



UNIVERSIDAD DE JAÉN

Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

Medida de la masa del electrón mediante espectrometría de masas

Alumno: Antonio José Olmo Guerrero

Julio, 2018



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

GRADO EN QUÍMICA
Trabajo Fin de Grado

**DETERMINACIÓN DE LA
MASA DEL ELECTRÓN
MEDIANTE
ESPECTROMETRÍA DE
MASAS**

Trabajo Fin de Grado

presentado por: Antonio José Olmo Guerrero

Jaén, Julio de 2017

Fdo: Antonio José Olmo Guerrero

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	2
1.1 El electrón	2
1.2 Historia del descubrimiento y caracterización de las propiedades del electrón...3	
1.2.1 <i>Los tubos de descarga y los rayos catódicos.</i>	3
1.3 Los experimentos de J.J. Thomson.....	6
1.4 Los experimentos de R. A. Millikan.	10
1.5 Desde el descubrimiento de Millikan hasta la actualidad.....	14
 2. ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE ALTA RESOLUCIÓN	15
2.1 Introducción de muestra y sistemas de introducción de muestra.....	19
2.2 Ionización de la muestra y sistemas de ionización.	20
2.3 Separación de los iones y fragmentación.....	21
2.4 Detectores	24
 3. EXPERIMENTAL	25
3.1 Materiales y reactivos	25
3.2 Instrumentación	25
3.3 Calibración de los espectrómetros de masas de alta resolución.	28
3.4. Procedimiento para la medida de las masas exactas de los fragmentos de interés para la medida de la masa del electrón	30
 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	32
4.1 Fragmentación de los fármacos estudiados empleando LC-TOFMS y Orbitrap.	32
4.2. Determinación de la masa del electrón empleando espectrometría de masas de alta resolución.....	33
4.3 Discusión de los resultados.....	41
 5. CONCLUSIONES	46
 6. BIBLIOGRAFÍA	46

RESUMEN

La masa del electrón ha sido estudiada por diversos científicos. En este trabajo de fin de grado se ha empleado la espectrometría de masas de alta resolución como método experimental para medir la masa del electrón. En concreto, nos basamos en la formación de los llamados iones gemelos. Estos iones, que se forman en algunos fármacos como el ibuprofeno, diclofenaco, naproxeno o ketoprofeno, poseen la peculiaridad de presentar la misma composición elemental y masa nominal al ionizarse tanto en modo positivo como negativo, lo que los lleva a diferenciarse en sus masas experimentales en dos electrones. Para ello emplearemos dos analizadores Orbitrap y tiempo de vuelo, permitiendo la medida de esta diferencia y por tanto, la medida experimental de la masa del electrón. Los resultados se discuten en base a la resolución de los equipos usados y la importancia de llevar a cabo una calibración de masas de los mismos.

ABSTRACT

The mass of the electron has been studied by various scientists. In this end-of-degree project, high-resolution mass spectrometry has been used as an experimental method to measure the mass of the electron. In particular, we rely on the formation of the so-called twin ions. These ions, which are formed in some drugs such as ibuprofen, diclofenac, naproxen or ketoprofen, have the peculiarity of presenting the same elemental composition and nominal mass when ionised in both positive and negative modes, which leads them to differentiate in their experimental masses in two electrons. For this we will use two Orbitrap analyzers and flight time, allowing the measurement of this difference and, therefore, the experimental measurement of the electron mass. The results are discussed based on the resolution of the equipment used and the importance of carrying out a mass calibration of the same.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 El electrón

Las partículas que constituyen el universo pueden dividirse en dos grupos: fermiones y bosones. Los primeros (llamados así en honor a Enrico Fermi) se caracterizan por tener espín semi-entero y por seguir el principio de exclusión de Pauli. Dicho principio recoge que dos fermiones no pueden ocupar el mismo estado cuántico.

Los bloques fundamentales del Universo observable: electrones (con espín $\pm 1/2$), protones y neutrones; son fermiones. A diferencia de los dos últimos, los electrones son partículas fundamentales, es decir, no están formados por otras subpartículas. Los fermiones se agrupan a su vez, según se vean afectados o no por la interacción nuclear fuerte, en dos categorías: quarks y leptones, respectivamente. Los electrones se encuadran en la segunda categoría [Lieser, Heinrich, 1996]. Además, electrón, neutrón y protón son las partículas a partir de las cuales se construye el universo observable, que supone un 4,95% del total; siendo el resto un 26.8% de materia oscura y un 68.3% de energía oscura.

Los electrones son fundamentales en el enlace químico y en la reactividad de las moléculas, pudiendo afirmarse que la estructura atómica de la materia y su dinámica están profundamente determinadas por propiedades intrínsecas del electrón como son su carga o su masa. La carga eléctrica que presenta un electrón es de $1.602 \cdot 10^{-19}$ C y se fija como negativa, en contraposición a la carga positiva del protón. En cuanto a su masa, los electrones son cuatro órdenes de magnitud más ligeros que los protones y neutrones. El valor de la masa del electrón (m_e) está estrechamente relacionado con ciertas constantes físicas, como la constante de Rydberg [Cohen, 1952].

$$R_{\infty} = \frac{m_e e^4}{8 \epsilon_0^2 h^3 c} = 1,09737 \cdot 10^7 m^{-1} \quad (1)$$

e : Unidad de carga elemental.

ϵ_0 : Permitividad del vacío.

h : Constante de Planck.

c : La velocidad de propagación de las ondas electromagnéticas en el vacío.

La masa del electrón es también una cantidad esencial para la electrodinámica cuántica (QED), que es la teoría cuántica del campo electromagnético. Esta disciplina, que la Enciclopedia Británica define como una teoría relativista, se encarga del estudio de las interacciones de las partículas cargadas con el campo electromagnético.

1.2 Historia del descubrimiento y caracterización de las propiedades del electrón.

La importancia del electrón ha motivado que la caracterización de sus propiedades y, específicamente, la búsqueda de un valor preciso y universalmente aceptado para su masa haya sido objeto de un continuo esfuerzo desde principios del siglo XX. No en vano, el descubrimiento y posterior estudio y caracterización de las propiedades físicas del electrón, incluida su masa, valieron la concesión de dos premios Nobel de Física. El primero fue para J. J. Thomson en 1906, *“como reconocimiento al gran mérito de sus investigaciones teóricas y experimentales en la conducción de la electricidad generada por los gases”*. [Thomson, 2014].

Años más tarde, en 1923, le fue concedido a R. A. Millikan, primordialmente *“por sus trabajos para determinar el valor de la carga del electrón y el efecto fotoeléctrico”* [Millikan, 2014].

Para realizar un recorrido histórico por los distintos experimentos que cronológicamente se han dedicado a la determinación de la masa del electrón, hay que remontarse a mediados del siglo XIX.

1.2.1 Los tubos de descarga y los rayos catódicos.



Figura 1.1. Tubo de descarga de Crookes con cruz de malta.
[Figueroa-fagadini, 2017].

Uno de los experimentos cruciales que condujo a la determinación de la masa del electrón fue el del tubo de descarga, que posteriormente se conoció como tubo de rayos catódicos. En 1791, Michael Faraday, construyó el primer CTR (cathode rays tube) para estudiar la conductividad eléctrica en gases, al hacer pasar la electricidad a través de tubos de vidrio sometidos a vacío, en cuyos extremos había un par de electrodos, observando un arco de luz dentro del tubo. Sin embargo, no pudo observar nada más debido a que no disponía de bombas con las que realizar un buen vacío.

En 1857, H. Greisser diseñó los primeros tubos de vidrio con un gran vacío. Al colocarle un par de electrodos en sus extremos, observó una extraña luz emitida dentro del tubo, aparentemente debida al poco gas que había en su interior [Dahl, 1997].

Años más tarde, W. Crookes desarrolló un nuevo tubo de descarga ayudado por una bomba de vacío mucho más potente que el estudio anterior de Greisser. Observó cómo el brillo fluorescente que se observaba era más intenso al desalojar el aire. Este brillo se concentraba en el cátodo y se propagaba de manera rectilínea hacia el ánodo.

Poco después, los científicos de la época empezaron a fabricar tubos de descarga con ciertas modificaciones. En 1869, J. Plucker construyó un nuevo tubo de descarga (Figura 1.1) que contenía una pieza de cruz de malta y en el extremo del vidrio estaba recubierto de un material fluorescente. Pudo observar

que dichos rayos al chocar con la pieza formaban una sombra en el interior del tubo en forma de cruz de Malta, además observó que al acercar un imán al ánodo la posición de la imagen podía ser modificada [Dahl, 1997]. A raíz de dichas observaciones, una de las primeras hipótesis sobre la naturaleza de estos rayos fue desarrollada por W. Crookes, que postuló que dichos rayos estaban formados por partículas cargadas negativamente, lo que justifica la sombra formada en el extremo del tubo [Dahl, 1997].

En 1876, E. Goldstein nombró a estos rayos como “rayos catódicos” ya que se generaban en el cátodo. Además, demostró que no dependen del material de los electrodos. En 1895, J.B. Perrin observó que los rayos catódicos depositaban carga en un electroscoipo (aparato que sirve para conocer si un cuerpo está electrizado y permite, en caso afirmativo, determinar su signo, afirmando pues que se trataba de partículas cargadas [Esteban, 2016] [Dahl, 1997].

En la misma época, H. Hertz y su alumno P. Lenard estudiaban los rayos catódicos sosteniendo la hipótesis de que se trataba de ondas electromagnéticas. Para comprobarlo, intentaron sacar los rayos del tubo de descarga. En un primer experimento diseñó un tubo de descarga de cuarzo, pero este detenía los rayos al igual que el vidrio.

En 1892 tras descubrir que podían atravesar el metal sí eran lo suficientemente fino, P. Lenard comenzó a construir tubos de descarga con metales cada vez más delgados hasta que consiguió una ventana de aluminio. En el tubo de descarga hizo un pequeño agujero en el extremo y lo recubrió con varias capas de metal muy finas. Al poner unas sales de fósforo frente al aluminio, (fuera del tubo) las sales brillaron fluorescentemente. Siguió experimentando con estos rayos comprobando así que, cuanto más densa era la sustancia que tenían que atravesar los rayos, más se absorbían y más dificultad tenían estos para atravesarla. Algo que hacía dudar su hipótesis. Sin embargo, comprobó que cuanto mejor era el vacío en la habitación donde llevaba a cabo el experimento, mejor se transmitían los rayos reforzando, así, la idea de que dichos rayos se trataban de “vibraciones del éter”. En su último experimento también desvió los rayos con un imán, por lo que sugirió que se trataba de electricidad sin masa. En definitiva, P. Lenard pudo confirmar que los rayos provenían del cátodo, que su aparición no dependía del material de éste y que su brillo dependía de la presión

del gas del interior del tubo. P. Lenard recibió el Premio Nobel en 1905 *“por su trabajo con los rayos catódicos”* [Lenard, 2014] [Homme, 1996].

1.3 Los experimentos de J.J. Thomson.

Toda esta controversia acerca de la naturaleza corpuscular y ondulatoria de los rayos catódicos no fue resuelta hasta los hallazgos de J.J. Thomson que, en 1896, repitió los experimentos de W. Crookes mejorando el tubo de descarga, de tal forma que consiguió un vacío mayor. Además, enfrentó cátodo y ánodo e hizo una pequeña abertura en el ánodo para que el haz pasara a través de él. En un primer experimento, J.J Thomson construyó un tubo de rayos catódicos en cuyos extremos tenía dos ranuras y estaba conectado a un electrómetro (aparato para medir cargas eléctricas emitidas por un cuerpo). A su vez, el tubo estaba sujeto a un campo magnético ejercido por dos placas metálicas dispuestas a mitad de este, en un intento de desviar los rayos magnéticamente. Para ello aplicó un ligero voltaje y estableció un campo magnético a través de dichas placas con la ayuda de un imán observando que al pasar el rayo a través de ellas se desviaba de su dirección rectilínea original (se alejaban de la placa cargada negativamente a la cargada positivamente). Comprobó que al desviarlos se registraba poca carga en el electrómetro, deduciendo que los rayos y la carga negativa eran inseparables [Berry, Rice, Ross, 2001].

