col.* [217] fueron un paso más adelante y mostraron una interfase para el acoplamiento GC-DBDI-MS en la que se podía controlar la

atmósfera presente entre el plasma generado y la entrada del espectrómetro de masas, justo donde se depositaba la muestra, mostrando una menor fragmentación de las especies y una menor formación de aductos; este diseño permitió bajar los límites de detección de compuestos perfluorados hasta dos órdenes de magnitud con respecto a otras técnicas. Hagenhoff y *col.* [218] desarrollaron un método basado en GC-DBDI-MS para la determinación de alcanos semifluorados, usando la técnica de espacio de cabeza, en ceras empleadas en la reducción de la fricción en esquís mejorando los datos obtenidos frente GC-EI-MS. En cuanto a aplicación a matrices reales, Zheng y *col.* [219] presentaron la determinación de diversos plaguicidas organoclorados, basándose en la detección del ion Cl^- en zumo de naranja, estando la columna de gases acoplada directamente al capilar en el que se produce la DBD y obteniendo límites de detección cercanos a los producidos por otras técnicas, como ICP-MS. Recientemente, Zheng y colaboradores [220] publicaron un método para la detección elemental de compuestos fluorados, en la forma Na_2F^+ , utilizando la fuente DBD a una interfase de nanoESI con una corriente de electrolitos de sodio.

En el primer trabajo donde se acopló una fuente $\text{F}\mu\text{TP}$ [221] a un cromatógrafo de gases se evaluaba la detección de compuestos perfluorados; la salida de columna del cromatógrafo se colocó en un ángulo de 30° respecto a la entrada del espectrómetro de masas, dirigiendo la corriente con los analitos hacia el plasma con su posterior ionización. Se alcanzaron unos límites de detección en el rango de $\mu\text{g L}^{-1}$, lo que demostró la eficacia de la técnica GC- $\text{F}\mu\text{TP}$ -MS frente a otras fuentes como DBDI, LTP y iLTP . Posteriormente, y buscando la mejora del acoplamiento con GC, Vogel y *col.* [222] desarrollaron una pieza en forma de cruz (*cross piece*) para acoplar directamente el plasma, la introducción de muestra y la entrada del espectrómetro de masas. Aparte de esto, el uso de esta pieza permite controlar la atmósfera en la que se produce la ionización de los compuestos, introduciendo una mezcla de gases para reemplazar el aire que rodea la zona de la ionización; con esto se consigue reducir la influencia de la atmósfera externa, como la fragmentación durante la ionización de las moléculas y también se reduce el efecto matriz observado. Con este diseño se han desarrollado dos aplicaciones en muestras reales: la determinación de biomarcadores de cáncer en saliva [222] y el análisis de BTEX (Benceno, Tolueno, Etilbenceno y Xilenos) en aceite de oliva [223]. En ambos trabajos se demostró la mejora en la eficiencia de ionización al realizar el acoplamiento con la *cross piece*, mostrando unos espectros con la mínima fragmentación.

Tabla 11. Resumen de las principales aplicaciones desarrolladas mediante GC-DBDI-MS.

| Configuración | Categoría de aplicación | Análitos | Matriz | Tratamiento de muestra | Ref. |
|------------------------------|--|--|-----------------|---|------------|
| LTP | Caracterización | VOCs | Disolvente | - | [211] |
| ACaPI | | Plaguicidas Drogas de abuso PAHs | Disolvente | Preconcentración con SPME | [212, 213] |
| | | Alcanos | Disolvente | - | [215] |
| DBDI (<i>ring-to-ring</i>) | Compuestos perfluorados y alcanos semifluorados | Compuestos perfluorados | Disolvente | Preconcentración con espacio de cabeza | [216] |
| | | Compuestos perfluorados y alcanos semifluorados | Disolvente | Preconcentración con espacio de cabeza | [217] |
| | Compuestos organoclorados (ion Cl ⁻) | Alcanos semifluorados | Ceras | Disolución en ciclohexano y dilución 1:10 Preconcentración con espacio de cabeza | [218] |
| | | Compuestos organoclorados (ion Cl ⁻) | Zumo de naranja | QuEChERS | [219] |
| | Caracterización | Compuestos perfluorados | Disolvente | - | [221] |
| FuTP | Contaminantes ambientales | VOCs | Saliva | Extracción con n-hexano y centrifugación | [222] |
| | | BTEX | Aceite de oliva | Preconcentración con espacio de cabeza | [223] |

III.7. DBD como fuente de ionización en espectrometría de masas en condiciones ambientales

El desarrollo de aplicaciones analíticas empleando fuentes DBD acopladas a técnicas cromatográficas ha sido complementario al uso de este tipo de fuentes de ionización para el análisis directo de muestras mediante MS, combinando la capacidad de desorción de los plasmas con su capacidad de ionización. Debido a las ventajas que ofrece el análisis directo de muestras, con nula o mínima preparación, el mayor número de aplicaciones basadas en fuentes de descarga dieléctrica se relacionan con la AIMS (**Tabla 12**). Por tanto, en esta sección se detallarán las distintas aplicaciones desarrolladas en base a cada fuente de ionización DBD empleada en AIMS.

Las primeras aplicaciones analíticas del uso de plasmas generados mediante DBD en AIMS las encontramos en los trabajos de Na y colaboradores empleando la fuente DBDI (*pin-to-plate*) para la detección del ion $[M+H]^+$ de 20 aminoácidos [187] o la determinación directa de explosivos [224]. Con la configuración DBDI *ring-to-ring* también se han reportado aplicaciones en AIMS, como por ejemplo el desarrollo de un método analítico para la diferenciación de los distintos aceites lubricantes para motor, basándose en un análisis directo [225].

Sin embargo, es LTP la fuente DBD más usada en AIMS, con diferencia. Uno de los campos en los que más se ha utilizado la fuente LTP es en el análisis directo de alimentos, estando estrechamente relacionado con el campo de la seguridad alimentaria, que comprende desde la determinación de la composición y comprobación del etiquetado de producto hasta la detección de fraudes (adulteraciones, contaminaciones, falsificaciones, etc.). Así, se han desarrollado distintos métodos de análisis directo, como la determinación de ácidos grasos, compuestos fenólicos y volátiles en aceite de oliva [226], plaguicidas en pieles de frutas y verduras [227, 228] o la detección rápida, cualitativa y semicuantitativa, de fungicidas en muestras de vino [229]; en cuanto a fraude alimentario se refiere, se han presentado varios métodos empleando LTP para la determinación de melanina, una sustancia empleada para falsear los niveles de proteína en alimentos, sin tratamiento de muestra y mejorando la sensibilidad respecto a los límites legales [230, 231].

En el campo de la detección de sustancias que suponen una amenaza para la seguridad, se requieren técnicas simples y con capacidad de análisis *in situ*, por lo que el LTP es una herramienta de gran utilidad que ha sido usada en el desarrollo de métodos para la determinación de explosivos con elevada sensibilidad y selectividad en comparación con los métodos oficiales [232–234]. Por último, centrando la atención en sustancias que afectan al organismo humano, como

medicamentos o drogas de abuso, se obtuvieron resultados satisfactorios para el análisis directo sobre comprimidos [116] o para hacer de ellos métodos rutinarios en el control de calidad de la industria de forma mecanizada y sin emplear tratamiento de muestra [235]. El uso de LTP también se ha demostrado satisfactorio para la determinación de drogas en muestras biológicas (saliva, orina o pelo) [236], o la diferenciación de sustancias presentes de forma natural en plantas respecto a las drogas sintéticas añadidas posteriormente [237]. Dadas las capacidades de desorción de esta fuente, se ha encontrado que LTP puede utilizarse para el análisis de muestras depositadas sobre papel o vidrio, colocando la muestra delante del plasma para su desorción y posterior ionización [238–242].

Cuando la fuente de ionización empleada es ACaPI, se han desarrollado distintas aplicaciones para el análisis directo de agentes químicos nocivos, como sustancias que afectan al sistema nervioso, en diversas superficies (cartón, papel, etc.) y empleando espectrómetros de masas convencionales y portátiles [243–245], mejorando la sensibilidad y reduciendo el efecto matriz y los tiempos de análisis. Como se ha explicado en el apartado III.6., la técnica SPME aporta grandes ventajas y es por ello que se ha utilizado ampliamente en los análisis donde se ha utilizado el dispositivo ACaPI; de forma general, la fibra de SPME se coloca en el interior del dispositivo para producir la desorción y en línea con el espectrómetro de masas. Teniendo en cuenta esto, se han desarrollado aplicaciones para la determinación de plaguicidas (simazina, terbutilazina, etc.) en aguas [246] y zumo de uva [247], el análisis de PAH en aguas, empleando dopantes para mejorar la eficiencia de ionización [248], o la detección de drogas de abuso (cocaína, diazepam, fentanilo, etc.) en refrescos y fluidos biológicos [249]. También se ha reportado la determinación, de forma simultánea, de distintos agentes nocivos en matrices complejas como es la orina [250].

Finalmente, siendo el dispositivo F μ TP el elegido como fuente de ionización, se han desarrollado diversas aplicaciones, tanto en MS, como en espectrometría de movilidad iónica [251] o en *MSI* [112, 252]. Si se centra la atención en MS, en el año 2020 se presentó un estudio en el que se analizó colesterol en sangre de manera directa [253], sin tratamiento de muestra previo, utilizando un láser de diodo para producir la desorción en lugar de calentar la muestra [254]; ésta se deposita sobre una novedosa estructura de óxido de cobre-vidrio, con unas cavidades para lograr una mayor eficacia de desorción permitiendo el análisis de plaguicidas, explosivos y medicamentos. Basándose en este trabajo, se realizó el análisis de lípidos (ácido oleico, esfingomielina, etc.) [255], obteniendo un método sin excesiva fragmentación y sin necesidad de calentar externamente.

Tabla 12. Resumen de aplicaciones desarrolladas empleando la fuente DBDI en condiciones ambientales.

| Configuración | Categoría de aplicación | Análitos | Matriz | Tratamiento de muestra | Ref. |
|------------------------------|---------------------------|---|--|----------------------------------|------------|
| DBDI (<i>pin-to-plate</i>) | Caracterización | Aminoácidos | Disolvente | - | [187] |
| | Agentes químicos nocivos | Explosivos | Papel, tela, vidrio, pintura y suelo | - | [224] |
| LTP | Contaminantes ambientales | Plaguicidas | Frutas (naranja, limón, uva, tomate) | QuEChERS | [227, 228] |
| | | Fungicidas | Vino | Dilución 1:5 SPE | [229] |
| | Biomoléculas | Ácidos grasos Compuestos fenólicos VOCs | Aceite de oliva | - | [226] |
| | | Melamina | Agua Leche Leche en polvo | - | [230, 231] |
| | Agentes químicos nocivos | Explosivos | Disolvente | - | [232-234] |
| | Medicamentos | Loratidina, paracetamol, floconazol | Comprimido | - | [116, 235] |
| | Drogas de abuso | Cafeína, cocaína, diazepam, cannabinoides | Muestras biológicas (saliva, orina, pelo) Plantas | Extracción con ultrasonidos - | [236, 237] |

Tabla 12. (Continuación)

| Configuración | Categoría de aplicación | Análitos | Matriz | Tratamiento de muestra | Ref. |
|------------------------------|-------------------------------|--|--|-------------------------|---------------|
| ACaPI | Caracterización | Agentes químicos nocivos (DMMP, PMP, etc.) | Disolvente Hojas secas, cartón, folio, etc. | - Disolución en MeOH | [243– 245] |
| | Contaminantes ambientales | Plaguicidas | Aguas residuales | SPME | [246] |
| | | Plaguicidas | Zumo de uva | SPME | [247] |
| | | PAHs | Aguas residuales | SPME | [248] |
| | Drogas de abuso | Cocaína, diazepam, metadona | Bebidas (Vodka, vino, cola) Muestras biológicas (orina, plasma sanguíneo) | SPME | [249] |
| Agentes químicos nocivos | Simulantes de gases nerviosos | Orina | SPME | [250] | |
| FμTP | Lípidos | Colesterol | Sangre | - | [253] |
| | | Ácido oleico, esfingomielina | Disolvente | - | [255] |
| DBDI (<i>ring-to-ring</i>) | Control de calidad | Aceites lubricantes de motor | Aceite | - | [225] |