En el segundo experimento, J.J Thomson quería comprobar si los rayos también se desviaban por aplicación de un campo eléctrico, algo que nadie había comprobado. Para ello, construyó un nuevo tubo (Figura 1.2) mejorando el vacío y recubriendo extremo el ánodo con pintura fluorescente, de forma que se iluminaba al impactar los rayos, observando que también se desviaban.

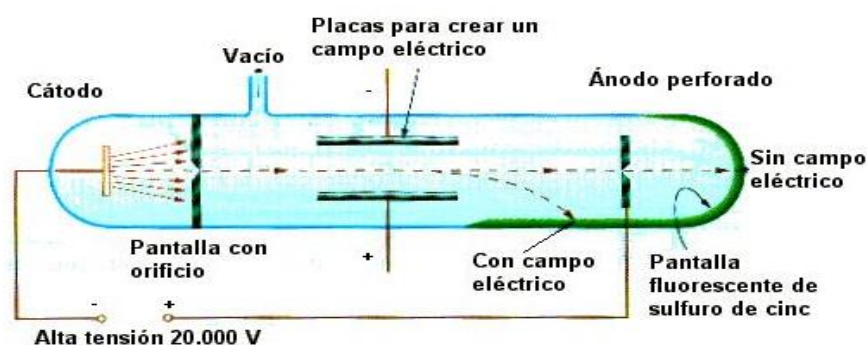


Figura 1.2. Tubo de rayos catódicos empleado por J.J. Thomson para observar la desviación del haz de rayos catódicos por efecto de un campo eléctrico [Uribe-Mejía, 2011].

Con estos dos experimentos pudo concluir que los rayos catódicos estaban formados por lo que él llamo “corpúsculos” que procedían del interior de los átomos de los electrodos. De ahí dedujo que el átomo era divisible y con esta idea elaboró su modelo atómico “el pudin de pasas”.

En su tercer experimento quiso emplear lo observado en sus experimentos anteriores para poder medir la relación carga masa del electrón. Para ello construyó un nuevo tubo con un vacío casi perfecto en el que dispuso dos placas metálicas cargadas eléctricamente una positiva y otra negativamente, un imán y un electrómetro, tal como se muestra en la Figura 1.3.

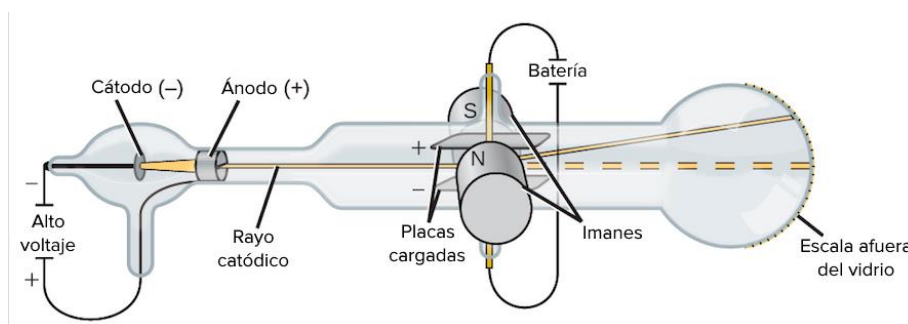


Figura 1.3. Tubo de rayos catódicos empleado por J.J.Thomson para determinar la velocidad de la partícula [hewlett, 2018].

La idea de J.J. Thomson era que si se compensaba un campo con el otro se igualarían la fuerza eléctrica y magnética, podría determinarse la velocidad del corpúsculo e indirectamente la relación entre su carga y su masa. Para ello desvió el rayo mediante un campo magnético y seguidamente por modulaciones de la intensidad de campo eléctrico centró el haz en el centro de la cobertura fluorescente del interior del tubo, considerándose entonces que ambas fuerzas (magnética y eléctrica) se igualaban, por lo que la velocidad de la partícula (v_0) vendría determinada por:

$$V = \frac{E}{B} \quad (2)$$

E : Campo eléctrico.

B: Campo magnético.

Una vez determinada su velocidad y aplicando sólo el campo eléctrico pudo hallar la relación carga/masa del electrón, siguiendo una metodología que se sienta las bases de la espectrometría de masas. Cuando se aplica campo, la partícula está sometida a la fuerza eléctrica ejercida por las placas metálicas y mientras las atraviesa sigue un movimiento curvilíneo uniformemente acelerado (Figura 1.4) [Berry, Rice, Ross, 2001].

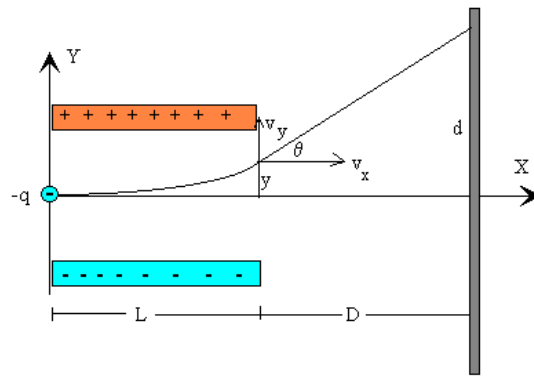


Figura 1.4. Trayectoria seguida por la partícula al pasar por el condensador y después de salir del haz hacia la pantalla [Franco-García, 20002].

Las ecuaciones del movimiento para la partícula en la dirección X, paralela al desplazamiento del electrón en el campo serán:

$$a_x = 0 ; v_x = v_0 ; x = v_0 t \quad (3)$$

y perpendicular a la dirección del campo eléctrico en el eje y:

$$a_y = \frac{qE}{m} ; v_y = a_y t ; y = \frac{1}{2} a_y t^2 \quad (4)$$

Por tanto, sí:

$$t = \frac{L}{v_0} \quad (5)$$

donde L es la longitud del condensador (de las placas metálicas), la desviación vertical que sufre la partícula (y) por la acción del campo (Figura 1.7) vendrá dada por:

$$y = \frac{1}{2} \frac{q}{m} E \frac{L^2}{v_o^2} \quad (6)$$

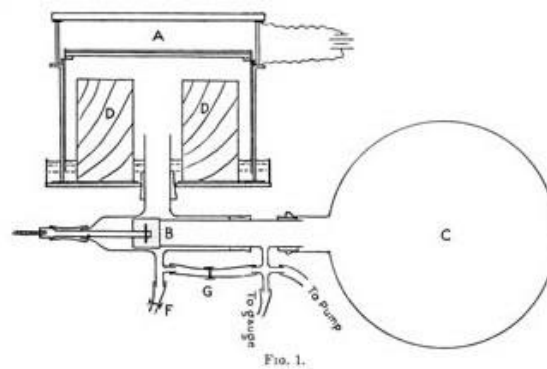
Después, al salir del condensador, la partícula sigue un movimiento rectilíneo uniforme hasta que impacta en la pantalla. La desviación total de la partícula hasta que impacta en la pantalla, d en la Figura 8, viene determinada por:

$$d = y + \frac{v_y}{v_x} D = \frac{q}{m} E \frac{L}{v_o^2} \left(\frac{L}{2} + D \right) \quad (7)$$

[Tipler, 2009]

donde v_x y v_y son las componentes de la velocidad de la partícula en ambas direcciones, y D la distancia desde las placas metálicas a la pared. A partir de la expresión (7), J.J. Thomson obtuvo que la relación carga/masa para los portadores de la carga $1.758820 \cdot 10^{11}$ C/Kg, era mil veces superior a aquella conocida para el ion hidrógeno por lo que o esta partícula era muy ligera o su carga era muy elevada.

Finalmente, con el descubrimiento de los rayos X por Roentgen en 1895, J.J. Thomson propuso a H.A. Wilson estudiar esos rayos en medios supersaturados con su cámara de niebla en 1899. Dicha cámara, que se muestra en la Figura 1.5, consiste en un recipiente herméticamente sellado en cuyo interior hay una mezcla de vapor de alcohol y aire. El fondo de la cámara se mantiene a bajas temperaturas con CO₂ sólido. De tal forma que, al contactar el alcohol con el fondo del recipiente, se forma una capa de vapor de alcohol por debajo de su temperatura de condensación en un estado tan inestable que cualquier perturbación hace que se formen gotas de alcohol líquido. El paso de cualquier partícula cargada con energía suficiente para atravesar la cámara da lugar a la formación de iones que actúan como núcleos de condensación sobre los que crecen las gotas de alcohol, formándose así estelas de niebla [Andrade, Martínez, 1993]. Este dispositivo fue utilizado para descubrir la primera partícula de masa intermedia: el muon. Además, le otorgó a H.A Wilson el premio nobel en 1927 por su método de hacer visibles las rutas de partículas cargadas eléctricamente por condensación de vapor [Wilson, 2014].



A diagram of Wilson's apparatus. The cylindrical cloud chamber ('A') is 16.5cm across by 3.4cm deep.

Figura 1.5. Cámara de niebla empleada por Thomson y H.A. Wilson para determinar la carga del electrón [Troncoso-Iribarren, 2015].

Con esta idea, J.J. Thomson, H.A Wilson y Townsend, decidieron por separado medir la masa de la gota que se formaba alrededor de cada ion. Este tipo de ionización se podía asociar con la pérdida de un electrón por parte de la molécula, por lo cual, pudieron determinar la carga del electrón.

J.J Thomson y su alumno Townsend utilizaron la electrólisis para producir iones gaseosos cargados que formaban una nube cuando se hacía pasar por agua. Así, medía la masa de la nube por variación en el peso de los tubos de secado; la carga total la medía a través de un electrómetro, pudiendo determinar el radio medio de la gota de agua observando la velocidad de caída de la nube debido a la gravedad. A.H. Wilson produjo nubes entre las placas de un condensador y midió la velocidad de caída de las gotas cuando actuaba la gravedad y cuando además de la gravedad, actuaba el campo eléctrico. Obtuvieron un valor para la carga de 1.6021×10^{-19} coulomb, aunque sus medidas se vieron con cierta desconfianza [Tipler, 2009] [Thomson, 1897].

1.4 Los experimentos de R. A. Millikan.

Con la idea tomada por J.J. Thomson de medir experimentalmente la carga del electrón con la cámara de niebla de H. Wilson, R. Millikan en 1906, decidió repetir el experimento, encontrando que el método utilizado por J.J. Thomson conducía a muchos errores, por lo que encargó a su alumno H. Fletcher mejorar el método experimental.



Figura 1.6. Cámara de niebla empleada por R. Millikan [Wales, Sanger, 2018].

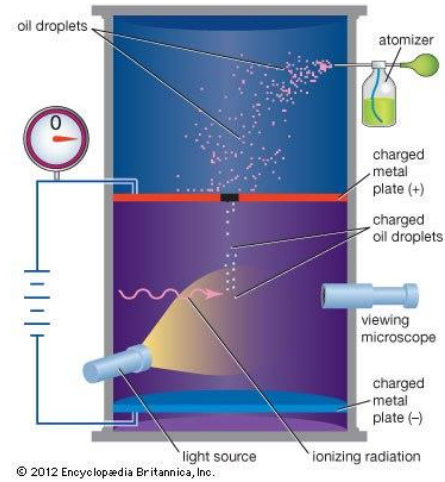


Figura 1.7, Esquema ilustrativo de la Medición de la masa del electrón con la cámara de niebla [Castaños, 2016]

En las Figuras 1.6 y 1.7 se muestra el método diseñado por H. Fletcher. Este consistía en una cámara de niebla con una abertura superior dónde se introducían gotas de aceite mediante un pulverizador. Al contacto con la niebla de Rayos x, se concluyó que estas se cargaban negativamente, siendo la carga que adquirirían siempre un múltiplo de una cantidad, que R.A. Millikan supuso que era un valor fundamental, la cual dedujo según el siguiente procedimiento. En primer lugar, midió la velocidad de caída de las gotas en la cámara en ausencia de un campo eléctrico. Por acción de la gravedad, dichas gotas caían verticalmente hacia el microscopio sometidas a su vez a una fuerza de fricción con el aire en sentido contrario [Serway, 1997].