III.8. Referencias bibliográficas

1. (2014) Ion. In: The IUPAC Compendium of Chemical Terminology. International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), Research Triangle Park, NC, p 1997
2. De Hoffmann, Edmond & Stroobant V (2007) Mass Spectrometry: Principles and Applications
3. Thomson JJ (1897) XL. Cathode Rays. London, Edinburgh, Dublin Philos Mag J Sci 44:293–316 . <https://doi.org/10.1080/14786449708621070>
4. Thomson JJ (1914) Rays of Positive Electricity and their Application to Chemical Analysis. Nature 92:549–550 . <https://doi.org/10.1038/092549a0>
5. Conrad R (1934) Decomposition of hexane, cyclohexane and benzene in the positive ray tube. Trans Faraday Soc 30:215 . <https://doi.org/10.1039/ff9343000215>
6. Hipple JA, Condon EU (1945) Detection of Metastable Ions with the Mass Spectrometer. Phys Rev 68:54–55 . <https://doi.org/10.1103/PhysRev.68.54>
7. Dempster AJ (1918) A new Method of Positive Ray Analysis. Phys Rev 11:316–325 . <https://doi.org/10.1103/PhysRev.11.316>
8. Cameron AE, Eggers DF (1948) An Ion “Velocitron”.” Rev Sci Instrum 19:605–607 . <https://doi.org/10.1063/1.1741336>
9. Hipple JA, Sommer H, Thomas HA (1949) A Precise Method of Determining the Faraday by Magnetic Resonance. Phys Rev 76:1877–1878 . <https://doi.org/10.1103/PhysRev.76.1877.2>
10. Munson MSB, Field FH (1966) Chemical Ionization Mass Spectrometry. I. General Introduction. J Am Chem Soc 88:2621–2630 . <https://doi.org/10.1021/ja00964a001>
11. Jennings KR (1968) Collision-induced decompositions of aromatic molecular ions. Int J Mass Spectrom Ion Phys 1:227–235 . [https://doi.org/10.1016/0020-7381\(68\)85002-8](https://doi.org/10.1016/0020-7381(68)85002-8)
12. McLafferty FW (1957) Mass Spectrometry in Chemical Research and Production. Appl Spectrosc 11:148–156 . <https://doi.org/10.1366/000370257774633204>
13. Gohlke RS (1959) Time-of-Flight Mass Spectrometry and Gas-Liquid Partition Chromatography. Anal Chem 31:535–541 . <https://doi.org/10.1021/ac50164a024>
14. Ryhage R (1964) Use of a Mass Spectrometer as a Detector and Analyzer for Effluent Emerging from High Temperature Gas Liquid Chromatography Columns. Anal Chem 36:759–764 . <https://doi.org/10.1021/ac60210a019>
15. Watson JT, Biemann K (1965) Direct Recording of High Resolution Mass Spectra of Gas Chromatographic Effluents. Anal Chem 37:844–851 .

- <https://doi.org/10.1021/ac60226a015>
16. Arpino P, Baldwin MA, McLafferty FW (1974) Liquid chromatography-mass spectrometry. II—continuous monitoring. *Biol Mass Spectrom* 1:80–82 .
<https://doi.org/10.1002/bms.1200010117>
 17. Horning EC, Carroll DI, Dzidic I, Haegele KD, Horning MG, Stillwell RN (1974) Atmospheric Pressure Ionization (API) Mass Spectrometry. Solvent-Mediated Ionization of Samples Introduced in Solution and in a Liquid Chromatograph Effluent Stream. *J Chromatogr Sci* 12:725–729 . <https://doi.org/10.1093/chromsci/12.11.725>
 18. Barber M, Bordoli RS, Elliott GJ, Sedgwick RD, Tyler AN, Green BN (1982) Fast atom bombardment mass spectrometry of bovine insulin and other large peptides. *J Chem Soc Chem Commun* 936 . <https://doi.org/10.1039/c39820000936>
 19. Tanaka K, Waki H, Ido Y, Akita S, Yoshida Y, Yoshida T, Matsuo T (1988) Protein and polymer analyses up to m/z 100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2:151–153 . <https://doi.org/10.1002/rcm.1290020802>
 20. Karas M, Hillenkamp F (1988) Laser Desorption Ionization of Proteins with Molecular Masses Exceeding 10 000 Daltons. *Anal Chem* 60:2299–2301 .
<https://doi.org/10.1021/ac00171a028>
 21. Fenn JB, Mann M, Meng CK, Wong SF, Whitehouse CM (1989) Electrospray Ionization for Mass Spectrometry of Large Biomolecules. *Science* (80-) 246:64–71 .
<https://doi.org/10.1126/science.2675315>
 22. Griffiths J (2008) A Brief History of Mass Spectrometry. *Anal Chem* 80:5678–5683 .
<https://doi.org/10.1021/ac8013065>
 23. Hager JW (2002) A new linear ion trap mass spectrometer. *Rapid Commun Mass Spectrom* 16:512–526 . <https://doi.org/10.1002/rcm.607>
 24. Makarov A (2000) Electrostatic Axially Harmonic Orbital Trapping: A High-Performance Technique of Mass Analysis. *Anal Chem* 72:1156–1162 .
<https://doi.org/10.1021/ac991131p>
 25. Gross JH (2017) *Mass Spectrometry. A Textbook*. Springer International Publishing, Cham
 26. García-Reyes JF, Moreno-González D, Nortes-Méndez R, Gilbert-López B, Molina Díaz A (2017) HRMS: Hardware and Software. In: *Applications in High Resolution Mass Spectrometry*. Elsevier, pp 15–57
 27. Stan H-J (2005) Chapter 6 GC-MS. I: Basic principles and technical aspects of GC-MS for pesticide residue analysis. pp 269–337

28. Alder L, Greulich K, Kempe G, Vieth B (2006) Residue analysis of 500 high priority pesticides: Better by GC–MS or LC–MS/MS? *Mass Spectrom Rev* 25:838–865 .
<https://doi.org/10.1002/mas.20091>
29. Cooks RG (2008) Metastable Ions. In: 56th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics. Denver, CO
30. Dass C (2007) *Fundamentals of Contemporary Mass Spectrometry*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA
31. Domingues P, García A, Skrzydlewska E *Química Analítica Avanzada en Ciencias de la Vida*
32. (2008) Mass Resolving Power in Mass Spectrometry. IUPAC Compend Chem Terminol 65:3730 . <https://doi.org/10.1351/goldbook.m03730>
33. Brenton AG, Godfrey AR (2010) Accurate mass measurement: Terminology and treatment of data. *J Am Soc Mass Spectrom* 21:1821–1835 .
<https://doi.org/10.1016/j.jasms.2010.06.006>
34. March RE, Hughes RJ, Roberts AD (1991) Quadrupole storage mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 243:323–324 . [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)82582-9](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)82582-9)
35. Douglas DJ, Frank AJ, Mao D (2005) Linear ion traps in mass spectrometry. *Mass Spectrom Rev* 24:1–29 . <https://doi.org/10.1002/mas.20004>
36. Guilhaus M (1995) Special feature: Tutorial. Principles and instrumentation in time-of-flight mass spectrometry. Physical and instrumental concepts. *J Mass Spectrom* 30:1519–1532 .
<https://doi.org/10.1002/jms.1190301102>
37. Hernández F, Portolés T, Pitarch E, López FJ (2011) Gas chromatography coupled to high-resolution time-of-flight mass spectrometry to analyze trace-level organic compounds in the environment, food safety and toxicology. *TrAC Trends Anal Chem* 30:388–400 .
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2010.11.007>
38. Gómez-Ramos MM, Ferrer C, Malato O, Agüera A, Fernández-Alba AR (2013) Liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry for pesticide residue analysis in fruit and vegetables: Screening and quantitative studies. *J Chromatogr A* 1287:24–37 .
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.02.065>
39. Williamson LN, Bartlett MG (2007) Quantitative liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry. *Biomed Chromatogr* 21:567–576 . <https://doi.org/10.1002/bmc.844>
40. Soler C, Hamilton B, Furey A, James KJ, Mañes J, Picó Y (2007) Liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry analysis of carbosulfan, carbofuran, 3-hydroxycarbofuran, and other metabolites in food. *Anal Chem* 79:1492–1501 .

- <https://doi.org/10.1021/ac060709+>
41. Mezcua M, Malato O, García-Reyes JF, Molina-Díaz A, Fernández-Alba AR (2009) Accurate-Mass Databases for Comprehensive Screening of Pesticide Residues in Food by Fast Liquid Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Anal Chem* 81:913–929 . <https://doi.org/10.1021/ac801411t>
 42. Hird SJ, Lau BP-Y, Schuhmacher R, Krska R (2014) Liquid chromatography-mass spectrometry for the determination of chemical contaminants in food. *TrAC Trends Anal Chem* 59:59–72 . <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.04.005>
 43. Yates JR, Ruse CI, Nakorchevsky A (2009) Proteomics by Mass Spectrometry: Approaches, Advances, and Applications. *Annu Rev Biomed Eng* 11:49–79 . <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-061008-124934>
 44. Singhal N, Kumar M, Kanaujia PK, Viridi JS (2015) MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Front Microbiol* 6: . <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00791>
 45. Marshall AG, Chen T (2015) 40 years of Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Int J Mass Spectrom* 377:410–420 . <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2014.06.034>
 46. Hu Q, Noll RJ, Li H, Makarov A, Hardman M, Graham Cooks R (2005) The Orbitrap: a new mass spectrometer. *J Mass Spectrom* 40:430–443 . <https://doi.org/10.1002/jms.856>
 47. Perry RH, Cooks RG, Noll RJ (2008) Orbitrap mass spectrometry: Instrumentation, ion motion and applications. *Mass Spectrom Rev* 27:661–699 . <https://doi.org/10.1002/mas.20186>
 48. Scigelova M, Hornshaw M, Giannakopoulos A, Makarov A (2011) Fourier Transform Mass Spectrometry. *Mol Cell Proteomics* 10:M111.009431 . <https://doi.org/10.1074/mcp.M111.009431>
 49. Holčápek M, Jirásko R, Lísa M (2012) Recent developments in liquid chromatography-mass spectrometry and related techniques. *J Chromatogr A* 1259:3–15 . <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.08.072>
 50. Bowman AP, Blakney GT, Hendrickson CL, Ellis SR, Heeren RMA, Smith DF (2020) Ultra-High Mass Resolving Power, Mass Accuracy, and Dynamic Range MALDI Mass Spectrometry Imaging by 21-T FT-ICR MS. *Anal Chem* 92:3133–3142 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b04768>
 51. Denisov E, Damoc E, Lange O, Makarov A (2012) Orbitrap mass spectrometry with resolving powers above 1,000,000. *Int J Mass Spectrom* 325–327:80–85 .

- <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2012.06.009>
52. Kind T, Tsugawa H, Cajka T, Ma Y, Lai Z, Mehta SS, Wohlgemuth G, Barupal DK, Showalter MR, Arita M, Fiehn O (2018) Identification of small molecules using accurate mass MS/MS search. *Mass Spectrom Rev* 37:513–532 .
<https://doi.org/10.1002/mas.21535>
53. Lin L, Lin H, Zhang M, Dong X, Yin X, Qu C, Ni J (2015) Types, principle, and characteristics of tandem high-resolution mass spectrometry and its applications. *RSC Adv* 5:107623–107636 . <https://doi.org/10.1039/C5RA22856E>
54. Bleakney W (1929) A New Method of Positive Ray Analysis and Its Application to the Measurement of Ionization Potentials in Mercury Vapor. *Phys Rev* 34:157–160 .
<https://doi.org/10.1103/PhysRev.34.157>
55. Nier AO (1947) A Mass Spectrometer for Isotope and Gas Analysis. *Rev Sci Instrum* 18:398–411 . <https://doi.org/10.1063/1.1740961>
56. Bentley TW, Johnstone RAW (1970) Mechanism and Structure in Mass Spectrometry: A Comparison with Other Chemical Processes. pp 151–269
57. NIST Mass Spectrometry Data Center.
<https://chemdata.nist.gov/dokuwiki/doku.php?id=chemdata:start>
58. Hillenkamp F, Karas M, Beavis RC, Chait BT (1991) Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry of Biopolymers. *Anal Chem* 63:1193A-1203A .
<https://doi.org/10.1021/ac00024a716>
59. Mann M, Hendrickson RC, Pandey A (2001) a Nalysis of P Roteins and P Roteomes By. *Outlook* 70:437–473
60. McDonnell LA, Heeren RMA (2007) Imaging mass spectrometry. *Mass Spectrom Rev* 26:606–643 . <https://doi.org/10.1002/mas.20124>
61. Montaudo G, Samperi F, Montaudo MS (2006) Characterization of synthetic polymers by MALDI-MS. *Prog Polym Sci* 31:277–357 .
<https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2005.12.001>
62. Karas M, Bahr U, Gießmann U (1991) Matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry. *Mass Spectrom Rev* 10:335–357 . <https://doi.org/10.1002/mas.1280100503>
63. Laiko V V., Baldwin MA, Burlingame AL (2000) Atmospheric Pressure Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry. *Anal Chem* 72:652–657 .
<https://doi.org/10.1021/ac990998k>
64. Laiko V V., Moyer SC, Cotter RJ (2000) Atmospheric Pressure MALDI/Ion Trap Mass Spectrometry. *Anal Chem* 72:5239–5243 . <https://doi.org/10.1021/ac000530d>

65. Moyer SC, Cotter RJ (2002) Peer Reviewed: Atmospheric Pressure MALDI. *Anal Chem* 74:468 A-476 A . <https://doi.org/10.1021/ac022091j>
66. Caprioli RM, Farmer TB, Gile J (1997) Molecular Imaging of Biological Samples: Localization of Peptides and Proteins Using MALDI-TOF MS. *Anal Chem* 69:4751–4760 . <https://doi.org/10.1021/ac970888i>
67. Cornett DS, Reyzer ML, Chaurand P, Caprioli RM (2007) MALDI imaging mass spectrometry: Molecular snapshots of biochemical systems. *Nat Methods* 4:828–833 . <https://doi.org/10.1038/nmeth1094>
68. Dewald HD (1999) Electrospray Ionization Mass Spectrometry: Fundamentals, Instrumentation and Applications (ed. Cole, Richard B.). *J Chem Educ* 76:33 . <https://doi.org/10.1021/ed076p33.1>
69. Li D-X, Gan L, Bronja A, Schmitz OJ (2015) Gas chromatography coupled to atmospheric pressure ionization mass spectrometry (GC-API-MS): Review. *Anal Chim Acta* 891:43–61 . <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.08.002>
70. Yamashita M, Fenn JB (1984) Electrospray ion source. Another variation on the free-jet theme. *J Phys Chem* 88:4451–4459 . <https://doi.org/10.1021/j150664a002>
71. Thomson BA, Iribarne J V. (1979) Field induced ion evaporation from liquid surfaces at atmospheric pressure. *J Chem Phys* 71:4451–4463 . <https://doi.org/10.1063/1.438198>
72. Iribarne JV, Dziedzic PJ, Thomson BA (1983) Atmospheric pressure ion evaporation-mass spectrometry. *Int J Mass Spectrom Ion Phys* 50:331–347 . [https://doi.org/10.1016/0020-7381\(83\)87009-0](https://doi.org/10.1016/0020-7381(83)87009-0)
73. Bruins AP, Covey TR, Henion JD (1987) Ion spray interface for combined liquid chromatography/atmospheric pressure ionization mass spectrometry. *Anal Chem* 59:2642–2646 . <https://doi.org/10.1021/ac00149a003>
74. Konermann L, Ahadi E, Rodriguez AD, Vahidi S (2013) Unraveling the Mechanism of Electrospray Ionization. *Anal Chem* 85:2–9 . <https://doi.org/10.1021/ac302789c>
75. Covey TR, Thomson BA, Schneider BB (2009) Atmospheric pressure ion sources. *Mass Spectrom Rev* 28:870–897 . <https://doi.org/10.1002/mas.20246>
76. Manisali I, Chen DDY, Schneider BB (2006) Electrospray ionization source geometry for mass spectrometry: past, present, and future. *TrAC Trends Anal Chem* 25:243–256 . <https://doi.org/10.1016/j.trac.2005.07.007>
77. Wilm M, Mann M (1996) Analytical Properties of the Nanoelectrospray Ion Source. *Anal Chem* 68:1–8 . <https://doi.org/10.1021/ac9509519>
78. Schmidt A, Karas M, Dülcks T (2003) Effect of different solution flow rates on analyte ion

- signals in nano-ESI MS, or: when does ESI turn into nano-ESI? *J Am Soc Mass Spectrom* 14:492–500 . [https://doi.org/10.1016/S1044-0305\(03\)00128-4](https://doi.org/10.1016/S1044-0305(03)00128-4)
79. El-Faramawy A, Siu KWM, Thomson BA (2005) Efficiency of nano-electrospray ionization. *J Am Soc Mass Spectrom* 16:1702–1707 . <https://doi.org/10.1016/j.jasms.2005.06.011>
80. Chetwynd AJ, David A (2018) A review of nanoscale LC-ESI for metabolomics and its potential to enhance the metabolome coverage. *Talanta* 182:380–390 . <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.01.084>
81. Zrostlíková J, Hajšlová J, Kovalczuk T, Štěpán R, Poustka J (2003) Determination of Seventeen Polar/Thermolabile Pesticides in Apples and Apricots by Liquid Chromatography/Mass Spectrometry. *J AOAC Int* 86:612–622 . <https://doi.org/10.1093/jaoac/86.3.612>
82. Botitsi H V., Garbis SD, Economou A, Tsipi DF (2010) Current mass spectrometry strategies for the analysis of pesticides and their metabolites in food and water matrices. *Mass Spectrom Rev* n/a-n/a . <https://doi.org/10.1002/mas.20307>
83. Dasenaki ME, Thomaidis NS (2015) Multi-residue determination of 115 veterinary drugs and pharmaceutical residues in milk powder, butter, fish tissue and eggs using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 880:103–121 . <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.04.013>
84. Catherman AD, Skinner OS, Kelleher NL (2014) Top Down proteomics: Facts and perspectives. *Biochem Biophys Res Commun* 445:683–693 . <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.02.041>
85. Kruve A, Künnapas A, Herodes K, Leito I (2008) Matrix effects in pesticide multi-residue analysis by liquid chromatography–mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1187:58–66 . <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.01.077>
86. Stahnke H, Kittlaus S, Kempe G, Alder L (2012) Reduction of Matrix Effects in Liquid Chromatography–Electrospray Ionization–Mass Spectrometry by Dilution of the Sample Extracts: How Much Dilution is Needed? *Anal Chem* 84:1474–1482 . <https://doi.org/10.1021/ac202661j>
87. Horning EC, Horning MG, Carroll DI, Dzidic I, Stillwell RN (1973) New picogram detection system based on a mass spectrometer with an external ionization source at atmospheric pressure. *Anal Chem* 45:936–943 . <https://doi.org/10.1021/ac60328a035>
88. Carroll DI, Dzidic I, Stillwell RN, Haegele KD, Horning EC (1975) Atmospheric pressure ionization mass spectrometry. Corona discharge ion source for use in a liquid chromatograph-mass spectrometer-computer analytical system. *Anal Chem* 47:2369–

- 2373 . <https://doi.org/10.1021/ac60364a031>
89. Vaikkinen A, Kauppila TJ, Kostianen R (2016) Charge Exchange Reaction in Dopant-Assisted Atmospheric Pressure Chemical Ionization and Atmospheric Pressure Photoionization. *J Am Soc Mass Spectrom* 27:1291–1300 .
<https://doi.org/10.1007/s13361-016-1399-8>
90. Fischer M, Perkins PD (2005) Simultaneous Electrospray and Atmospheric Pressure Chemical Ionization: The Science Behind the Agilent Multimode Ion Source
91. Gallagher RT, Balogh MP, Davey P, Jackson MR, Sinclair I, Southern LJ (2003) Combined Electrospray Ionization–Atmospheric Pressure Chemical Ionization Source for Use in High-Throughput LC–MS Applications. *Anal Chem* 75:973–977 .
<https://doi.org/10.1021/ac0205457>
92. Robb DB, Covey TR, Bruins AP (2000) Atmospheric Pressure Photoionization: An Ionization Method for Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. *Anal Chem* 72:3653–3659 . <https://doi.org/10.1021/ac0001636>
93. Raffaelli A, Saba A (2003) Atmospheric pressure photoionization mass spectrometry. *Mass Spectrom Rev* 22:318–331 . <https://doi.org/10.1002/mas.10060>
94. Kauppila TJ, Syage JA, Benter T (2017) Recent developments in atmospheric pressure photoionization-mass spectrometry. *Mass Spectrom Rev* 36:423–449 .
<https://doi.org/10.1002/mas.21477>
95. MORIWAKI H, ISHITAKE M, YOSHIKAWA S, MIYAKODA H, ALARY J-F (2004) Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Sediment by Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Photoionization-Mass Spectrometry. *Anal Sci* 20:375–377 . <https://doi.org/10.2116/analsci.20.375>
96. Kauppila TJ, Kuuranne T, Meurer EC, Eberlin MN, Kotiaho T, Kostianen R (2002) Atmospheric Pressure Photoionization Mass Spectrometry. Ionization Mechanism and the Effect of Solvent on the Ionization of Naphthalenes. *Anal Chem* 74:5470–5479 .
<https://doi.org/10.1021/ac025659x>
97. Chen H, Gamez G, Zenobi R (2009) What Can We Learn from Ambient Ionization Techniques? *J Am Soc Mass Spectrom* 20:1947–1963 .
<https://doi.org/10.1016/j.jasms.2009.07.025>
98. Venter A, Nefliu M, Graham Cooks R (2008) Ambient desorption ionization mass spectrometry. *TrAC - Trends Anal Chem* 27:284–290 .
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.01.010>
99. Monge ME, Fernández FM (2014) Chapter 1. An Introduction to Ambient Ionization Mass

- Spectrometry. In: Domin M, Cody R (eds) *Ambient ionization mass spectrometry*, 1st ed. Royal Society of Chemistry, pp 1–22
100. Takáts Z, Wiseman JM, Gologan B, Cooks RG (2004) Mass spectrometry sampling under ambient conditions with desorption electrospray ionization. *Science* (80-) 306:471–473 . <https://doi.org/10.1126/science.1104404>
101. Cody RB, Laramée JA, Durst HD (2005) Versatile new ion source for the analysis of materials in open air under ambient conditions. *Anal Chem* 77:2297–2302 . <https://doi.org/10.1021/ac050162j>
102. Cooks RG, Ouyang Z, Takats Z, Wiseman JM (2006) *Ambient Mass Spectrometry*. *Science* (80-) 311:1566–1570 . <https://doi.org/10.1126/science.1119426>
103. Feider CL, Krieger A, Dehoog RJ, Eberlin LS (2019) *Ambient Ionization Mass Spectrometry: Recent Developments and Applications*. *Anal Chem* 91:4266–4290 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b00807>
104. Farré M, Barceló D (2015) *Ambient Ionization Techniques*. In: *Comprehensive Analytical Chemistry*. pp 245–273
105. Venter AR, Douglass KA, Shelley JT, Hasman G, Honarvar E (2014) Mechanisms of Real-Time, Proximal Sample Processing during Ambient Ionization Mass Spectrometry. *Anal Chem* 86:233–249 . <https://doi.org/10.1021/ac4038569>
106. Huang MZ, Yuan CH, Cheng SC, Cho YT, Shiea J (2010) Ambient ionization mass spectrometry. *Annu Rev Anal Chem* 3:43–65 . <https://doi.org/10.1146/annurev.anchem.111808.073702>
107. Beneito-Cambra M, Gilbert-López B, Moreno-González D, Bouza M, Garcia-Reyes JF, Franzke J, Molina-Díaz A (2020) Ambient (desorption/ionization) mass spectrometry methods for pesticide testing in food: a review. *Anal Methods*. <https://doi.org/10.1039/d0ay01474e>
108. Portability™ Transportable Mass Spectrometer. <https://www.bayspec.com/spectroscopy/portable-mass-spectrometer/>
109. García-Reyes JF, Gilbert-López B, Agüera A, Fernández-Alba AR, Molina-Díaz A (2012) The Potential of Ambient Desorption Ionization Methods Combined with High-Resolution Mass Spectrometry for Pesticide Testing in Food. *Compr Anal Chem* 58:339–366 . <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53810-9.00004-3>
110. García-Reyes JF, Jackson AU, Molina-Díaz A, Cooks RG (2009) Desorption electrospray ionization mass spectrometry for trace analysis of agrochemicals in food. *Anal Chem* 81:820–829 . <https://doi.org/10.1021/ac802166v>