En la ecuación (8) se igualan la fuerza de fricción, (F_F) y la fuerza peso (F_G), lo que ocurre cuando la gota alcanza su velocidad terminal:

$$F_F = F_G \quad (8)$$

La fuerza de fricción debida a la viscosidad se puede calcular a partir de la ley de Stokes y tiene la presente forma:

$$F_F = 6\pi\eta r v \quad (9)$$

siendo η la viscosidad del aceite, v la velocidad de caída de la gota, m su masa, r su radio y g la aceleración de la gravedad.

El radio de la gota puede determinarse asumiendo que las gotas son esferas perfectas a través de la expresión para la masa aparente (fuerza peso menos fuerza de impulso vertical) de las mismas:

$$F_G = \frac{4}{3}\pi r^3 g(\rho - \rho_{aire}) \quad (10)$$

igualando las expresiones 8,9 y 10.

$$r^2 = \frac{9\eta v}{2g(\rho - \rho_{aire})} \quad (11)$$

ρ : es la densidad del aceite.

Sí se aplica un campo eléctrico cuya actuación compense la fuerza de fricción y el peso, de tal manera que con ayuda del microscopio pudo observar, mediante ajuste en el voltaje, como estas gotas cargadas negativamente por la niebla de Rayos X ascendían a una nueva velocidad terminal (v_E), cuando se cumple:

$$F_E = F_G + F_F' \quad (12)$$

ya que no hay que perder de vista qué al ascender la gota, la fuerza de gravedad, F_G , y las de rozamiento, F_F' , actuarán en sentido contrario a la fuerza eléctrica, F_E . Por tanto, la velocidad ascendente de la gota en presencia de campo, v_E , viene determinada por:

$$v_E = \frac{qE - F_G}{6\pi\eta r} \quad (13)$$

Sustituyendo la expresión 10 en la 13, y teniendo en cuenta la relación 11, se despeja la carga del electrón obteniendo:

$$q = \frac{(v + v_E)6\pi\eta r}{E} \quad (14)$$

De forma que puede medirse como una gota, de masa y radio constantes, cae y asciende a unas velocidades determinadas en función de que se desactive o se active un determinado campo eléctrico; teniendo presente que estas velocidades suelen ser del orden de cm/s.

Para obtener de manera inequívoca la carga del electrón midió las cargas de 58 gotas de aceite. El valor obtenido para la carga del electrón fue de:

$$q = 1,592 \times 10^{-19} \text{ C}$$

[Peña, Muntaner, 1972]

Una vez obtenido este valor, junto con la relación masa-carga que obtuvo J.J. Thomson con los rayos catódicos (en dicho experimento solo podíamos obtener esa relación), se pudo calcular una primera masa del electrón:

$$m = 9,051 \times 10^{-31} \text{ kg}$$

[Millikan, 1911]

En la actualidad existe cierta controversia en el experimento de Millikan, ya que a pesar de que el valor que obtuvo para la carga del electrón fue muy aproximado al que hoy en día conocemos, muchos científicos tachan su experimento como un fraude debido a que al obtener los escritos de Millikan pudieron ver que en las anotaciones tomadas, no trabajó con 58 gotas si no con 175, con la salvedad de que se reportaron aquellas que se ajustaban mejor al valor que él había dado ya que muchas se alejaban bastante de dicho valor.

Otros defienden que no se trataba de un fraude, si no que su astucia e inteligencia le hizo intuir que muchas de estas gotas estaban afectadas por el movimiento browniano (movimiento aleatorio de partículas que se encuentran en un medio fluido por el choche de estas con las moléculas del fluido) y debía de introducirse correcciones en la ley de Stokes para calcular la carga.

1.5 Desde el descubrimiento de Millikan hasta la actualidad

Desde el experimento de Millikan, con el que se pudo obtener una aproximación muy buena de la masa del electrón, se han llevado a cabo varias investigaciones a lo largo de los años a modo teórico y, gracias al desarrollo de tecnologías como la espectrometría de masas en las últimas décadas, se ha podido obtener un valor de masa con mayor exactitud experimentalmente, gracias a la combinación de diferentes técnicas analíticas que explicaremos a continuación.

En 1995 llevaron a cabo la determinación la masa del electrón utilizando espectrometría de masa con trampa de iones. Para ello, midieron la frecuencia ciclotrónica del electrón y del protón utilizando iones C^{6+} y asumiendo un valor teórico de la masa del protón. Esta investigación obtuvo un valor muy preciso y sirvió de referencia para muchas investigaciones [Farnham, Van Dyck, 1995].

En 2002, se llevó a cabo la determinación del electrón utilizando espectroscopia de radiación microondas con una doble trampa de iones. La radiación microondas provoca transiciones del spin iguales a la frecuencia de precesión de Larmor, de tal manera que midiendo la frecuencia de precesión de Larmor para $^{5+}_{12}C$, pudieron determinar la masa del electrón con bastante exactitud con la novedad de utilizar una doble trampa [Beier, Haffner, 2002].

En 2005, Ferrer y Thurman propusieron una aproximación para medir la masa del electrón basada en la medida de iones gemelos o “twin ions”, aquellos que presentan diferente carga eléctrica pero la misma composición elemental. Empleando espectrometría de masas de alta resolución acoplada a un cromatógrafo de líquidos fueron capaces de medir con exactitud la masa del electrón por diferencia de masa de los “Twin-ions” [Ferrer, Thurman, 2005].

En 2011 llevaron a cabo la determinación de la masa del electrón utilizando espectroscopia laser (UV-Vis). Empleando dos láseres que se contrapropagan y que inducen los antiprotones de helio (pHe^+ , pHe^{+2}) a niveles virtuales de alta energía que cancelan el efecto Dooper y disminuyen la agitación térmica, de tal manera que pudieron hallar con alta precisión la razón masa/carga del electrón y de ahí la masa del electrón [Hori, Soter, 2011].

Por último, en 2014 llevaron a cabo la determinación de la masa del electrón utilizando los mismos fundamentos en los que se basó Beier y col. [Beier, Haffner, 2002]. Sin embargo, emplearon ciertas innovaciones en el método como

es el uso de una triple trampa de iones que mejoro la exactitud de la medida [Sturm, Kohler, 2014].

Tabla 1.1. Referencias del estudio del electrón.

Técnica empleada	Masa del electrón (u)	Referencias
Espectrometría de masas con trampa de iones	0.00054857991	[Farnham, Van Dyck,1995].
Espectrofotometría de microondas/MS/Doble trampa de iones	0.00054857990924	[Beier, Haffner, 2002]
Espectrometría de masas de alta resolución	0.00059 0.00065 0.00062	[Ferrer, Thurman, 2005]
Espectrofotometría de fotones del antiprotón de helio	0.0005485799091	[Hori, Soter, 2011].
Espectrometría de masas con triple trampa de iones	0.000548909067	[Sturm, Kohler, 2014]

*u: Unidad de masa atómica empleada por el sistema internacional de medida.

A modo teórico se han obtenido estos valores:

Tabla 1.2: Otras referencias de la determinación de la masa de electrón a modo teórico.

Masa del electrón(u)	Referencias
54,895x10E-5	[Cohen, E.R., 1952]
0,000548579069	[Kohler, s., Sturm, S., 2015]
0,000548479909065	[Zatorski, J., Sikora, B., 2017]

2. ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE ALTA RESOLUCIÓN

Una de las herramientas descritas para la determinación de la masa del electrón es la espectrometría de masas. Esta técnica nos permite determinar el peso molecular de un compuesto, así como asistir a la elucidación estructural o

identificación de un analito dado. Las características principales de la espectrometría de masas son:

- *Alta aplicabilidad*: la mayoría de las sustancias dan un espectro.
- *Selectividad*: el alto poder de resolución con el que se trabaja en estos equipos nos permite la separación y selección de una sustancia del resto de la muestra compleja.
- *Especificidad*: se pueden medir masas exactas de compuestos con más de cuatro cifras decimales.

- *Sensibilidad*: niveles de detección del rango de los fentomoles.

En el espectrómetro de masas, durante la etapa de ionización se generan iones en fase gas a partir de la muestra, que se puede introducir en diferentes estados de agregación; posteriormente dentro del analizador de masas y de acuerdo con diferentes principios físicos en función del analizador empleado, se produce la separación de los iones generados en función de su relación masa/carga (m/z). A causa de esto, se registra la abundancia relativa de cada ion. Por último, dicha corriente de electrones es amplificada y registrada por un detector al que finalmente, con ayuda de un software, se traduce la información obtenida. El software nos reporta un espectro de masas (Figura 2.1), la representación gráfica de la abundancia de cada uno de los iones en función de su relación masa a carga. En el eje y se representa la intensidad absoluta de los iones, y en el eje x la relación masa/carga de los iones.

En muchas ocasiones, el espectro es muy complicado debido a la gran fragmentación producida por la fuente de ionización. El análisis de dicho espectro nos permite conocer la masa molecular de nuestro compuesto objeto de estudio, así como algunas características de su estructura y la composición elemental [Gross, 2017].

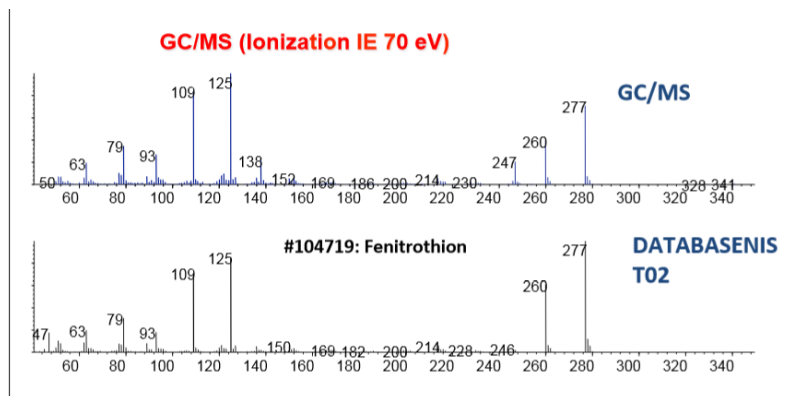


Figura 2.1. Espectro de masas típico obtenido con una fuente de ionización de impacto electrónico.

Unidades de medida en espectrometría de masas:

Unidad de masa atómica (uma): la unidad de masa atómica unificada (u) o Dalton (Da) es una unidad de masas y se define como la doceava parte (1/12) de la masa de un átomo neutro y no enlazado de ^{12}C en su estado fundamental eléctrico y nuclear y equivale a $1,66053892173 \times 10^{-27}$ kg.

Unidad de carga eléctrica: en el Sistema Internacional de Unidades, la unidad de carga eléctrica se denomina culombio (símbolo C) y se define como la cantidad de carga que a la distancia de 1 metro ejerce sobre otra cantidad de carga igual, la fuerza de $9 \times 10^9 \text{ N}$.

1 Columbio: $6,25 \times 10^{18}$ electrones libres.

Carga de un electrón: $1.602176 \times 10^{-19} \text{ C}$.

Unidad de relación masa/carga (m/z):

La unidad de medida para la relación masa/carga correcta son los Thomson (Th), aunque es un término cada vez menos usado según la IUPAC [Murray et al., 2013]. Ésta equivale a la unidad de masa unificada (uma) entre la carga que porta un electrón (e). Sin embargo, se suele expresar dicha unidad como Dalton, aunque los Dalton sólo se refieran a la masa.

1 Th = $1.036426 \times 10^{-8} \text{ kg/C}$.

Masa de un electrón: $9.10938356 \times 10^{-31} \text{ kg}$.

m/z de un electrón: 0.00054858 Th .

Los principales elementos que constituyen un espectrómetro de masas se muestran en la Figura 2.2. y son los siguientes:

- Sistema de introducción de muestra y fuente de ionización.
- Analizador(es)
- Detector y procesamiento de datos

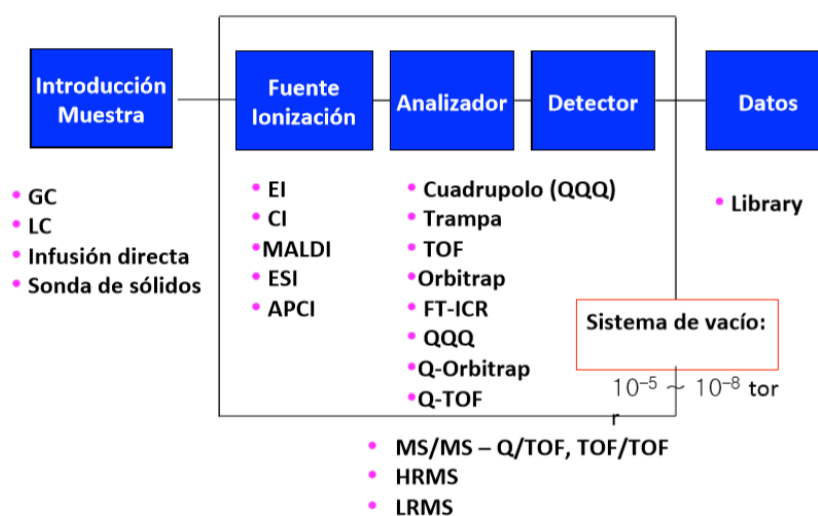


Figura 2.2. Esquema general de los elementos de un equipo de espectrometría de masas.

Las etapas en un experimento en espectrometría de masas son las siguientes:

- Introducción de la muestra
- Ionización de la muestra y generación de los iones en fase gas.
- Separación de los iones en función de su masa a carga.
- Medida de la cantidad de iones de cada relación masa a carga.

Además, el espectrómetro debe operar a alto vacío para evitar colisiones entre moléculas y iones, para asegurar una trayectoria rectilínea, disminuir el ruido de fondo y aumentar la sensibilidad del equipo. En función de la configuración del equipo, el vacío podrá colocarse antes o después de la fuente de ionización. En

nuestro caso, como el sistema de introducción de muestra es un cromatógrafo de líquidos (HPLC) o bien un sistema de infusión directa con una bomba y una jeringa, la muestra se introducía en el sistema en forma de una disolución. Debido a esto, el vacío está inmediatamente después de la ionización de la muestra que se realiza a presión atmosférica empleando ionización por electropulverización o *electrospray* (ESI). Las bombas de vacío empleadas para estos equipos son: bombas rotatorias de vacío, bombas de difusión de aceite y bombas de vacío diferencial. Estas últimas son combinación de una bomba mecánica y una bomba turbo molecular, como se describe en la Figura 2.3. [Watson, Sparkman, 2007].

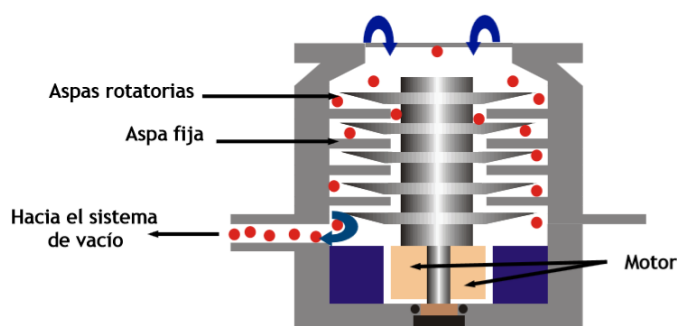


Figura 2.3. Esquema de una bomba turbo-molecular.

2.1 Introducción de muestra y sistemas de introducción de muestra.

A la hora de introducir la muestra en el espectrómetro de masas lo podemos hacer mediante una sonda o mediante sistemas cromatográficos, siendo estos últimos los más empleados. Un sistema cromatográfico nos permite separar y posteriormente analizar todos los analitos presentes en una muestra. Según el estado de agregación de nuestra muestra, el sistema cromatográfico acoplado al espectrómetro de masas será HPLC), cuando se trabaje con muestras en estado líquido poco volátiles y de alto peso molecular; o un cromatógrafo de gases, si estudiamos compuestos volátiles, térmicamente estables, de menor peso molecular [Hoffmann, 2007].

2.2 Ionización de la muestra y sistemas de ionización.

Una vez que la muestra ha sido separada en sus diferentes analitos por el HPLC, ésta debe ser ionizada. Hay diferentes fuentes de ionización según el analito y la finalidad con la que hagamos el análisis. Nuestra fuente de ionización empleada ha sido una fuente de electrospray tanto en modo positivo como negativo.

En una fuente de ionización no sólo se puede llevar a cabo la ionización de los analitos, sino que además dichos compuestos pueden romperse mediante reacciones de fragmentación reproducibles dando lugar a fragmentos o iones producto. La formación de fragmentos en espectrometría de masas es muy útil para obtener información química y estructural de un compuesto dado. En función de las características de la fuente de ionización empleada, se podrán producir gran cantidad de fragmentos como es el caso de una fuente por impacto electrónico, considerada de intensidad muy fuerte; o ninguno o muy pocos fragmentos como en el caso de la fuente ESI, considerada como una fuente suave.

Las fuentes de ionización originan a partir de moléculas neutras, iones en fase gaseosa, generalmente con una única carga, negativa o positiva. En ocasiones, al trabajar con biomoléculas de elevado peso molecular, se forman iones policargados necesitan de más de una carga, de tal manera que el número de cargas eléctricas adquirido por un compuesto dado se conoce como estado de carga [Gross, 2017]. La mayor ventaja que presentan las fuentes ESI es que permite el análisis de moléculas térmicamente inestables y compuestos poco volátiles de elevado peso molecular. El ESI puede trabajar tanto en modo positivo como negativo. La ionización producida es suave por lo que no produce gran cantidad de fragmentos, pudiendo determinarse la composición elemental del analito.

La fuente ESI opera de la siguiente forma (Figura 2.4): los analitos, que se encuentran a presión atmosférica, se hacen pasar por un capilar muy fino acabado en punta, al cual se aplica una diferencia de potencial con respecto a la entrada del espectrómetro de masas. Un gas nebulizador está continuamente

pasando a una elevada presión, de tal manera que la muestra al llegar al extremo del capilar es nebulizada en forma de pequeñas gotas de aerosol cargadas eléctricamente por la acción del campo eléctrico donde ya se produce la ionización de las especies con mayor afinidad. Al mismo tiempo, otro flujo de gas calentado que circula a contracorriente llamado gas de secado, produce la desolvatación de las gotas hasta que finalmente debido a la fisión producida por explosión coulombica (Figura 2.5), los iones vencen la tensión superficial de la gota y pasan a fase gaseosa. Por último, los iones de polaridad adecuada entran en el espectrómetro de masas tanto por la acción del campo eléctrico como por el gradiente de presión ejercido por el alto vacío, que ya se aplica a la entrada del espectrómetro de masas [Watson, Sparkman, 2007].

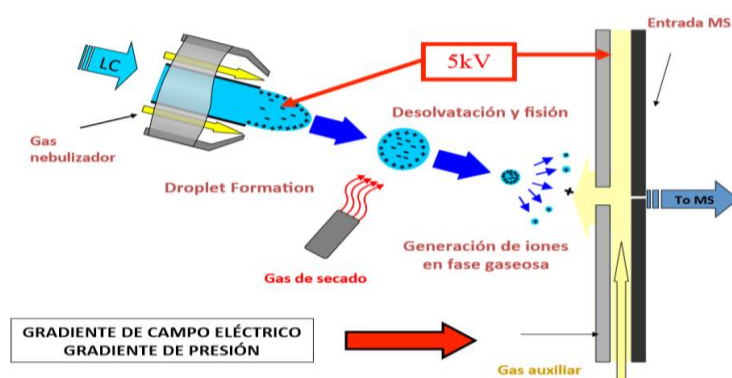


Figura 2.4. Descripción esquemática de una fuente ESI.

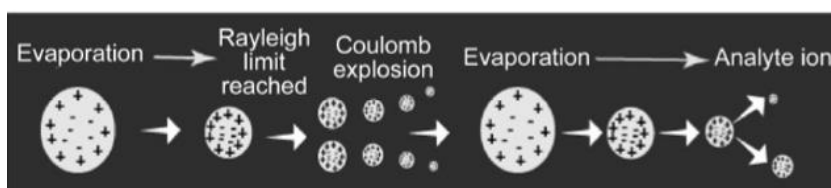


Figura 2.5. Proceso de desolvatación de los iones.

2.3 Separación de los iones y fragmentación

La siguiente etapa es la separación de los iones formados. El espectrómetro de masas consta de uno o varios analizadores. Dichos analizadores se pueden distinguir, entre otras propiedades, por el poder de resolución. La resolución es un parámetro muy importante en un equipo de espectrometría de masas ya que de él depende la exactitud en la masa de nuestros iones y por lo tanto, de

poder diferenciar entre compuesto de masas muy parecidas. Para el cálculo de la resolución, se suele usar el criterio de anchura máxima a mitad de altura o *Full-width at half-maximum* (FWHM), de forma que la resolución se calcula individualmente dividiendo el valor de m/z entre la anchura experimental del ión medido a mitad de altura del mismo. Se trata por tanto de una medida relativa adimensional [Gross, 2017].

La fragmentación, aunque se puede dar en la propia fuente de ionización, lo normal es que se lleve a cabo en el analizador de masas, que actúa como una cámara de colisiones, donde de forma controlada y reproducible se producen las reacciones de fragmentación. Esto se lleva a cabo generalmente en los analizadores en tándem, es decir, varios analizadores dispuestos linealmente, donde en cada uno de ellos se lleva a cabo la acumulación, fragmentación y selección de los iones precursor y producto, algunos de ellos son: el triple cuadrupolo o la trampa de iones. También se suele emplear los conocidos analizadores híbridos formados por la combinación de varios analizadores de diferente clase como pueden ser el cuadrupolo-TOF y triple cuadrupolo-trampa de iones. En el presente TFG, se ha empleado un analizador sencillo de tiempo de vuelo (TOF) y un analizador híbrido cuadrupolo/orbitrap.

Analizador TOF (tiempo de vuelo)

En el analizador de tiempo de vuelo los iones son acelerados mediante un impulso eléctrico constante e igual para todos los iones, generándoles una cierta energía cinética. Dicha energía cinética es empleada por los iones para recorrer un tubo de vuelo de una longitud constante sobre el que no actúa ningún campo. El tiempo de llegada varía en función de su masa a carga ya que:

$Ec = q \times v$ (15) también la energía cinética se puede expresar como:

$$EC = \frac{1}{2}mv^2 \quad (16)$$

Combinando ambas expresiones obtenemos que:

$$\frac{1}{2}mv^2 = qv \quad (17)$$

Por lo tanto:

$$v = (2 \frac{qV}{m})^{1/2} \quad (18) \quad [\text{Ferrer, 2003}]$$

De tal manera que la velocidad de llegada de los iones al detector es inversamente proporcional a la masa. Esto genera que los iones más ligeros lleguen antes que los más pesados. Considerando constantes la energía suministrada y la carga, la medición del tiempo de vuelo de los iones hasta su llegada al detector nos permite determinar de manera precisa la masa de cada ion que llega al detector.

Es muy importante tener controlada la temperatura de trabajo del analizador debido a que elevadas temperaturas provocan dilatación de nuestro tubo analizador en sus paredes, de tal manera que nuestros iones no podrían llegar al detector en su debido tiempo por el estrechamiento, dando lugar a errores de medida.

Analizador Orbitrap.

El analizador Orbitrap fue diseñado y patentado por Makarov a finales de los años 90 [Makarov, 2000]. Éste analizador suele ir acoplado de una trampa de iones lineal o un cuadrupolo por lo que se considera un analizador en tándem híbrido. El cuadrupolo o la trampa se utilizan para la fragmentación de iones cuando realizamos una espectrometría de masas en tándem. En la Figura 2.6 se representa el Orbitrap. Está compuesto por dos electrodos, uno tubular externo y una barra en forma de huso. Los iones al llegar a este analizador son introducidos perpendicularmente adquiriendo un movimiento radial alrededor del huso y un movimiento axial periódico, cuyas frecuencias depende de su masa a carga. El electrodo exterior está dividido en dos mitades por su centro, por lo que el movimiento periódico de los iones genera entre las dos mitades del electrodo una corriente inducida o señal imagen, que puede medirse para determinar relación masa a carga de los iones. La señal registrada por estos equipos es una señal compleja (interferograma) por lo que para facilitar el procesamiento de datos se le suele aplicar a la señal el método matemático de la transformada de Fourier.