111. García-Reyes JF, Mazzoti F, Harper JD, Charipar NA, Oradu S, Ouyang Z, Sindona G, Graham Cooks R (2009) Direct olive oil analysis by low-temperature plasma (LTP) ambient ionization mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 23:3057–3062 .
<https://doi.org/10.1002/rcm.4220>
112. Monge ME, Harris GA, Dwivedi P, Fernández FM (2013) Mass spectrometry: Recent advances in direct open air surface sampling/ionization. *Chem Rev* 113:2269–2308 .
<https://doi.org/10.1021/cr300309q>
113. DESI-MS. https://www.waters.com/waters/en_US/DESI%3A-MS-Imaging-for-Biomedical-Research-/nav.htm?locale=en_US&cid=134988839
114. Ionsense Inc. -- Providing Real-Time Science Solutions with Mass Spectrometry.
<https://www.ionsense.com/>
115. Pérez JJ, Harris GA, Chipuk JE, Brodbelt JS, Green MD, Hampton CY, Fernández FM (2010) Transmission-mode direct analysis in real time and desorption electrospray ionization mass spectrometry of insecticide-treated bednets for malaria control. *Analyst* 135:712–719 . <https://doi.org/10.1039/b924533b>
116. Harper JD, Charipar NA, Mulligan CC, Zhang X, Cooks RG, Ouyang Z (2008) Low-temperature plasma probe for ambient desorption ionization. *Anal Chem* 80:9097–9104 .
<https://doi.org/10.1021/ac801641a>
117. Tendero C, Tixier C, Tristant P, Desmaison J, Leprince P (2006) Atmospheric pressure plasmas: A review. *Spectrochim Acta - Part B At Spectrosc* 61:2–30 .
<https://doi.org/10.1016/j.sab.2005.10.003>
118. Conrads H, Schmidt M (2000) Plasma generation and plasma sources. *Plasma Sources Sci Technol* 9:441–454 . <https://doi.org/10.1088/0963-0252/9/4/301>
119. Bogaerts A, Neyts E, Gijbels R, Mullen J Van Der (2002) Gas discharge plasmas and their applications. 57:609–658 . [https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(01\)00406-2](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(01)00406-2)
120. Brandt S, Schütz A, Klute FD, Kratzer J, Franzke J (2016) Dielectric barrier discharges applied for optical spectrometry. *Spectrochim Acta - Part B At Spectrosc* 123:6–32 .
<https://doi.org/10.1016/j.sab.2016.07.001>
121. Siemens W (1857) Ueber die elektrostatische Induction und die Verzögerung des Stroms in Flaschendrähnen. *Ann der Phys und Chemie* 178:66–122 .
<https://doi.org/10.1002/andp.18571780905>
122. Kogelschatz U (2003) Dielectric-barrier discharges: Their History, Discharge Physics, and Industrial Applications. *Plasma Chem. Plasma Process.* 23
123. Borcia G, Anderson CA, Brown NMD (2003) Dielectric barrier discharge for surface

- treatment: application to selected polymers in film and fibre form. *Plasma Sources Sci Technol* 12:335–344 . <https://doi.org/10.1088/0963-0252/12/3/306>
124. Hubicka Z, Cada M, Sicha M, Churpita A, Pokorný P, Soukup L, Jastrabík L (2002) Barrier-torch discharge plasma source for surface treatment technology at atmospheric pressure. *Plasma Sources Sci Technol* 11:195–202 . <https://doi.org/10.1088/0963-0252/11/2/311>
125. Roth JR (2003) Aerodynamic flow acceleration using piezoelectric and peristaltic electrohydrodynamic effects of a One Atmosphere Uniform Glow Discharge Plasma. *Phys Plasmas* 10:2117–2126 . <https://doi.org/10.1063/1.1564823>
126. Akishev Y, Grushin M, Karalnik V, Trushkin N, Kholodenko V, Chugunov V, Kobzev E, Zhirkova N, Irkhina I, Kireev G (2008) Atmospheric-pressure , nonthermal plasma sterilization of microorganisms in liquids and on surfaces *. *Pure Appl Chem* 80:1953–1969 . <https://doi.org/10.1351/pac200880091953>
127. Alkawareek MY, Algwari QT, Gorman SP, Graham WG, Connell O, Gilmore BF, Gilmore CBF (2012) Application of atmospheric pressure nonthermal plasma for the in vitro eradication of bacterial biofilm. *FEMS Immunol Med Microbiol* 65:381–384 . <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2012.00942.x>
128. Rowan NJ, Espie S, Harrower J, Anderson JG, Marsili L, MacGregor SJ (2007) Pulsed-plasma gas-discharge inactivation of microbial pathogens in chilled poultry wash water. *J Food Prot* 70:2805–2810 . <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.12.2805>
129. Afshari R, Hosseini H (2014) Non-thermal plasma as a new food preservation method , Its present and future prospect. *J Paramed Sci* 5:1–5 . <https://doi.org/10.22037/jps.v5i1.5348>
130. Pavlovich MJ, Sakiyama Y, Clark DS, Graves DB (2013) Antimicrobial Synergy Between Ambient-Gas Plasma and UVA Treatment of Aqueous Solution. *Plasma Process Polym* 10:1051–1060 . <https://doi.org/10.1002/ppap.201300065>
131. Scholtz V, Pazlarova J, Souskova H, Khun J, Julak J (2015) Nonthermal plasma — A tool for decontamination and disinfection. *Biotechnol Adv* 33:1108–1119 . <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.01.002>
132. Aerts R, Somers W, Bogaerts A (2015) Carbon Dioxide Splitting in a Dielectric Barrier Discharge Plasma: A Combined Experimental and Computational Study. *ChemSusChem* 8:702–716 . <https://doi.org/10.1002/cssc.201402818>
133. Ramakers M, Michielsen I, Aerts R, Meynen V, Bogaerts A (2015) Effect of Argon or Helium on the CO₂ Conversion in a Dielectric Barrier Discharge. *Plasma Process Polym* 12:755–763 . <https://doi.org/10.1002/ppap.201400213>

134. Van Laer K, Bogaerts A (2015) Improving the Conversion and Energy Efficiency of Carbon Dioxide Splitting in a Zirconia-Packed Dielectric Barrier Discharge Reactor. *Energy Technol* 3:1038–1044 . <https://doi.org/10.1002/ente.201500127>
135. Hu J, Li W, Zheng C, Hou X (2011) Dielectric barrier discharge in analytical spectrometry. *Appl Spectrosc Rev* 46:368–387 . <https://doi.org/10.1080/05704928.2011.561511>
136. Niu G, Knodel A, Burhenn S, Brandt S, Franzke J (2021) Review: Miniature dielectric barrier discharge (DBD) in analytical atomic spectrometry. *Anal Chim Acta* 1147:211–239 . <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.11.034>
137. Klute FD, Schütz A, Brandt S, Burhenn S, Vogel P, Franzke J (2018) Characterization of dielectric barrier discharges for analytical chemistry. *J Phys D Appl Phys* 51: . <https://doi.org/10.1088/1361-6463/aace24>
138. Meyer C, Müller S, Gurevich EL, Franzke J (2011) Dielectric barrier discharges in analytical chemistry. *Analyst* 136:2427–2440 . <https://doi.org/10.1039/c0an00994f>
139. Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR (2008) *Principios de análisis instrumental*. Sexta edición
140. Jiang X, Chen Y, Zheng C, Hou X (2014) Electrothermal Vaporization for Universal Liquid Sample Introduction to Dielectric Barrier Discharge Microplasma for Portable Atomic Emission Spectrometry. *Anal Chem* 86:5220–5224 . <https://doi.org/10.1021/ac500637p>
141. Liu X, Yu K, Zhang H, Zhang X, Zhang H, Zhang J, Gao J, Li N, Jiang J (2020) A portable electromagnetic heating-microplasma atomic emission spectrometry for direct determination of heavy metals in soil. *Talanta* 219:121348 . <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121348>
142. Tombrink S, Müller S, Heming R, Michels A, Lampen P, Franzke J (2010) Liquid analysis dielectric capillary barrier discharge. *Anal Bioanal Chem* 397:2917–2922 . <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3844-z>
143. He Q, Zhu Z, Hu S, Zheng H, Jin L (2012) Elemental Determination of Microsamples by Liquid Film Dielectric Barrier Discharge Atomic Emission Spectrometry. *Anal Chem* 84:4179–4184 . <https://doi.org/10.1021/ac300518y>
144. Cai Y, Zhang Y-J, Wu D-F, Yu Y-L, Wang J-H (2016) Nonthermal Optical Emission Spectrometry: Direct Atomization and Excitation of Cadmium for Highly Sensitive Determination. *Anal Chem* 88:4192–4195 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b00830>
145. Pohl P, Greda K, Dzimitrowicz A, Welna M, Szymczycha-Madeja A, Lesniewicz A, Jamroz P (2019) Cold atmospheric plasma-induced chemical vapor generation in trace element analysis by spectrometric methods. *TrAC Trends Anal Chem* 113:234–245 . <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.02.015>

146. Liu X, Zhu Z, Xing P, Zheng H, Hu S (2020) Plasma induced chemical vapor generation for atomic spectrometry: A review. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* 167:105822 . <https://doi.org/10.1016/j.sab.2020.105822>
147. Yu Y-L, Dou S, Chen M-L, Wang J-H (2013) Iodine excitation in a dielectric barrier discharge micro-plasma and its determination by optical emission spectrometry. *Analyst* 138:1719 . <https://doi.org/10.1039/c2an36780g>
148. Burhenn S, Kratzer J, Klute FD, Dědina J, Franzke J (2019) Atomization of arsenic hydride in a planar dielectric barrier discharge: Behavior of As atoms studied by temporally and spatially resolved optical emission spectrometry. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* 152:68–73 . <https://doi.org/10.1016/j.sab.2018.12.006>
149. Albrecht M, Mrkvičková M, Svoboda M, Hraníček J, Voráč J, Dvořák P, Dědina J, Kratzer J (2020) Atomization of lead hydride in a dielectric barrier discharge atomizer: Optimized for atomic absorption spectrometry and studied by laser-induced fluorescence. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* 166:105819 . <https://doi.org/10.1016/j.sab.2020.105819>
150. Kratzer J, Zelina O, Svoboda M, Sturgeon RE, Mester Z, Dědina J (2016) Atomization of Bismuthane in a Dielectric Barrier Discharge: A Mechanistic Study. *Anal Chem* 88:1804–1811 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b04095>
151. Kratzer J, Musil S, Marschner K, Svoboda M, Matoušek T, Mester Z, Sturgeon RE, Dědina J (2018) Behavior of selenium hydride in heated quartz tube and dielectric barrier discharge atomizers. *Anal Chim Acta* 1028:11–21 . <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.05.053>
152. Zhu Z, Liu Z, Zheng H, Hu S (2010) Non-chromatographic determination of inorganic and total mercury by atomic absorption spectrometry based on a dielectric barrier discharge atomizer. *J Anal At Spectrom* 25:697 . <https://doi.org/10.1039/b924824b>
153. Novák P, Dědina J, Kratzer J (2016) Preconcentration and Atomization of Arsane in a Dielectric Barrier Discharge with Detection by Atomic Absorption Spectrometry. *Anal Chem* 88:6064–6070 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b01365>
154. Zurynková P, Dědina J, Kratzer J (2018) Trace determination of antimony by hydride generation atomic absorption spectrometry with analyte preconcentration/atomization in a dielectric barrier discharge atomizer. *Anal Chim Acta* 1010:11–19 . <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.01.033>
155. Kratzer J, Musil S, Dědina J (2019) Feasibility of in situ trapping of selenium hydride in a DBD atomizer for ultrasensitive Se determination by atomic absorption spectrometry

- studied with a ^{75}Se radioactive indicator. *J Anal At Spectrom* 34:193–202 .
<https://doi.org/10.1039/C8JA00312B>
156. Zhu Z, Liu J, Zhang S, Na X, Zhang X (2008) Determination of Se, Pb, and Sb by atomic fluorescence spectrometry using a new flameless, dielectric barrier discharge atomizer. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* 63:431–436 .
<https://doi.org/10.1016/j.sab.2007.12.008>
157. Xing Z, Kuermaiti B, Wang J, Han G, Zhang S, Zhang X (2010) Simultaneous determination of arsenic and antimony by hydride generation atomic fluorescence spectrometry with dielectric barrier discharge atomizer. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* 65:1056–1060 . <https://doi.org/10.1016/j.sab.2010.10.003>
158. Liu M, Liu T, Mao X, Liu J, Na X, Ding L, Qian Y (2019) A novel gas liquid separator for direct sampling analysis of ultratrace arsenic in blood sample by hydride generation in-situ dielectric barrier discharge atomic fluorescence spectrometry. *Talanta* 202:178–185 .
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.04.041>
159. Liu M, Liu J, Mao X, Na X, Ding L, Qian Y (2020) High Sensitivity Analysis of Selenium by Ultraviolet Vapor Generation Combined with Microplasma Gas Phase Enrichment and the Mechanism Study. *Anal Chem* 92:7257–7264 .
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c00878>
160. Zhu Z, Liu J, Zhang S, Na X, Zhang X (2008) Evaluation of a hydride generation-atomic fluorescence system for the determination of arsenic using a dielectric barrier discharge atomizer. *Anal Chim Acta* 607:136–141 . <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.11.041>
161. Mao X, Qi Y, Huang J, Liu J, Chen G, Na X, Wang M, Qian Y (2016) Ambient-Temperature Trap/Release of Arsenic by Dielectric Barrier Discharge and Its Application to Ultratrace Arsenic Determination in Surface Water Followed by Atomic Fluorescence Spectrometry. *Anal Chem* 88:4147–4152 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b00506>
162. He Y, Lv Y, Li Y, Tang H, Tang L, Wu X, Hou X (2007) Dielectric Barrier Discharge-Induced Chemiluminescence: Potential Application as GC Detector. *Anal Chem* 79:4674–4680 . <https://doi.org/10.1021/ac070321u>
163. Gras R, Luong J, Monagle M, Winniford B (2006) Gas Chromatographic Applications with the Dielectric Barrier Discharge Detector. *J Chromatogr Sci* 44:101–107 .
<https://doi.org/10.1093/chromsci/44.2.101>
164. Kunze K, Miclea M, Franzke J, Niemax K (2003) The dielectric barrier discharge as a detector for gas chromatography. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* 58:1435–1443 .
[https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(03\)00104-6](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(03)00104-6)

165. Li Y, Hu J, Tang L, He Y, Wu X, Hou X, Lv Y (2008) Miniaturized dielectric barrier discharge induced chemiluminescence for detection of volatile chlorinated hydrocarbons separated by gas chromatography. *J Chromatogr A* 1192:194–197 .
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.03.074>
166. Gras R, Luong J, Hawryluk M, Monagle M (2010) Analysis of part-per-billion level of arsine and phosphine in light hydrocarbons by capillary flow technology and dielectric barrier discharge detector. *J Chromatogr A* 1217:348–352 .
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.042>
167. Brandt S, Klute FD, Schütz A, Franzke J (2017) Dielectric barrier discharges applied for soft ionization and their mechanism. *Anal Chim Acta* 951:16–31 .
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.10.037>
168. Michels A, Tombrink S, Vautz W, Miclea M, Franzke J (2007) Spectroscopic characterization of a microplasma used as ionization source for ion mobility spectrometry. *Spectrochim Acta - Part B At Spectrosc* 62:1208–1215 .
<https://doi.org/10.1016/j.sab.2007.08.004>
169. Kogelschatz U (2002) Dielectric-barrier Discharges: Their History, Discharge Physics, and Industrial Applications. *Plasma Chem Plasma Process* 23:1–46 .
<https://doi.org/10.1023/A:1022470901385>
170. Olenici-Craciunescu SB, Michels A, Meyer C, Heming R, Tombrink S, Vautz W, Franzke J (2009) Characterization of a capillary dielectric barrier plasma jet for use as a soft ionization source by optical emission and ion mobility spectrometry. *Spectrochim Acta - Part B At Spectrosc* 64:1253–1258 . <https://doi.org/10.1016/j.sab.2009.10.001>
171. Schütz A, Lara-Ortega FJ, Klute FD, Brandt S, Schilling M, Michels A, Veza D, Horvatic V, García-Reyes JF, Franzke J (2018) Soft Argon-Propane Dielectric Barrier Discharge Ionization. *Anal Chem* 90:3537–3542 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b05390>
172. Paschen F (1889) Ueber die zum Funkenübergang in Luft, Wasserstoff und Kohlensäure bei verschiedenen Drucken erforderliche Potentialdifferenz. *Ann Phys* 273:69–96 .
<https://doi.org/10.1002/andp.18892730505>
173. Klute FD, Michels A, Schütz A, Vadla C, Horvatic V, Franzke J (2016) Capillary Dielectric Barrier Discharge: Transition from Soft Ionization to Dissociative Plasma. *Anal Chem* 88:4701–4705 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b04605>
174. Franzke J (2009) The micro-discharge family (dark, corona, and glow-discharge) for analytical applications realized by dielectric barriers. *Anal Bioanal Chem* 395:549–557 .
<https://doi.org/10.1007/s00216-009-2799-4>

175. Ahmed E, Xiao D, Dumlao MC, Steel CC, Schmidtke LM, Fletcher J, Donald WA (2020) Nanosecond Pulsed Dielectric Barrier Discharge Ionization Mass Spectrometry. *Anal Chem* 92:4468–4474 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b05491>
176. Horvatic V, Michels A, Ahlmann N, Jestel G, Veza D, Vadla C, Franzke J (2015) Time- and spatially resolved emission spectroscopy of the dielectric barrier discharge for soft ionization sustained by a quasi-sinusoidal high voltage. *Anal Bioanal Chem* 407:6689–6696 . <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8827-7>
177. Horvatic V, Michels A, Ahlmann N, Jestel G, Veza D, Vadla C, Franzke J (2015) Time-resolved spectroscopy of a homogeneous dielectric barrier discharge for soft ionization driven by square wave high voltage. *Anal Bioanal Chem* 407:7973–7981 . <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8969-7>
178. Brandenburg R (2018) Dielectric barrier discharges: progress on plasma sources and on the understanding of regimes and single filaments. *Plasma Sources Sci Technol* 27:079501 . <https://doi.org/10.1088/1361-6595/aaced9>
179. Horvatic V, Vadla C, Franzke J (2014) Discussion of fundamental processes in dielectric barrier discharges used for soft ionization. *Spectrochim Acta - Part B At Spectrosc* 100:52–61 . <https://doi.org/10.1016/j.sab.2014.08.010>
180. Klute FD, Schütz A, Michels A, Vadla C, Veza D, Horvatic V, Franzke J (2016) An experimental study on the influence of trace impurities on ionization of atmospheric noble gas dielectric barrier discharges. *Analyst* 141:5842–5848 . <https://doi.org/10.1039/C6AN01352J>
181. Schütz A, Lara-Ortega FJ, Klute FD, Brandt S, Schilling M, Michels A, Veza D, Horvatic V, García-Reyes JF, Franzke J (2018) Soft Argon–Propane Dielectric Barrier Discharge Ionization. *Anal Chem* 90:3537–3542 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b05390>
182. Schütz A, Klute FD, Brandt S, Liedtke S, Jestel G, Franzke J (2016) Tuning Soft Ionization Strength for Organic Mass Spectrometry. *Anal Chem* 88:5538–5541 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b01131>
183. Wagner H-E, Brandenburg R, Kozlov KV, Sonnenfeld A, Michel P, Behnke JF (2003) The barrier discharge: basic properties and applications to surface treatment. *Vacuum* 71:417–436 . [https://doi.org/10.1016/S0042-207X\(02\)00765-0](https://doi.org/10.1016/S0042-207X(02)00765-0)
184. Meyer C, Müller S, Gilbert-Lopez B, Franzke J (2013) Impact of homogeneous and filamentary discharge modes on the efficiency of dielectric barrier discharge ionization mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 405:4729–4735 . <https://doi.org/10.1007/s00216-013-6902-5>

185. Müller S, Krähling T, Veza D, Horvatic V, Vadla C, Franzke J (2013) Operation modes of the helium dielectric barrier discharge for soft ionization. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* 85:104–111 . <https://doi.org/10.1016/j.sab.2013.04.005>
186. Guo C, Tang F, Chen J, Wang X, Zhang S, Zhang X (2015) Development of dielectric-barrier-discharge ionization. *Anal Bioanal Chem* 407:2345–2364 . <https://doi.org/10.1007/s00216-014-8281-y>
187. Na N, Zhao M, Zhang S, Yang C, Zhang X (2007) Development of a dielectric barrier discharge ion source for ambient mass spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom* 18:1859–1862 . <https://doi.org/10.1016/j.jasms.2007.07.027>
188. Martínez-Jarquín S, Winkler R (2017) Low-temperature plasma (LTP) jets for mass spectrometry (MS): Ion processes, instrumental set-ups, and application examples. *TrAC - Trends Anal Chem* 89:133–145 . <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.01.013>
189. Dalgleish JK, Wlekinski M, Shelley JT, Mulligan CC, Ouyang Z, Graham Cooks R (2013) Arrays of low-temperature plasma probes for ambient ionization mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 27:135–142 . <https://doi.org/10.1002/rcm.6435>
190. Almasian MR, Yang C, Xing Z, Zhang S, Zhang X (2010) Development of a graphite low-temperature plasma source with dual-mode in-source fragmentation for ambient mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 24:742–748 . <https://doi.org/10.1002/rcm.4444>
191. Martínez-Jarquín S, Winkler R (2013) Design of a low-temperature plasma (LTP) probe with adjustable output temperature and variable beam diameter for the direct detection of organic molecules. *Rapid Commun Mass Spectrom* 27:629–634 . <https://doi.org/10.1002/rcm.6494>
192. Spencer SE, Santiago BG, Glish GL (2015) Miniature Flow-Through Low-Temperature Plasma Ionization Source for Ambient Ionization of Gases and Aerosols. *Anal Chem* 87:11887–11892 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b03447>
193. Klute FD, Brandt S, Vogel P, Biskup B, Reininger C, Horvatic V, Vadla C, Farnsworth PB, Franzke J (2017) Systematic Comparison between Half and Full Dielectric Barrier Discharges Based on the Low Temperature Plasma Probe (LTP) and Dielectric Barrier Discharge for Soft Ionization (DBDI) Configurations. *Anal Chem* 89:9368–9374 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b02174>
194. Miclea M, Kunze K, Musa G, Franzke J, Niemax K (2001) The dielectric barrier discharge — a powerful microchip plasma for diode laser spectrometry. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* 56:37–43 . [https://doi.org/10.1016/S0584-8547\(00\)00286-X](https://doi.org/10.1016/S0584-8547(00)00286-X)