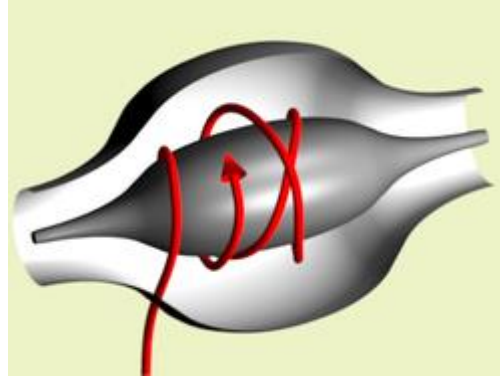


Figura 2.6 Analizador Orbitrap y descripción de la trayectoria seguida los iones [Makarov, 2000]

El fundamento de este analizador es el siguiente: los electrodos simétricos del Orbitrap crea un potencial electrostático “cuadro-logarítmico” ecuación 19.

$$U(r, z) = \frac{K}{2} \left(Z^2 - \frac{r^2}{2} \right) + \frac{k}{2} (Rm)^2 \ln \left[\frac{r}{Rm} \right] + c \quad (19)$$

Donde r y z son las coordenadas cilíndricas, la curvatura del campo y Rm el radio característico. La trayectoria seguida por los iones implica que orbiten alrededor del electrodo central como en la dirección z , por lo que los electrodos generan un potencial electrostático que al no tener términos cruzados en r y z , z es un potencial exclusivamente cuadrático. Al no depender de r el comportamiento de los iones alrededor del eje z es como un oscilador armónico, cuya frecuencia de oscilación viene descrita por la ecuación 20.

$$w = \sqrt{\left(\frac{z}{m}\right)k} \quad (20)$$

[Makarov, 2000]

2.4 Detectores

Por último, el instrumento final de nuestro equipo masas, es un detector donde se registra la carga inducida o producida por los iones al pasar o golpear su superficie. En un instrumento de scan la señal que se produce durante su funcionamiento nos proporciona, con ayuda de un software, un espectro completo. Los principales detectores son multiplicadores de electrones o también

copas de Faraday y ion-fotón. El analizador TOF empleado usa un detector de placa con micro-canales. Por otra parte, el Orbitrap, utiliza una serie de electrodo donde se registra la corriente inducida como consecuencia de los iones confinados en función del tiempo y a continuación, se realiza una conversión por transformada de Fourier, primero en frecuencias y luego en señales masa/ carga [Gross, 2017].

3. EXPERIMENTAL

El objetivo de este trabajo es evaluar la potencialidad de dos analizadores de masas de alta resolución como son el TOF y el Orbitrap para determinar la masa del electrón.

3.1 Materiales y reactivos

Los patrones de ibuprofeno, naproxeno, diclofenaco y ketoprofeno se adquirieron de Sigma-Aldrich. Para trabajar con LC-TOFMS, preparamos una disolución mezcla de disoluciones de los patrones tomando volúmenes adecuados para llevarnos a unas concentraciones de 50, 5, 2.5 y 1,25 ng/μl respectivamente en metanol/agua 50:50 (v/v). Para los experimentos por infusión directa con analizador orbitrap se uso una concentración de 50 ng/μl de cada compuesto en metanol/agua 50:50 (v/v) con 0.1 % de ácido fórmico.

3.2 Instrumentación

LC-TOFMS. Para la separación de los compuestos se utilizó un sistema de cromatografía de líquidos UHPLC (Agilent Series 1290 Infinity, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EEUU) (Figura 3.1) equipado con una columna analítica de fase reversa C18 de 100 mm x 4.6 mm y 1.8 μm de tamaño de partícula (Zorbax).



Figura 3.1: Equipo cromatográfico con espectrómetro de masas con analizador TOF acoplado.

Se emplearon dos fases móviles diferentes, A y B, siendo agua mili-Q y metanol con 0.1% de ácido fórmico. El gradiente lineal de fase móvil paso de 55 a 100 en 10 minutos, después se mantuvo la composición de fase móvil durante 5 minutos. En la Tabla 3.1 se observa cómo varía la composición de la fase móvil (metanol) respecto al tiempo de forma gradual. El flujo fue de 0.4 mL/min con un volumen de inyección de 5 μ L.

Tabla 3.1: Gradiente de elución empleado para el método LC-TOFMS usado.

Tiempo	%B
0	55
7	55
8	100
10	100

El sistema HPLC está acoplado a un espectrómetro de masas con analizador de tiempo de vuelo Agilent 6220 TOF (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EEUU) utilizando una interfase de ionización electrospray (ESI) que trabajaba tanto en modo positivo (+) como negativo (-) en el que en la tabla 5 se detallan las condiciones.

Tabla 3.2: Parámetros empleados en la fuente de ionización electrospray del LC-TOFMS.

Parámetro	ESI (+) / ESI (-)
Voltaje del capilar(V)	4000
Voltaje de fragmentación(V)	215
Presión del gas de nebulización	40
Caudal del gas de secado (L/min)	9
Temperatura del gas de secado	300
Rango de masas	50-1000 / 100-1100
Voltaje Skimmer	65

Para la extracción de las masas de cada uno de los fragmentos obtenidos en el cromatograma se empleó el software: Mass hunter workstation software qualitative analysis versión B.04.00. El análisis de los fármacos seleccionados tanto en modo positivo como negativo se completó con 15 mediciones en cada polaridad. Al cambiar el modo de operación de la fuente de ionización fue necesario un nuevo calibrado y un autotune.

Espectrómetro de masas de alta resolución (ESI-HRMS Orbitrap). El equipo empleado fue el Thermo Q-Exactive Orbitrap (Figura 3.2). Independientemente del calibrado de masas usado, se utilizó la adquisición con la mayor resolución posible (140,000 (FWHM)). El sistema se controla mediante el software Xcalibur 2.2. El hecho de no acoplar al equipo masas un sistema separativo con el separar y purificar los patrones es debido a que este equipo presenta una elevada resolución dando señales limpias, además del ahorro económico y de tiempo al emplear infusión directa. La duración del experimento fue de unos minutos, con un promedio de adquisición de las masas de los fragmentos de 30 segundos (un promedio de 50 espectros para cada una de las 5 determinaciones de masa que se hicieron) En esta experiencia hicimos dos experimentos usando dos tipos de calibrado del equipo cuyas variables se reflejan en las Tablas 3.3 y 3.4.



Figura 3.2: Infusión directa-Q-Exactive Orbitrap (ThermoFisher Scientific).

Tabla 3.3: Parámetros empleados para los experimentos con analizador Orbitrap.

Parámetro	ESI (+)	ESI (-)
Tipo de scan	Full scan MS	Full scan MS
Rango (m/z)	100-500	100-500
Resolución	140000	140000
Caudal(μ L/min)	19	19
Voltaje del Spray(Kv)	3,5	2,5
Temp.Capilar($^{\circ}$ C)	250	250

3.3 Calibración de los espectrómetros de masas de alta resolución.

La calibración del equipo es fundamental para obtener con mayor exactitud la masa del electrón, debido a que los compuestos que se introducen como referencia se fragmentan y dan lugar a unos fragmentos de masa exacta conocida, si nuestro equipo sufre alguna fluctuación en el analizador de masas debido al ruido propio del equipo se verá reflejado en la masa de los fragmentos referencia pudiendo hacer correcciones de nuestra masa experimental a la baja o a la alta por comparación de la masa de los fragmentos de referencia.

En el caso del TOF se realizó una primera calibración del equipo antes del experimento con una mezcla de calibrado que opera en un rango de masas en

positivo 118-2721 y para negativo 112-2833. Posteriormente, durante el experimento el equipo está continuamente calibrándose por una mezcla de calibrado de purina y HP-921, dónde las masas de los fragmentos de referencia son en modo positivo: 121.05087300u y 922.00979800 u, en modo negativo son: 112.98558700u y 1033.98810900u. Esta mezcla de compuestos es introducida al espectrómetro de masas por un capilar perpendicular al de introducción de la muestra, el cual está continuamente pasando por el espectrómetro de masas (Figura 3.3) permitiéndole hacer dichas correlaciones de forma continua.

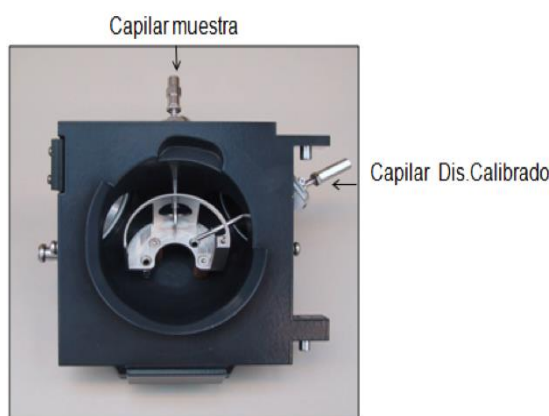


Figura 3.3: Sistema de introducción de muestra y compuesto de referencia en el espectrómetro de masas con analizador TOF.

En el caso del Orbitrap se operó de la misma forma, se hizo una calibración previa al experimento con dos disoluciones diferentes para cada modo, en modo positivo se calibro con una disolución calibrado de: Met-Arg-Phe-Ala (MRFA) y Ultramark 1621, en modo negativo se empleó una disolución calibrado de: Dodecilsulfato de sodio, taurocolato de sodio y Ultramark 1621, en ambos modos el rango de masas era de m/z 263-2000 aproximadamente. Después durante el experimento se iba recalibrando el equipo con las masas de los iones $[M+H]^+$ de cada compuesto para mejorar la exactitud de la medida. Sin embargo, ambas disoluciones de calibrado entran en el espectrómetro de masas por el mismo orificio al ser infusión directa. En un segundo experimento con el Orbitrap para mejorar la resolución de las masas, se empleó otra disolución de calibrado mediante una solución de acetato de sodio a 2 mM en H_2O/ACN (50/50, v/v) que trabaja en un rango de masas entre 60-760 Da. Esta nos permitió, como se discute en los resultados, obtener unas masas para el electrón más precisas, ya

que su rango de medida se ajusta más a la masa de todos los compuestos estudiados.

3.4. Procedimiento para la medida de las masas exactas de los fragmentos de interés para la medida de la masa del electrón

En el LC-TOFMS, para la visualización del espectro de masas y extracción de las masas de los fragmentos de interés para determinar la masa del electrón, se utilizó el software: Mass hunter Workstation. Software qualitative analysis versión B.04.00, con el cual obtuvimos primero el cromatograma, como el que se muestra en la Figura 3.4.

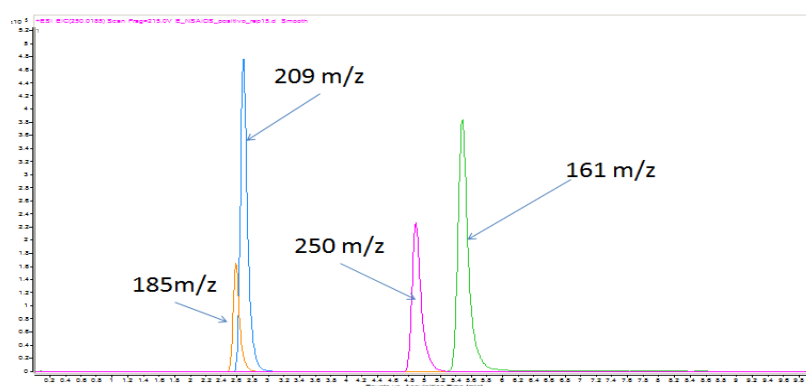


Figura 3.4. Cromatogramas extraídos de cada uno de los fármacos estudiados mediante LC-TOFMS: naproxeno (m/z 185), ketoprofeno (m/z 209); diclofenaco (m/z 250 e ibuprofeno (m/z 161).