195. Michels A, Tombrink S, Vautz W, Miclea M, Franzke J (2007) Spectroscopic characterization of a microplasma used as ionization source for ion mobility spectrometry. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc* 62:1208–1215 .
<https://doi.org/10.1016/j.sab.2007.08.004>
196. Vautz W, Michels A, Franzke J (2008) Micro-plasma: a novel ionisation source for ion mobility spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 391:2609–2615 .
<https://doi.org/10.1007/s00216-008-2181-y>
197. Hayen H, Michels A, Franzke J (2009) Dielectric barrier discharge ionization for liquid chromatography/mass spectrometry. *Anal Chem* 81:10239–10245 .
<https://doi.org/10.1021/ac902176k>
198. Gilbert-López B, García-Reyes JF, Meyer C, Michels A, Franzke J, Molina-Díaz A, Hayen H (2012) Simultaneous testing of multiclass organic contaminants in food and environment by liquid chromatography/dielectric barrier discharge ionization-mass spectrometry. *Analyst* 137:5403–5410 . <https://doi.org/10.1039/c2an35705d>
199. Lara-Ortega FJ, Robles-Molina J, Brandt S, Schütz A, Gilbert-López B, Molina-Díaz A, García-Reyes JF, Franzke J (2018) Use of dielectric barrier discharge ionization to minimize matrix effects and expand coverage in pesticide residue analysis by liquid chromatography-mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 1020:76–85 .
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.02.077>
200. Gilbert-López B, Lara-Ortega FJ, Robles-Molina J, Brandt S, Schütz A, Moreno-González D, García-Reyes JF, Molina-Díaz A, Franzke J (2019) Detection of multiclass explosives and related compounds in soil and water by liquid chromatography-dielectric barrier discharge ionization-mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 411:4785–4796 .
<https://doi.org/10.1007/s00216-019-01627-2>
201. Nudnova MM, Zhu L, Zenobi R (2012) Active capillary plasma source for ambient mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 26:1447–1452 .
<https://doi.org/10.1002/rcm.6242>
202. Mirabelli MF, Wolf JC, Zenobi R (2016) Pesticide analysis at ppt concentration levels: coupling nano-liquid chromatography with dielectric barrier discharge ionization-mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 408:3425–3434 . <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9419-x>
203. Plasmion GmbH website. <https://www.plasmion.de>
204. Brandt S, Klute FD, Schütz A, Marggraf U, Drees C, Vogel P, Vautz W, Franzke J (2018) Flexible Microtube Plasma (FμTP) as an Embedded Ionization Source for a Microchip

- Mass Spectrometer Interface. *Anal Chem* 90:10111–10116 .
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b01493>
205. Wolf J-C, Gyr L, Mirabelli MF, Schaer M, Siegenthaler P, Zenobi R (2016) A Radical-Mediated Pathway for the Formation of $[M + H]^+$ in Dielectric Barrier Discharge Ionization. *J Am Soc Mass Spectrom* 27:1468–1475 . <https://doi.org/10.1007/s13361-016-1420-2>
206. Gilbert-López B, Geltenpoth H, Meyer C, Michels A, Hayen H, Molina-Díaz A, García-Reyes JF, Franzke J (2013) Performance of dielectric barrier discharge ionization mass spectrometry for pesticide testing: A comparison with atmospheric pressure chemical ionization and electrospray ionization. *Rapid Commun Mass Spectrom* 27:419–429 .
<https://doi.org/10.1002/rcm.6469>
207. Mirabelli MF, Wolf J-C, Zenobi R (2016) Pesticide analysis at ppt concentration levels: coupling nano-liquid chromatography with dielectric barrier discharge ionization-mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 408:3425–3434 . <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9419-x>
208. Hagenhoff S, Hayen H (2018) LC/MS analysis of vitamin D metabolites by dielectric barrier discharge ionization and a comparison with electrospray ionization and atmospheric pressure chemical ionization. *Anal Bioanal Chem* 410:4905–4911 .
<https://doi.org/10.1007/s00216-018-1137-0>
209. Brecht D, Uteschil F, Schmitz OJ (2021) Development of an inverse low-temperature plasma ionization source for liquid chromatography/mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 35: . <https://doi.org/10.1002/rcm.9071>
210. Brandt S, Ahrends R, Franzke J (2018) New Plasma Ionisation Sources for Mass-Spectrometric Detection of Lipids. *Encycl Lipidomics* 1–4 . https://doi.org/10.1007/978-94-007-7864-1_195-1
211. Nørgaard AW, Kofoed-Sørensen V, Svensmark B, Wolkoff P, Clausen PA (2013) Gas chromatography interfaced with atmospheric pressure ionization-quadrupole time-of-flight-mass spectrometry by low-temperature plasma ionization. *Anal Chem* 85:28–32 .
<https://doi.org/10.1021/ac301859r>
212. Mirabelli MF, Wolf JC, Zenobi R (2017) Atmospheric pressure soft ionization for gas chromatography with dielectric barrier discharge ionization-mass spectrometry (GC-DBDI-MS). *Analyst* 142:1909–1915 . <https://doi.org/10.1039/c7an00245a>
213. Huba AK, Mirabelli MF, Zenobi R (2019) Understanding and Optimizing the Ionization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Dielectric Barrier Discharge Sources. *Anal Chem*

- 91:10694–10701 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02044>
214. Bojko B, Cudjoe E, Gómez-Ríos GA, Gorynski K, Jiang R, Reyes-Garcés N, Risticvic S, Silva ÉAS, Togunde O, Vuckovic D, Pawliszyn J (2012) SPME – Quo vadis? *Anal Chim Acta* 750:132–151 . <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.06.052>
215. Weber M, Wolf J-C, Haisch C (2021) Gas Chromatography–Atmospheric Pressure Inlet–Mass Spectrometer Utilizing Plasma-Based Soft Ionization for the Analysis of Saturated, Aliphatic Hydrocarbons. *J Am Soc Mass Spectrom* 32:1707–1715 . <https://doi.org/10.1021/jasms.0c00476>
216. Schütz A, Brandt S, Liedtke S, Foest D, Marggraf U, Franzke J (2015) Dielectric Barrier Discharge Ionization of Perfluorinated Compounds. *Anal Chem* 87:11415–11419 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b03538>
217. Vogel P, Marggraf U, Brandt S, García-Reyes JF, Franzke J (2019) Analyte-Tailored Controlled Atmosphere Improves Dielectric Barrier Discharge Ionization Mass Spectrometry Performance. *Anal Chem* 91:3733–3739 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b00112>
218. Hagenhoff S, Korf A, Markgraf U, Brandt S, Schütz A, Franzke J, Hayen H (2018) Screening of semifluorinated n-alkanes by gas chromatography coupled to dielectric barrier discharge ionization mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 32:1092–1098 . <https://doi.org/10.1002/rcm.8139>
219. Zheng K, Dolan MJ, Haferl PJ, Badiei H, Jorabchi K (2018) Atmospheric-Pressure Dielectric Barrier Discharge as an Elemental Ion Source for Gas Chromatographic Analysis of Organochlorines. *Anal Chem* 90:2148–2154 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04446>
220. Zheng K, Lesniewski JE, Dolan MJ, Li W, Metallo TT, Jorabchi K (2020) Elemental Fluorine Detection by Dielectric Barrier Discharge Coupled to Nanoelectrospray Ionization Mass Spectrometry for Nontargeted Analysis of Fluorinated Compounds. *Anal Chem* 92:10129–10137 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c02141>
221. Brandt S, Klute FD, Schütz A, Marggraf U, Drees C, Vogel P, Vautz W, Franzke J (2018) Flexible Microtube Plasma (F μ TP) as an Embedded Ionization Source for a Microchip Mass Spectrometer Interface. *Anal Chem* 90:10111–10116 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b01493>
222. Vogel P, Lazarou C, Gazeli O, Brandt S, Franzke J, Moreno-González D (2020) Study of Controlled Atmosphere Flexible Microtube Plasma Soft Ionization Mass Spectrometry for Detection of Volatile Organic Compounds as Potential Biomarkers in Saliva for Cancer.

- Anal Chem 92:9722–9729 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c01063>
223. Moreno-González D, Castilla-Fernández D, Vogel P, Niu G, Brandt S, Drees C, García-Reyes JF, Molina-Díaz A, Franzke J (2021) Evaluation of a novel controlled-atmosphere flexible microtube plasma soft ionization source for the determination of BTEX in olive oil by headspace-gas chromatography/mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 1179:338835 . <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338835>
224. Na N, Zhang C, Zhao M, Zhang S, Yang C, Fang X, Zhang X (2007) Direct detection of explosives on solid surfaces by mass spectrometry with an ambient ion source based on dielectric barrier discharge. *J Mass Spectrom* 42:1079–1085 . <https://doi.org/10.1002/jms.1243>
225. Zuppa Neto T de O, Avval TG, Morais PA de O, Ellis WC, Chapman SC, de Oliveira AE, Linford MR, Farnsworth PB, Antoniosi Filho NR (2020) Direct Dielectric Barrier Discharge Ionization Promotes Rapid and Simple Lubricant Oil Fingerprinting. *J Am Soc Mass Spectrom* 31:1525–1535 . <https://doi.org/10.1021/jasms.0c00071>
226. García-Reyes JF, Mazzoti F, Harper JD, Charipar NA, Oradu S, Ouyang Z, Sindona G, Cooks RG (2009) Direct olive oil analysis by low-temperature plasma (LTP) ambient ionization mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 23:3057–3062 . <https://doi.org/10.1002/rcm.4220>
227. Wiley JS, García-Reyes JF, Harper JD, Charipar NA, Ouyang Z, Cooks RG (2010) Screening of agrochemicals in foodstuffs using low-temperature plasma (LTP) ambient ionization mass spectrometry. *Analyst* 135:971 . <https://doi.org/10.1039/b919493b>
228. Albert A, Kramer A, Scheeren S, Engelhard C (2014) Rapid and quantitative analysis of pesticides in fruits by QuEChERS pretreatment and low-temperature plasma desorption/ionization orbitrap mass spectrometry. *Anal Methods* 6:5463–5471 . <https://doi.org/10.1039/C4AY00103F>
229. Beneito-Cambra M, Pérez-Ortega P, Molina-Díaz A, García-Reyes JF (2015) Rapid determination of multiclass fungicides in wine by low-temperature plasma (LTP) ambient ionization mass spectrometry. *Anal Methods* 7:7345–7351 . <https://doi.org/10.1039/C5AY00810G>
230. Huang G, Ouyang Z, Cooks RG (2009) High-throughput trace melamine analysis in complex mixtures. *Chem Commun* 556–558 . <https://doi.org/10.1039/B818059H>
231. Huang G, Xu W, Visbal-Onufrak MA, Ouyang Z, Cooks RG (2010) Direct analysis of melamine in complex matrices using a handheld mass spectrometer. *Analyst* 135:705–711 . <https://doi.org/10.1039/B923427F>