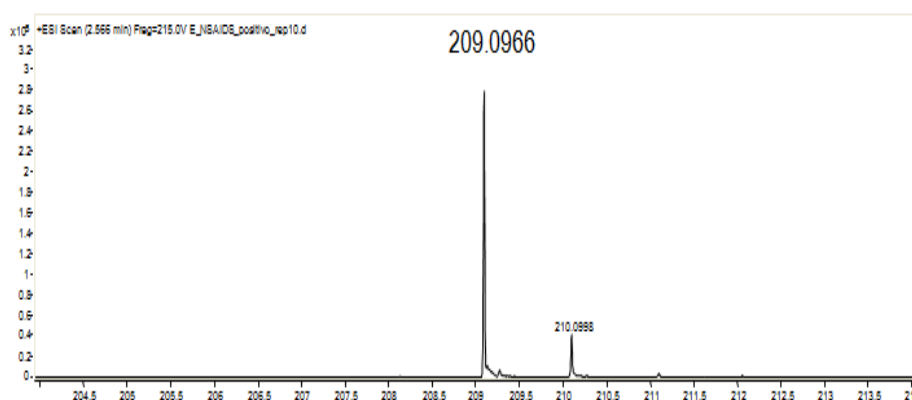


Figura 3.5. Espectro de masas de alta resolución (LC-TOFMS) del fragmento m/z 209 del ketoprofeno en modo de ionización positiva.

A partir de los cromatogramas, para cada compuesto cliqueamos en la opción de obtener el espectro de masas de alta resolución. A modo de ejemplo se muestra el espectro de ketoprofeno (m/z 209) (Figura 3.5). No sólo trabajaremos con la masa extraída en el máximo del pico, sí no que además extraeremos dos masas más a ambos lados, de tal manera que la masa obtenida para cada fragmento es el promedio de 5 masas a lo largo de cada pico para cada una de las inyecciones como se muestra en la Figura 3.6.

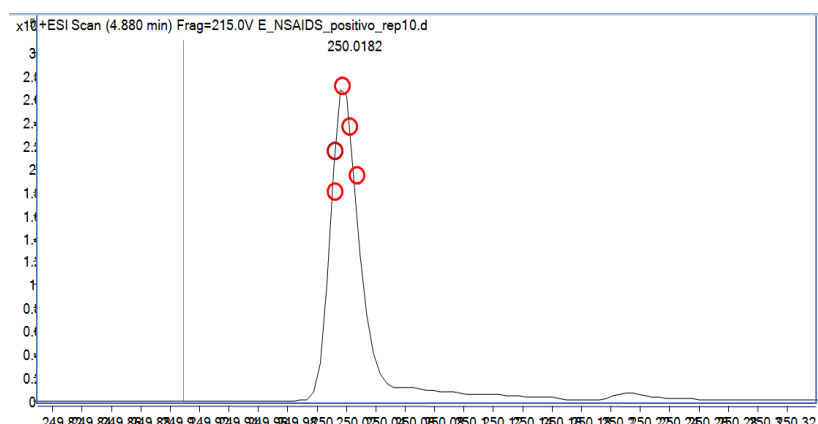


Figura 3.6. representación de los puntos tomados para la masa del fragmento de diclofenaco en el Espectro de masas, 2,5ppm, positivo, escala $\pm 1\text{Da}$.

En el caso del Orbitrap las masas fueron extraídas por el software Xcalibur 2.2 el cual nos reporta un corriente total de iones (TIC), este es una representación gráfica de la abundancia relativa de los fragmentos frente al tiempo. Al llevar a cabo la introducción de la muestra mediante infusión directa, se pueden apreciar en el TIC varios tramos de unos 30 segundos en modo de ionización positiva y negativa de forma sucesiva para, por diferencia, calcular la masa del electrón (Figura 3.7). Estos espectros de masas obtenidos en cada tramo (positivo y negativo) representa un promedio de la medida de las masas del fragmento seleccionado tras realizar varios scans en un periodo de tiempo de 30 segundos en ambos modos, tomando en total 5 medidas en positivo y 5 en negativo para cada compuesto.

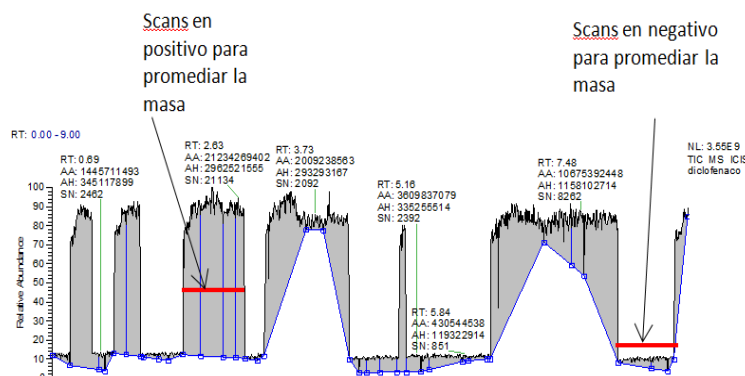


Figura 3.7. TIC obtenido para la fragmentación del diclofenaco

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1 Fragmentación de los fármacos estudiados empleando LC-TOFMS y Orbitrap.

Independientemente del equipo empleado, se ha observado la pérdida de CO_2 (44 uma) en modo negativo y de ácido fórmico (46 uma) en modo positivo, para dar lugar a los iones gemelos, objeto de estudio. La estructura química de los compuestos resultantes a la fragmentación se muestra en la Figura 4.1.

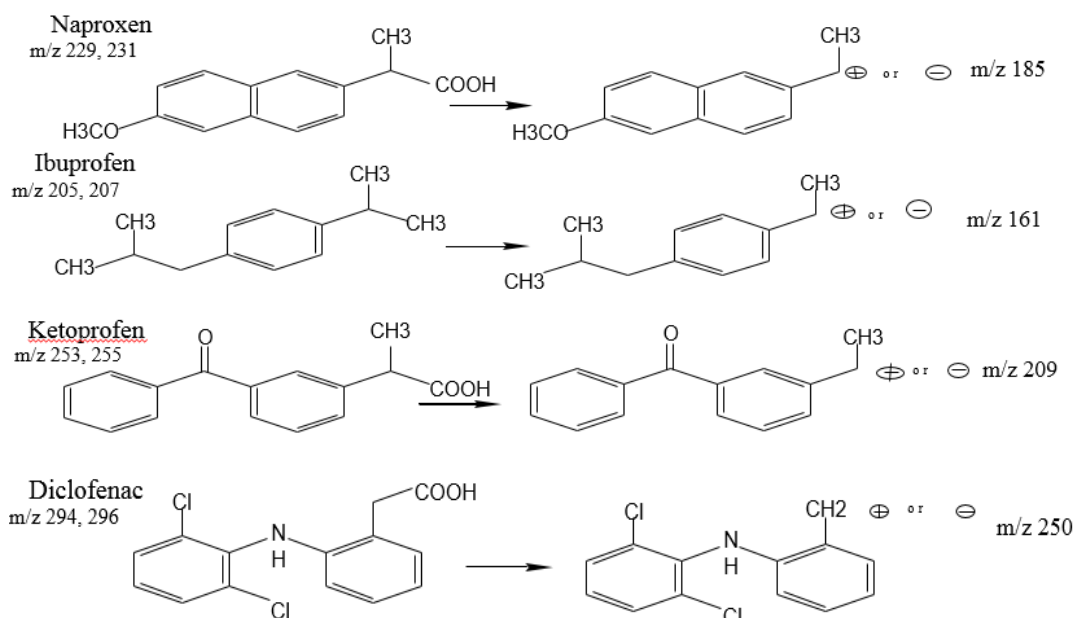


Figura 4.1: Estructura de los compuestos estudiados y fragmentos característicos que originan [Ferrer, 2005].

4.2. Determinación de la masa del electrón empleando espectrometría de masas de alta resolución

Una vez formados los “Twin-ions” para cada compuesto y extraídas las masas de dichos fragmentos podemos determinar la masa del electrón por diferencia de masa exacta de estos en modo positivo y en modo negativo, ya que a pesar de tener la misma masa nominal, el fragmento producido en modo negativo presenta dos electrones más que en modo positivo, por lo cual al dividir entre dos esa diferencia de masa exacta, obtendremos la masa del electrón, la cual viene influenciada por la resolución de masas, exactitud y precisión del equipo, que a su vez están condicionadas por la forma de llevar a cabo el calibrado del eje m/z . Los resultados la masa del electrón obtenida para cada compuesto por diferencia de masa de los fragmentos extraídos se detallan en las siguientes tablas.

4.2.1. Medidas de la masa del electrón empleando LC-TOFMS de los cuatro fármacos empleados

Tabla 4.1. Medida de la masa del electrón a partir del fragmento m/z 250 del diclofenaco empleando LC-TOFMS ($n = 15$).

Repetición	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
1	250,018875	250,021	-0,002125	0,0010625
2	250,01882	250,021	-0,00218	0,00109
3	250,05092	250,02094	0,02998	-0,01499
4	250,01878	250,02088	-0,0021	0,00105
5	250,05074	250,02074	0,03	-0,015
6	250,0187	250,02044	-0,00174	0,00087
7	250,0187	250,02112	-0,00242	0,00121
8	250,01886	250,02092	-0,00206	0,00103
9	250,01908	250,02116	-0,00208	0,00104
10	250,034765	250,02114	0,013625	-0,0068125
11	250,0191	250,02062	-0,00152	0,00076
12	250,0187	250,02136	-0,00266	0,00133
13	250,0187	250,02134	-0,00264	0,00132
14	250,0188	250,02128	-0,00248	0,00124
15	250,0186	250,02066	-0,00206	0,00103

Tabla 4.1.a Medida de la masa del electrón a partir del fragmento m/z 250 del diclofenaco empleando LC-TOFMS (n = 15).

	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
Media	250,024143	250,020973	0,00316933	-0,001584667
Desviación estándar	0,01158458	0,00027231	0,01162403	0,005812014
D.E.R (%)	0,00463339	0,00010891	366,765729	366,7657292

Tabla 4.2. Medida de la masa del electrón a partir del fragmento m/z 250 del ibuprofeno empleando LC-TOFMS (n = 15)

Repetición	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
1	161,13272	161,13386	-0,00114	0,00057
2	161,13272	161,13402	-0,0013	0,00065
3	161,1327	161,13344	-0,00074	0,00037
4	161,13308	161,13398	-0,0009	0,00045
5	161,13256	161,1338	-0,00124	0,00062
6	161,1326	161,13324	-0,00064	0,00032
7	161,13262	161,1341	-0,00148	0,00074
8	161,1326	161,13364	-0,00104	0,00052
9	161,13264	161,13398	-0,00134	0,00067
10	161,13272	161,1343	-0,00158	0,00079
11	161,1344	161,13434	6E-05	-3E-05
12	161,13244	161,13434	-0,0019	0,00095
13	161,13248	161,13378	-0,0013	0,00065
14	161,13252	161,13454	-0,00202	0,00101
15	161,1322	161,13408	-0,00188	0,00094
	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
Media	161,132733	161,133963	-0,0012293	0,00061467
Desviación estándar	0,00049763	0,00035237	0,00054168	0,00027084
D.E.R (%)	0,00030883	0,00021868	-44,063187	44,0631868

Tabla 4.3. Medida de la masa del electrón a partir del fragmento m/z 209 del ketoprofeno empleando LC-TOFMS ($n = 15$)

Repetición	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
1	209,0962	209,0979	-0,0017	0,00085
2	209,0963	209,09844	-0,00214	0,00107
3	209,096	209,09824	-0,00224	0,00112
4	209,096	209,098	-0,002	0,001
5	209,0962	209,09752	-0,00132	0,00066
6	209,0959	209,09788	-0,00198	0,00099
7	209,0964	209,09828	-0,00188	0,00094
8	209,096	209,09812	-0,00212	0,00106
9	209,0966	209,09798	-0,00138	0,00069
10	209,0968	209,09828	-0,00148	0,00074
11	209,0958	209,09784	-0,00204	0,00102
12	209,09628	209,09836	-0,00208	0,00104
13	209,09646	209,09386	0,0026	-0,0013
14	209,0958	209,0982	-0,0024	0,0012
15	209,09586	209,09784	-0,00198	0,00099
	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
Media	209,096173	209,097783	-0,0016093	0,00080467
Desviación estándar	0,00030225	0,00111257	0,00120572	0,00060286
D.E.R (%)	0,00014455	0,00053208	-74,920544	74,9205436

Tabla 4.4. Medida de la masa del electrón a partir del fragmento m/z 185 del naproxeno empleando LC-TOFMS ($n = 15$)

Repetición	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
1	185,096275	185,0981	-0,001825	0,0009125
2	185,0964	185,0978	-0,0014	0,0007
3	185,0964	185,0975	-0,0011	0,00055
4	185,09632	185,0976	-0,00128	0,00064
5	185,09632	185,0975	-0,00118	0,00059
6	185,09606	185,09764	-0,00158	0,00079
7	185,09642	185,09402	0,0024	-0,0012
8	185,09596	185,0974	-0,00144	0,00072
9	185,09666	185,09752	-0,00086	0,00043
10	185,0963	185,09792	-0,00162	0,00081
11	185,09614	185,09792	-0,00178	0,00089
12	185,09612	185,09732	-0,0012	0,0006
13	185,09644	185,0973	-0,00086	0,00043
14	185,09596	185,09744	-0,00148	0,00074
15	185,0965	185,09804	-0,00154	0,00077
	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
Media	185,096285	185,097401	-0,0011163	0,00055817
Desviación estándar	0,0002015	0,00097008	0,00101568	0,00050784
D.E.R (%)	0,00010886	0,00052409	-90,983392	90,9833922

Tabla 4.5. Medida de la masa del electrón de los cuatro compuestos estudiados empleando LC-TOFMS.

Compuesto	Masa experimental electrón	Masa teórica del electrón	Error (%)
Diclofenaco	0,001584667	0,000548	389,17275
Ibuprofeno	0,000614667	0,000548	12,1654501
Ketoprofeno	0,000804667	0,000548	46,836983
Naproxeno	0,000558167	0,000548	1,85523114

4.2.2 Medidas empleando ESI-HRMS Orbitrap con calibrado de masas estándar

Tabla 4.6. Medida de la masa del electrón a partir del fragmento m/z 250 del diclofenaco empleando ESI-HRMS Orbitrap (n = 5) con calibrado de masas estándar.

<i>Repetición</i>	<i>m/z ESI (-)</i>	<i>m/z ESI (-)</i>	<i>Diferencia m/z</i>	<i>masa electrón</i>
1	250,01837	250,01927	-0,0009	0,00045
2	250,01839	250,01927	-0,00088	0,00044
3	250,01838	250,0193	-0,00092	0,00046
4	250,01836	250,01932	-0,00096	0,00048
5	250,01839	250,01937	-0,00098	0,00049
	<i>m/z ESI (-)</i>	<i>m/z ESI (-)</i>	<i>Diferencia m/z</i>	<i>masa electrón</i>
Media	250,018378	250,019306	-0,000928	0,000464
Desviación estándar	1,30384E-05	4,1593E-05	4,1473E-05	2,07364E-05
D.E.R (%)	5,21498E-06	1,6636E-05	-4,4690606	4,469060637

Tabla 4.7. Medida de la masa del electrón a partir del fragmento m/z 161 del ibuprofeno empleando ESI-HRMS Orbitrap (n = 5) con calibrado de masas estándar.

<i>Repetición</i>	<i>m/z ESI (-)</i>	<i>m/z ESI (-)</i>	<i>Diferencia m/z</i>	<i>masa electrón</i>
1	161,13242	161,1328	-0,00038	0,00019
2	161,13242	161,13256	-0,00014	7E-05
3	161,13242	161,13256	-0,00014	7E-05
4	161,13242	161,1325	-8E-05	4E-05
5	161,13242	161,13281	-0,00039	0,000195
	<i>m/z ESI (-)</i>	<i>m/z ESI (-)</i>	<i>Diferencia m/z</i>	<i>masa electrón</i>
Media	161,13242	161,132646	-0,000226	0,000113
Desviación estándar	0	0,00014724	0,00014724	7,3621E-05
D.E.R (%)	0	9,1379E-05	-65,151017	65,1510171

Tabla 4.8. Medida de la masa del electrón a partir del fragmento m/z 209 del ketoprofeno empleando ESI-HRMS Orbitrap (n = 5) con calibrado de masas estándar.

Repetición	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
1	209,09604	209,09669	-0,00065	0,000325
2	209,09603	209,09662	-0,00059	0,000295
3	209,09602	209,09669	-0,00067	0,000335
4	209,09601	209,09664	-0,00063	0,000315
5	209,09602	209,09665	-0,00063	0,000315
	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
Media	209,096024	209,096658	-0,000634	0,000317
Desviación estándar	1,1402E-05	3,1145E-05	2,9665E-05	1,4832E-05
D.E.R (%)	5,4529E-06	1,4895E-05	-4,6789896	4,67898958

Tabla 4.9. Medida de la masa del electrón a partir del fragmento m/z 185 del naproxeno empleando ESI-HRMS Orbitrap (n = 5) con calibrado de masas estándar

Repetición	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
1	185,09601	185,09663	-0,00062	0,00031
2	185,096	185,09662	-0,00062	0,00031
3	185,09601	185,09662	-0,00061	0,000305
4	185,09602	185,09656	-0,00054	0,00027
5	185,09601	185,09656	-0,00055	0,000275
	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
Media	185,09601	185,096598	-0,000588	0,000294
Desviación estándar	7,0711E-06	3,4928E-05	3,9623E-05	1,9812E-05
D.E.R (%)	3,8202E-06	1,887E-05	-6,7386438	6,73864379

Tabla 4.10. Medida de la masa del electrón de los cuatro compuestos estudiados empleando ESI-HRMS (Orbitrap) con calibrado de masas estándar.

Compuesto	Masa experimental electrón	Masa teórica del electrón	Error (%)
Diclofenaco	0,000464	0,000548	15,3284672
Ibuprofeno	0,000113	0,000548	79,379562
Ketoprofeno	0,000317	0,000548	42,1532847
Naproxeno	0,000294	0,000548	46,350365

4.2.3 Medidas empleando ESI-HRMS Orbitrap con calibrado de masas específico para valores de m/z bajos

Tabla 4.11. Medida de la masa del electrón a partir del fragmento m/z 250 del diclofenaco empleando ESI-HRMS Orbitrap (n = 5) con el calibrado específico para valores de m/z bajos.

Repetición	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
1	250,01849	250,01954	-0,00105	0,000525
2	250,0185	250,01953	-0,00103	0,000515
3	250,01848	250,01952	-0,00104	0,00052
4	250,01847	250,01951	-0,00104	0,00052
5	250,0185	250,01952	-0,00102	0,00051
	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
Media	250,018488	250,019524	-0,001036	0,000518
Desviación estándar	1,30384E-05	1,1402E-05	1,1402E-05	5,70088E-06
D.E.R (%)	5,21498E-06	4,5603E-06	-1,1005554	1,100555429

Tabla 4.12. Medida de la masa del electrón a partir del fragmento m/z 161 del ibuprofeno empleando ESI-HRMS Orbitrap (n = 5) con el calibrado específico para valores de m/z bajos.

Repetición	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
1	161,13245	161,13358	-0,00113	0,000565
2	161,13243	161,13358	-0,00115	0,000575
3	161,13242	161,13358	-0,00116	0,00058
4	161,13244	161,13354	-0,0011	0,00055
5	161,13243	161,13356	-0,00113	0,000565
	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
Media	161,132434	161,133568	-0,001134	0,000567
Desviación estándar	1,1402E-05	1,7889E-05	2,3022E-05	1,1511E-05
D.E.R (%)	7,076E-06	1,1102E-05	-2,0301348	2,03013482

Tabla 4.13. Medida de la masa del electrón a partir del fragmento m/z 209 del ketoprofeno empleando ESI-HRMS Orbitrap (n = 5) con el calibrado específico para valores de m/z bajos.

Repetición	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
1	209,09615	209,09713	-0,00098	0,00049
2	209,09617	209,0971	-0,00093	0,000465
3	209,09616	209,09711	-0,00095	0,000475
4	209,09616	209,09711	-0,00095	0,000475
5	209,09614	209,09712	-0,00098	0,00049
	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
Media	209,096156	209,097114	-0,000958	0,000479
Desviación estándar	1,1402E-05	1,1402E-05	2,1679E-05	1,084E-05
D.E.R (%)	5,4529E-06	5,4529E-06	-2,2629941	2,26299409

Tabla 4.14. Medida de la masa del electrón a partir del fragmento m/z 185 del naproxeno empleando ESI-HRMS Orbitrap (n = 5) con el calibrado específico para valores de m/z bajos.

Repetición	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
1	185,09605	185,09709	-0,00104	0,00052
2	185,09607	185,09708	-0,00101	0,000505
3	185,09607	185,09708	-0,00101	0,000505
4	185,09605	185,09706	-0,00101	0,000505
5	185,09605	185,09706	-0,00101	0,000505
	m/z ESI (-)	m/z ESI (-)	Diferencia m/z	masa electrón
Media	185,096058	185,097074	-0,001016	0,000508
Desviación estándar	1,0954E-05	1,3416E-05	1,3416E-05	6,7082E-06
D.E.R (%)	5,9183E-06	7,2483E-06	-1,3205126	1,32051259

Tabla 4.15. Medida de la masa del electrón a partir del fragmento m/z 250 del diclofenaco empleando ESI-HRMS Orbitrap (n = 5) con el calibrado específico para valores de m/z bajos.

Compuesto	Masa experimental electrón	Masa teórica del electrón	Error (%)
Diclofenaco	0,000518	0,000548	5,474452555
Ibuprofeno	0,000567	0,000548	3,467153284
Ketoprofeno	0,000479	0,000548	12,59124088
Naproxeno	0,000508	0,000548	7,299270072

4.3 Discusión de los resultados

Se han incluido tres experimentos: la medida de la masa del electrón usando: (a) LC-TOFMS (con una resolución de 12000 en el rango de masas de trabajo; (b) Orbitrap con infusión directa empleando el calibrado de masas estándar para todo el rango de masas del equipo ((hasta m/z 3200); y (c) Orbitrap con infusión directa empleando el calibrado de masas específico para especies de bajo peso molecular.

Los resultados cosechados para los cuatro fármacos estudiados (diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno y naproxeno) con el LC-TOFMS se muestran en las Tablas 4.1 a 4.5. Ésta última incluye los resultados obtenidos. En primer lugar, se debe mencionar que no se han podido reproducir completamente los datos de masa del electrón cosechados por Ferrer y Thurman [Ferrer, 2005], pese a emplear la misma instrumentación con una mejora sensible de resolución del equipo. Independientemente del valor promedio obtenido para cada fármaco y el error relativo asociado a la medida del electrón, en general, tanto la repetitividad de la medida es muy pobre, teniendo en cuenta que se han realizado 15 medidas y se ha hecho el promedio de cada pico cromatográfico tomando los 5 puntos más intensos. Por ello, es difícil justificar la falta de repetitividad en las medidas realizadas. Entre las posibles causas, se puede incluir el empleo de una relación entre la intensidad del ion medido y el ruido de fondo inadecuada. No obstante, como se muestra en la Tabla 4.16, los datos obtenidos con el experimento LC-TOFMS con ibuprofeno y naproxeno son relativamente satisfactorios, con valores de RSD (%) próximos al 20% -si se descartan algunos *outliers* evidentes- en el caso del ibuprofeno y con errores relativos por debajo del 12% en ambos casos. La razón de estos valores aceptables (próximos a 0,000548 uma) se debe a la propia calibración de masa exacta del equipo, que se hace de forma continua, empleando dos masas: purina (m/z 121) y HP-921 (m/z 922). Por tanto, teniendo en cuenta que las relaciones masa/carga de los fragmentos medidas son diclofenaco (m/z 250), ibuprofeno (m/z 161), ketoprofeno (m/z 209) y naproxeno (m/z 185), se observa que mientras más baja es la m/z del ión, y por

tanto más próxima a la masa de la disolución de referencia del calibrante continuo (m/z 121), los datos de masa exacta poseen mayor calidad. Por el contrario, el valor de masa del electrón cosechado para el ion más alejado de la disolución de calibración (diclofenaco, m/z 250), es el que con diferencia proporciona mayores errores e incertidumbre en la medida. De forma, que, en esas condiciones, el ajuste del eje x (m/z) no es tan eficaz en ese rango de masas por encima de m/z 250, por lo que, en estas condiciones, la incertidumbre de la medida de masas exactas es aún mayor que la propia medida de la masa del electrón, lo que se traduce en un error enorme y una precisión (RSD (%)) muy pobre.