232. Garcia-Reyes JF, Harper JD, Salazar GA, Charipar NA, Ouyang Z, Cooks RG (2011) Detection of Explosives and Related Compounds by Low-Temperature Plasma Ambient Ionization Mass Spectrometry. *Anal Chem* 83:1084–1092 .
<https://doi.org/10.1021/ac1029117>
233. Chen W, Hou K, Hua L, Xiong X, Li H (2014) Water-assisted low temperature plasma ionization source for sensitive detection of explosives. *RSC Adv* 4:14791–14794 .
<https://doi.org/10.1039/C4RA00683F>
234. Fletcher C, Sleeman R, Luke J, Luke P, Bradley JW (2018) Explosive detection using a novel dielectric barrier discharge ionisation source for mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 53:214–222 . <https://doi.org/10.1002/jms.4051>
235. Liu Y, Lin Z, Zhang S, Yang C, Zhang X (2009) Rapid screening of active ingredients in drugs by mass spectrometry with low-temperature plasma probe. *Anal Bioanal Chem* 395:591–599 . <https://doi.org/10.1007/s00216-009-2947-x>
236. Jackson AU, Garcia-Reyes JF, Harper JD, Wiley JS, Molina-Díaz A, Ouyang Z, Graham Cooks R (2010) Analysis of drugs of abuse in biofluids by low temperature plasma (LTP) ionization mass spectrometry. *Analyst* 135:927 . <https://doi.org/10.1039/b920155f>
237. Smoluch M, Babij M, Zuba D, Schroeder G, Gotszalk T, Silberring J (2015) Heat assisted sample introduction and determination of cannabinoids by dielectric barrier discharge ionization mass spectrometry. *Int J Mass Spectrom* 386:32–36 .
<https://doi.org/10.1016/j.ijms.2015.06.007>
238. Zhao Y, Wei Z, Zhao H, Jia J, Chen Z, Zhang S, Ouyang Z, Ma X, Zhang X (2016) In Situ Ion-Transmission Mass Spectrometry for Paper-Based Analytical Devices. *Anal Chem* 88:10805–10810 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b03272>
239. Kuhlmann C, Shelley JT, Engelhard C (2019) Plasma-Based Ambient Desorption/Ionization Mass Spectrometry for the Analysis of Liquid Crystals Employed in Display Devices. *J Am Soc Mass Spectrom* 30:2101–2113 .
<https://doi.org/10.1007/s13361-019-02280-w>
240. Gong X, Zhang D, Embile IB, She Y, Shi S, Gamez G (2020) Low-Temperature Plasma Probe Mass Spectrometry for Analytes Separated on Thin-Layer Chromatography Plates: Direct vs Laser Assisted Desorption. *J Am Soc Mass Spectrom* 31:1981–1993 .
<https://doi.org/10.1021/jasms.0c00246>
241. Li B, Kong J, Yang L, Zhang L, Zhang Z, Li C (2020) Direct detection of chemical warfare agent simulants in soil by thermal desorption-low temperature plasma-mass spectrometry. *Int J Mass Spectrom* 451:116320 . <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2020.116320>

242. Kiontke A, Roudini M, Billig S, Fakhfour A, Winkler A, Birkemeyer C (2021) Surface acoustic wave nebulization improves compound selectivity of low-temperature plasma ionization for mass spectrometry. *Sci Rep* 11:2948 . <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82423-w>
243. Wolf J-C, Etter R, Schaer M, Siegenthaler P, Zenobi R (2016) Direct and Sensitive Detection of CWA Simulants by Active Capillary Plasma Ionization Coupled to a Handheld Ion Trap Mass Spectrometer. *J Am Soc Mass Spectrom* 27:1197–1202 . <https://doi.org/10.1007/s13361-016-1374-4>
244. Dumlao M, Sinues PM-L, Nudnova M, Zenobi R (2014) Real-time detection of chemical warfare agent simulants in forensic samples using active capillary plasma ionization with benchtop and field-deployable mass spectrometers. *Anal Methods* 6:3604 . <https://doi.org/10.1039/c4ay00303a>
245. Wolf J-C, Schaer M, Siegenthaler P, Zenobi R (2015) Direct Quantification of Chemical Warfare Agents and Related Compounds at Low ppt Levels: Comparing Active Capillary Dielectric Barrier Discharge Plasma Ionization and Secondary Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Anal Chem* 87:723–729 . <https://doi.org/10.1021/ac5035874>
246. Mirabelli MF, Wolf J-C, Zenobi R (2016) Direct Coupling of Solid-Phase Microextraction with Mass Spectrometry: Sub-pg/g Sensitivity Achieved Using a Dielectric Barrier Discharge Ionization Source. *Anal Chem* 88:7252–7258 . <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b01507>
247. Mirabelli MF, Gionfriddo E, Pawliszyn J, Zenobi R (2018) A quantitative approach for pesticide analysis in grape juice by direct interfacing of a matrix compatible SPME phase to dielectric barrier discharge ionization-mass spectrometry. *Analyst* 143:891–899 . <https://doi.org/10.1039/C7AN01663H>
248. Huba AK, Mirabelli MF, Zenobi R (2018) High-throughput screening of PAHs and polar trace contaminants in water matrices by direct solid-phase microextraction coupled to a dielectric barrier discharge ionization source. *Anal Chim Acta* 1030:125–132 . <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.05.050>
249. Mirabelli MF, Gionfriddo E, Pawliszyn J, Zenobi R (2019) Fast screening of illicit drugs in beverages and biological fluids by direct coupling of thin film microextraction to dielectric barrier discharge ionization-mass spectrometry. *Analyst* 144:2788–2796 . <https://doi.org/10.1039/C8AN02448K>
250. Dumlao MC, Jeffress LE, Gooding JJ, Donald WA (2016) Solid-phase microextraction low temperature plasma mass spectrometry for the direct and rapid analysis of chemical

- warfare simulants in complex mixtures. *Analyst* 141:3714–3721 .
<https://doi.org/10.1039/C6AN00178E>
251. Drees C, Schütz A, Niu G, Franzke J, Vautz W, Brandt S (2020) Stepwise optimization of a Flexible Microtube Plasma (F μ TP) as an ionization source for Ion Mobility Spectrometry. Elsevier B.V.
252. Knodel A, Marggraf U, Hoffmann-Posorske E, Burhenn S, Brandt S, Ahlmann N, Foest D, Lorenz K, Franzke J (2022) Pulsed Blue Laser Diode Thermal Desorption Microplasma Imaging Mass Spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom* 33:45–53 .
<https://doi.org/10.1021/jasms.1c00221>
253. Knodel A, Marggraf U, Ahlmann N, Brandt S, Foest D, Gilbert-López B, Franzke J (2020) Standardization of Sandwich-Structured Cu–Glass Substrates Embedded in a Flexible Diode Laser–Plasma Interface for the Detection of Cholesterol. *Anal Chem* 92:4663–4671 .
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c00311>
254. Gilbert-López B, Schilling M, Ahlmann N, Michels A, Hayen H, Molina-Díaz A, García-Reyes JF, Franzke J (2013) Ambient Diode Laser Desorption Dielectric Barrier Discharge Ionization Mass Spectrometry of Nonvolatile Chemicals. *Anal Chem* 85:3174–3182 .
<https://doi.org/10.1021/ac303452w>
255. Knodel A, Foest D, Brandt S, Ahlmann N, Marggraf U, Gilbert-López B, Franzke J (2020) Detection and Evaluation of Lipid Classes and Other Hydrophobic Compounds Using a Laser Desorption/Plasma Ionization Interface. *Anal Chem* 92:15212–15220 .
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c03839>

OBJETIVOS

IV. Objetivos

El objetivo principal de la presente Tesis Doctoral es el estudio de fuentes de ionización basadas en *DBD*, y su aplicación a LC-MS, con especial atención al análisis de compuestos que no son fácilmente ionizables mediante fuentes de ionización convencionales, como son ESI y/o APCI. El grupo de investigación en el que se ha desarrollado esta Tesis Doctoral, en el marco del proyecto PID2019-107691RB-I00 financiado por la Agencia Estatal de Investigación, ha trabajado en líneas afines evaluando diferentes características de las fuentes basadas en DBD y el desarrollo de metodologías aplicadas a muestras reales de interés.

Este objetivo general ha sido acometido a través de una serie de objetivos parciales que se enumeran a continuación:

- 1) Profundizar en el entendimiento de los mecanismos fundamentales de ionización, en polaridad positiva y negativa, asociados a las fuentes de ionización basadas en el principio *DBD*. La finalidad de este objetivo es entender la capacidad de ionización de las fuentes *DBDI* para su mejor aplicación utilizando los hidrocarburos policíclicos aromáticos como sistema de evaluación.
- 2) Examinar el potencial de la fuente *DBDI* como fuente de ionización en LC-MS para el análisis de lípidos neutros como los glicerolípidos. Este tipo de compuestos son un reto para su análisis mediante ESI y su determinación es de gran importancia en campos como la biología o la alimentación. En este objetivo se evaluó la capacidad del acoplamiento LC-*DBDI*-MS para el análisis de este tipo de compuestos, comparándose su eficiencia con fuentes comerciales como APCI y demostrando la aplicabilidad del método para el análisis de muestras reales de carácter arqueológico.
- 3) Evaluar la ionización y determinación, mediante fuentes *DBD* en LC-HRMS, de plaguicidas de difícil ionización por fuentes comerciales, como las ftalimidas. Para este fin, se desarrollaron métodos analíticos utilizando dos fuentes de ionización, *DBDI* y $F\mu TP$, y sus resultados se compararon con la fuente de ionización comercial basada en plasma, APCI. Asimismo, se ha desarrollado la aplicación de un método analítico para este tipo de analitos en muestras reales de origen alimentario.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V. Resultados y discusión

En este apartado se presentan y discuten los resultados obtenidos como fruto de las investigaciones realizadas en el transcurso de la Tesis Doctoral, que se presenta por la modalidad compendio de artículos, según establece la normativa para la defensa de tesis doctorales de la Universidad de Jaén.

Cada capítulo se corresponde con uno de los objetivos parciales o específicos de la Tesis, y se inicia con un resumen del trabajo que engloba su hipótesis de partida y los principales resultados obtenidos. A continuación, se presenta el trabajo desarrollado en inglés, incluyendo las principales conclusiones extraídas del mismo. Al final de cada capítulo se incluye su propio apartado de referencias bibliográficas.

V.1. Mecanismos de ionización en descarga de barrera dieléctrica: hidrocarburos policíclicos aromáticos como caso de estudio.

Artículo publicado:

Título:

Dielectric Barrier Discharge Ionization Mechanisms: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons as a Case of Study

Autores:

Marcos Bouza^{1*}, Julio García-Martínez¹, Bienvenida Gilbert-López¹, Sebastian Brandt², Juan F. García-Reyes¹, Antonio Molina-Díaz¹, and Joachim Franzke^{2*}

1. Analytical Chemistry Research Group, Department of Physical and Analytical Chemistry, University of Jaén, Campues Las Lagunillas, 23071, Jaén, Spain

2. ISAS-Leibniz Institut für Analytische Wissenschaften, Bunsen-Kirchhoff-Str. 11, 44139, Dortmund, Germany

* Corresponding author

The logo for 'analytical chemistry' features the word 'analytical' in a blue, sans-serif font, with the word 'chemistry' in a red, sans-serif font positioned directly below it. The letters 'a' and 'c' in 'chemistry' are slightly larger and overlap with the 'n' and 'l' in 'analytical' respectively.

Referencia:

Anal Chem 2023, 95, 854-861; DOI: [10.1021/acs.analchem.2c03279](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c03279)

Índice de calidad de la revista:

JCR Science edition (2023). Índice de impacto: 6.7

Categoría: Analytical Chemistry. Ranking dentro de la categoría: 6/106 (Q1)

Este artículo fue publicado en enero de 2023 en la modalidad *Open Access*, gracias a la financiación para la publicación en abierto del Consorcio de Bibliotecas Universitarias de Andalucía (CBUA).

V.1.1. Resumen

La ionización de descarga de barrera dieléctrica (DBDI) representa una fuente de ionización con gran versatilidad para su aplicación acoplada con MS, demostrándose previamente en el grupo de investigación en el que se ha desarrollado la presente Tesis Doctoral su potencial para el análisis de un amplio espectro de moléculas. Sin embargo, los mecanismos de ionización asociados a las interacciones entre el plasma y las moléculas en fase gaseosa son muy complejos y apenas se han investigado. Durante un largo período de tiempo se ha asumido los mecanismos de ionización de APCI como universales para todo tipo de plasmas. En este primer capítulo se han evaluado los mecanismos de ionización de una fuente de ionización DBDI de dos anillos utilizando los PAHs como analitos modelo. Estos compuestos tienen la peculiaridad de promover la formación de iones protonados, $[M+H]^+$, o iones radicales, $[M]^+$, en función de las características del medio de ionización. En este trabajo, se observaron dos tendencias de ionización para APCI y DBDI durante el análisis de PAHs; los compuestos con afinidad protónica (PA) por encima de 856 kJ/mol fueron detectados como $[M+H]^+$ cuando se utilizó APCI como fuente de ionización. Por otro lado, independientemente de la PA, DBDI mostró su predilección por las reacciones de intercambio de carga. La adición de dopantes en fase gaseosa provocó un desplazamiento de los mecanismos de ionización hacia reacciones de intercambio de carga, favoreciendo la formación de iones $[M]^+$ y mostrando que el anisol provoca un aumento significativo en las señales de especies radicales de PAHs, siendo alrededor de nueve veces superior en el análisis con DBDI empleando como gas de descarga una mezcla de Argon-propano (Ar-Prop-DBDI), uno de los gases de descarga propuestos junto con He. La presencia de átomos metaestables de alta energía (*p.ej.*, He^M) con altos potenciales de ionización (IE= 19.80 eV) no mostró una mayor abundancia de los PAHs ni una fragmentación excesiva de las moléculas. Además, otras especies en la región del *plasma jet* con IE más cercanas y apropiadas, como las moléculas excitadas $N_2 B^3\Pi_g$, son probablemente las responsables de producir la ionización tipo *Penning* de los PAHs.

V.2. Cromatografía líquida – espectrometría de masas con ionización de descarga de barrera dieléctrica para el análisis de lípidos neutros de interés arqueológico.

Artículo publicado:

Título:

Liquid chromatography-dielectric barrier discharge ionization mass spectrometry for the analysis of neutral lipids of archaeological interest

Autores:

Marcos Bouza^{1*}, Julio García-Martínez¹, Bienvenida Gilbert-López^{1,2}, David Moreno-González¹, Priscilla Rocío-Bautista¹, David Parras-Guijarro³, Alberto Sánchez-Vizcaíno³, Sebastian Brandt⁴, Juan F. García-Reyes^{1,2,3}, Antonio Molina-Díaz^{1,2}, and Joachim Franzke^{4*}

1. Department of Physical and Analytical Chemistry, Analytical Chemistry Research Group, University of Jaén, Campus Las Lagunillas, Jaén, Spain

2. University Research Institute for Olives Grove and Olive Oil, University of Jaén, Campus Las Lagunillas, Jaén, Spain

3. University Research Institute for Iberian Archaeology, University of Jaén, Campus Las Lagunillas, Jaén, Spain

4. ISAS-Leibniz Institut für Analytische Wissenschaften, Dortmund, Germany

* Corresponding author



Referencia:

J Sep Sci 2022; 45:3105-3114; DOI: [10.1002/jssc.202200402](https://doi.org/10.1002/jssc.202200402)

Índice de calidad de la revista:

JCR Science edition (2022). Índice de impacto: 3.1

Categoría: Analytical Chemistry. Ranking dentro de la categoría: 35/86 (Q2)

Este artículo fue publicado en julio de 2022 en la modalidad *Open Access*, gracias a la financiación para la publicación en abierto del Consorcio de Bibliotecas Universitarias de Andalucía (CBUA).

V.2.1. Resumen

La constante evolución metodológica e instrumental en MS ha ayudado a implementar la capacidad de análisis e identificación en campos como la metabolómica y la lipidómica, siendo la investigación en fuentes de ionización es una de las claves. Uno de los desafíos en MS es el análisis de lípidos neutros como los glicerolípidos o los esteroides, necesitando de estrategias de derivatización y/o aditivos especiales para poder llevar a cabo su análisis mediante ESI-MS.

La fuente de ionización convencional alternativa para el análisis de lípidos neutros es APCI. Las fuentes de ionización basadas en plasma comparten el mecanismo de ionización, con ciertas modificaciones, con APCI, pero ofrecen ciertas ventajas asociadas inherentemente a su diseño y funcionamiento. La fuente de ionización DBDI ha ganado notoriedad en los últimos años dada su versatilidad y el amplio rango de moléculas que pueden ser ionizadas. En este trabajo, se ha evaluado el acoplamiento de LC-DBDI-MS para el análisis de lípidos neutros. Para la optimización del método y evaluación del comportamiento de la fuente de ionización se seleccionaron un conjunto de subclases de lípidos (triacilglicéridos, diacilglicéridos y esteroides). Las principales especies detectadas con esta fuente de ionización fueron $[M-H_2O+H]^+$, $[M+H]^+$ o $[M-R-H_2O+H]^+$, atribuidas a la deshidratación de esteroides, protonación o la fragmentación de una cadena acílica acompañada de la pérdida de una molécula de agua en los glicerilolípidos, respectivamente. En términos de sensibilidad, la fuente DBDI mostró mayores abundancias y límites de cuantificación iguales o mejores que los obtenidos mediante APCI para glicerolípidos y esteroides. Como caso de estudio, se analizaron diferentes muestras arqueológicas con contenidos variables de lípidos neutros, especialmente triacilglicéridos. La identificación se llevó a cabo empleando masa exacta y la fórmula preliminar asociada a esta, la coincidencia de tiempos de retención con estándares analíticos, e información estructural adicional obtenida de la fragmentación producida en la fuente. El alto grado de insaturación y la presencia de esteroides mostraron el potencial origen vegetal del material almacenado en las muestras analizadas.

V.3. Cromatografía líquida – espectrometría de masas con ionización de descarga de barrera dieléctrica para el análisis de plaguicidas que no son fácilmente ionizables por electrospray.

Artículo publicado:

Título:

Miniaturized flexible micro-tube plasma ionization source for the effective ionization of non-easily ionizable pesticides in food with liquid chromatography/mass spectrometry

Autores:

Julio García-Martínez^{1,2}, Irene Caño-Carrillo^{1,2}, Bienvenida Gilbert-López^{1,2}, Marcos Bouza¹, Miriam Beneito-Cambra¹, Joachim Franzke³, Antonio Molina-Díaz^{1,2}, Juan F. García-Reyes^{1,2,*}

1. University of Jaén, Analytical Chemistry Research Group (FQM-323), Campus Las Lagunillas, Edif. B3, 23071, Jaén, Spain

2. University Research Institute for Olives Grove and Olive Oil, University of Jaén, Campus Las Lagunillas, 23071, Jaén, Spain

3. Leibniz Institut für Analytische Wissenschaften -ISAS- e.V, Dortmund, Germany

* Corresponding author



Referencia:

Talanta, 274, 126011; DOI: [10.1016/j.talanta.2024.126011](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.126011)

Índice de calidad de la revista:

JCR Science edition (2023). Índice de impacto: 5.6

Categoría: Analytical Chemistry. Ranking dentro de la categoría: 12/106 (Q1)

Este artículo fue publicado en marzo de 2024 en la modalidad *Open Access*, gracias a la financiación para la publicación en abierto del Consorcio de Bibliotecas Universitarias de Andalucía (CBUA).

V.3.1. Resumen

Existe un grupo de pesticidas que presentan dificultades durante su análisis mediante ESI-MS pero que también pueden sufrir degradación térmica dificultando su análisis mediante métodos que utilicen GC. Una de las alternativas para su análisis mediante LC-MS es el uso de APCI como fuente de ionización. La capacidad de las fuentes de ionización basadas en DBD representan una alternativa con gran potencial dada su demostrada capacidad para el análisis de pesticidas tradicionalmente detectados utilizando GC.

En este artículo, se ha estudiado el potencial del plasma de microtubo flexible (F μ TP) como fuente de ionización en LC-MS de alta resolución para la detección de plaguicidas difíciles de ionizar, es decir, no polares y no ionizables por fracciones ácido/base. Se evaluaron compuestos de la familia de las ftalimidias como dicofol, dinocap, o-fenilfenol, captan, captafol, folpet y sus metabolitos. El comportamiento de la fuente F μ TP se ha comparado con la fuente DBD tradicional con configuración de dos anillos, DBDI. Se observaron distintos mecanismos de ionización para estos compuestos, difíciles de ionizar, que implican sustituciones nucleofílicas y sustracción de protones, con diferencias sustanciales en los espectros obtenidos en comparación con APCI. Se logró un incremento de cinco veces en la sensibilidad comparado con la fuente APCI estándar. Además, se ha observado una mayor tolerancia para el efecto matriz en ambas fuentes DBD. La importancia de los resultados mostrados no se limita únicamente a una mejora en la sensibilidad en comparación con APCI, sino, más crucial, la capacidad de ionizar eficazmente compuestos no polares, de elución tardía (en cromatografía de fase reversa) y no ionizables. Además del o-fenilfenol, ([M-H]⁻), el resto de compuestos fueron eficazmente ionizados mediante mecanismos que implican la rotura de enlaces causado por el efecto de especies reactivas en el plasma o su combinación con la degradación térmica y posterior ionización. La herramienta desarrollada puede ser empleada para descubrir compuestos no polares en diversas muestras ambientales de interés social a través de estrategias de detección no específicas (*non-target screening, NTS*).

CONCLUSIONES

VI. Conclusiones

En la presente Tesis Doctoral, se ha estudiado la utilización de nuevas fuentes de ionización basadas en DBD para su acoplamiento con cromatografía líquida/espectrometría de masas de alta resolución. Las principales conclusiones derivadas de este trabajo pueden resumirse como sigue:

- 1) Las fuentes basadas en DBD han mostrado un mecanismo de ionización sustancialmente diferente al observado en la fuente de ionización convencional basada en plasma, APCI. Las diferencias se observaron tanto para especies protonadas como radicales analizadas bajo las mismas condiciones. La fuente de APCI, como se esperaba, depende de las reacciones con N_2 y de la composición del disolvente para controlar los mecanismos de ionización, algo que en la fuente DBDI apenas presenta importancia. En el caso de DBDI, la ionización se ve influenciada por el gas de descarga y la atmósfera en la que se desarrolla la ionización.

Los resultados de este trabajo mostraron una mayor propensión a las reacciones de intercambio de carga para formar iones radicales en el caso de DBDI, y sugieren la presencia de reacciones secundarias involucradas en la ionización.

- 2) Se ha desarrollado la primera aplicación para el análisis de lípidos neutros utilizando DBDI como fuente de ionización mostrando las mismas capacidades o mejorando a fuentes de ionización convencionales. Parámetros no específicos de las fuentes de ionización como la presión/caudal del gas de secado o la temperatura de vaporización son de gran importancia para mantener la integridad estructural de glicerolípidos y esteroides evaluados, además de permitir una mayor información estructural sin la necesidad de emplear MS/MS. Las rectas de calibración mostraron mejores sensibilidades para la fuente DBDI que para APCI. El potencial del método desarrollado se evaluó utilizando muestras arqueológicas. Este trabajo puede sentar un precedente en el desarrollo de futuras investigaciones en el campo de la lipidómica, evaluando distintos analitos en muestras complejas y en diversos rangos de polaridad.

- 3) Se ha demostrado el gran potencial del acoplamiento LC-F μ TP-MS para análisis dirigidos y no dirigidos. La importancia de los resultados no solo se ciñe a la mejora en sensibilidad con respecto a la fuente de ionización comercial, APCI, sino también a la capacidad de ionizar compuestos poco polares que eluyen tarde durante análisis cromatográficos. La mayoría de los compuestos estudiados (entre ellos, plaguicidas como las ftalimidias)

fueron ionizados de manera efectiva a través de mecanismos basados en rupturas de enlaces relacionadas con las especies reactivas del plasma o la combinación de la degradación térmica durante la vaporización sumada a la ionización. El desarrollo de este acoplamiento puede permitir nuevas estrategias de análisis no dirigido donde se detecten estos compuestos, muchas veces obviados, en muestras medioambientales. Se le ha de sumar la tolerancia a la detección en presencia de matrices complejas manteniendo la flexibilidad y efectividad de ionización para una mayor cobertura de polaridad de los analitos. Los análisis en modo negativo utilizando LC-F μ TP-MS pueden ayudar a desarrollar nuevos métodos efectivos para el análisis de compuestos per- y poli-fluoradas, de gran importancia en la actualidad.