Por tanto, como conclusión, hay dos factores que afectan a los resultados: la resolución en el eje x, que quizás no proporciona suficiente precisión en las medidas de masa exacta de los fragmentos, y el método para calibrar el eje de m/z , basado sólo en dos puntos, por lo tanto, para masas que se alejen de dichos puntos de referencia, los resultados serán mucho peores que si los valores de m/z experimentales están muy próximos al valor m/z usado para realizar la calibración.

Tabla 4.16. Comparación de los resultados obtenidos para la medida de la masa del electrón empleando LC-TOFMS y HRMS (Orbitrap).

Compuesto	LC-TOFMS			ESI-HRMS estandar ¹			Medida ESI-HRMS ²		
	Masa electrón	Error (%)	RSD (%) n = 15	Masa electrón	Error (%)	RSD (%)	Masa electrón	Error (%)	RSD (%)
Diclofenaco	0,001584667	389,2	366,7	0,000464	15,33	4,47	0,000518	5,47	1,10
Ibuprofeno	0,000614667	12,16	44,06	0,000113	79,38	65,2	0,000567	3,47	2,03
Ketoprofeno	0,000804667	46,83	74,92	0,000317	42,15	4,68	0,000479	12,6	2,26
Naproxeno	0,000558167	1,85	90,98	0,000294	46,35	6,74	0,000508	7,29	1,32

¹Calibrado de masa estándar para todo el rango de masas

²Calibrado de masa específico para masas bajas

³El valor adoptado para la masa del electrón es 0,000548 uma.

Por otra parte, los resultados obtenidos empleando el analizador Orbitrap con el calibrado de masas estándar para ajustar el eje m/z , presento valores algo más próximos al valor de la masa del electrón aceptado como verdadero (0,000548 uma). En este caso, la calibración del eje m/z se hace con una serie de compuestos con m/z entre m/z 265 y m/z 1980 (Figura 4.2), por tanto, algo alejado de los valores que se están midiendo de los fragmentos de los fármacos, excepto para el caso del diclofenaco (m/z 250). Este compuesto fue el que proporcionó un valor de masa del electrón con mejor error (15,3 %), lo que es consistente con lo ocurrido anteriormente, mientras que, en este caso, el ibuprofeno, con el valor m/z 161, más alejado de la masa de referencia de calibrado más próxima (m/z 265). Sin embargo, la precisión (RSD (%)) de las medidas es muy superior al equipo LC-TOFMS con valores siempre por debajo del 7% excepto el ibuprofeno, por lo que dicho incremento debe estar principalmente asociado a la resolución del equipo Orbitrap empleado (140,000), que es muy superior (5-10 veces) a la de los equipos TOF (12000 en el caso del equipo usado).

Pese a la precisión de la medida, los errores seguían siendo altos en todos los casos con unos porcentajes entre el 15% del diclofenaco al 80% del ibuprofeno. Por este motivo, y considerando que el motivo de la baja exactitud de la medida se debía al calibrado poco eficaz del eje m/z para valores por debajo de la masa del calibrante MRFA, se estudió la posibilidad de llevar a cabo una calibración específica para masas bajas, que ya estaba contemplada por el fabricante. Dicho calibrado se describe en la sección experimental y está basado en la formación de aductos de sodio. De esta forma, se mantenía la precisión aportada por la elevada resolución empleada y, al usar valores de m/z del calibrante más próximos a los fragmentos de los fármacos que se miden, los valores de masa del electrón resultantes son más exactos, y, por tanto, próximos a la masa real del electrón.

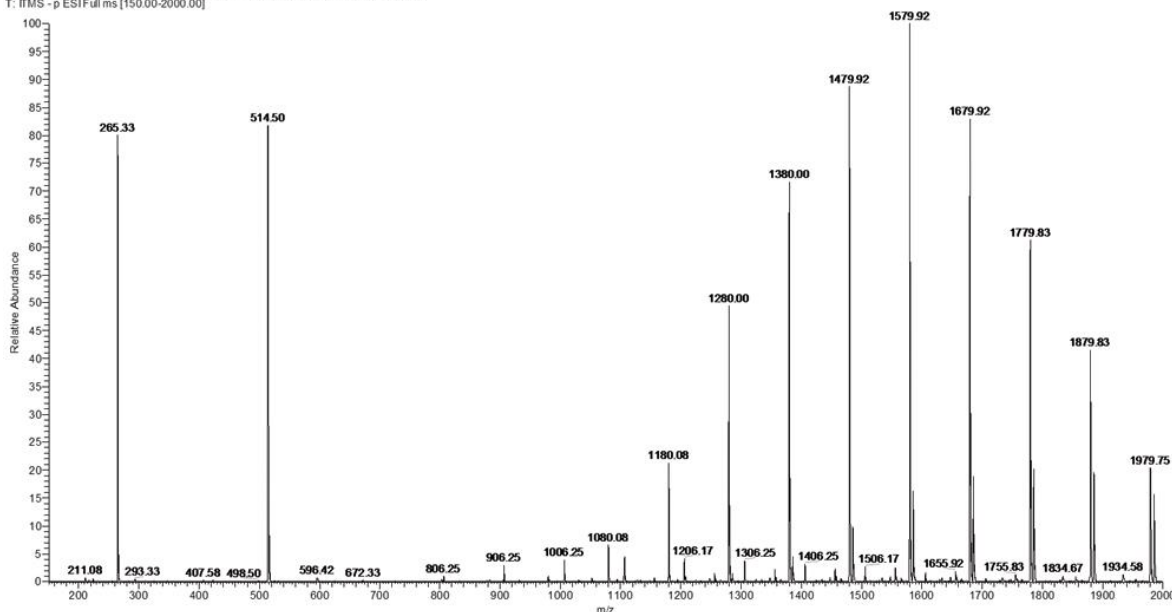


Figura 4.2. Espectro de masas de alta resolución de la disolución Thermo Pierce (con MRFA (m/z 265 y 514) y Ultramark 1621 (con varios iones separados por 100 unidades) empleada para el calibrado del eje m/z en los equipos Orbitrap en todo el rango de trabajo. Fuente: Thermo Fisher Scientific, San José, EE.UU.

Los resultados obtenidos (Tabla 4.16), muestran una mejor precisión, con valores de RSD (%) por debajo de 2.3% y un error de cálculo de la masa exacta del electrón entre el 3,5 y el 12,6 %. Esta precisión y exactitud es realmente aceptable para la medida experimental de la masa del electrón y se consigue en un experimento de escasamente 5 minutos de adquisición para cada compuesto. Por tanto, se puede reafirmar, que la resolución en el eje de la x (valores m/z) es condición necesaria para conseguir valores exactos de la medida del electrón, pero no suficiente. Se debe llevar a cabo un ajuste/calibrado del eje de valores m/z empleando unas sustancias con pesos moleculares parecidos a los de los analitos que queremos medir.

5. CONCLUSIONES

En este trabajo, se ha efectuado la medida de la masa del electrón empleando espectrometría de masas de alta resolución con dos equipos diferentes, un orbitrap y un TOF, obteniendo valores razonablemente aceptables en los dos casos, de acuerdo con el estudio anterior en el que se ha basado el trabajo propuesto [Ferrer y Thurman, 2005]. Una de las observaciones más interesantes es la necesidad de llevar a cabo el calibrado del eje de m/z a valores muy próximos a los de los iones gemelos. Esta apreciación se observó cuando se comprobó que el ion más alejado (diclofenaco) del valor m/z que servía como masa calibrante (m/z 121) daba valores de la medida de la masa del electrón muy desviados con respecto al propuesto. De la misma forma, en el analizador orbitrap, se daba el mismo fenómeno, por lo que se testaron de ajuste del calibrado de masas del equipo empleando disoluciones y valores de m/z diferentes. Esto tuvo repercusión en la exactitud de la medida del electrón. Las principales conclusiones que se extraen, por tanto, son que la espectrometría de masas de alta. Resolución proporciona unas medidas de masa exacta de iones que permiten medir la masa del electrón, pero, eso si, se requiere un ajuste del equipo a unas condiciones muy similares en cuanto a valor m/z de las que se emplee para la muestra, lo que resalta la importancia del calibrado de masas (ajuste del eje m/z) en los equipos de alta resolución.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Andrade, J., Martínez, R., Revista Mexicana de Física, Vol.39 610-616, (1993)

- Beier, T., Haffner, H., The measurement of the electron g-factor in Hydrogen-like Ions- a promising for determining fundamental and nuclear constants, Eur.Phys J.A.Vol.15 (2002) 41-44.
- Berry, R.S., Rice, S.A., Ross, J., Physical Chemistry Vol II, Oberlin, Ohio (2001)
- Castaños, E., Lidia con la química, (2016), Recurso: <https://lidiakonlaquimica.wordpress.com/2016/05/10/la-carga-del-electron-el-experimento-de-millikan/>
- Cohen, E.R., The Rydberg Constant and the Atomic Mass of the Electron, Phys. Rev. 88 (1952) 353-360.
- Dahl, P.F., Flash of the Cathode Rays. institute of physics publishing Bristol and Philadelphia, Philadelphia, Pensilvania, (1997).
- Esteban, P.G., El tamiz. Premios Nobel, (2016), Recurso: www.eltamiz.com
- Farnham, D.L., Determination of the Electron Atomic Mass and the Proton/Electron Mass Ratio via Penning Trap Mass Spectroscopy, Phys. Rev. Lett. 75 (1995) 3598-360.
- Ferrer, I., Thurman, E.M., Liquid Chromatography/Mass Spectrometry, MS/MS and Time of Flight MS vol. 850 ACS Symposium series 890, Washington D.C., Washington, 2003.
- Ferrer, I., Thurman, E.M., Measuring the Mass of an Electron by LC/TOF-MS: A Study of Twin Ions, Anal. Chem. 77 (2005) 3394-3400.
- Figueroa F., Fallerwayer, F. (2011), Recurso: <http://www.portalhuarpe.com.ar/Medhime20/Nuevos%20OA/Quimica%20Gomez/Thomson.html>
- Franco-García, A., Telecomunicación, (2000), Recurso: http://teleformacion.edu.aytolacoruna.es/FISICA/document/teoria/A_Franco/electromagnet/thomson/Thomson.html
- Garritz, Modelo atómico nuclear, Cap.3 73-95, Córdoba, España, (2002)
- Gross, J.H., Mass spectrometry, a text book. 3ª Edición. Editorial Springer, 2017.
- Hewlett, F.W., Openstax-cnx, (2018), Recurso:<https://es.khanacademy.org/science/chemistry/electronic->

structure-of-atoms/history-of-atomic-structure/a/discovery-of-the-electron-and-nucleus.

- Hoffmann, E., Stroobant, V., Mass Spectrometry: Principles and Applications, 3ª edición. Editorial Wiley, 2017.
- Homme, H., Historia de la química y la tecnología. Depto. de Química y de Estudios Avanzados del IPN 72-75, 1996.
- Hori, M., Soter, S., Two-photon laser spectroscopy of antiprotonic helium and the antiproton-to-electron mass ratio, Nature 475 (2011) 484-488.
- F Köhler, M., Sturm. S., The electron mass from g -factor measurements on hydrogen-like carbon $^{12}\text{C}^{5+}$, Journal of Physics B: Atomic, Molecular and Optical Physics Vol.48 14 (2015), 1450-1456.
- Lenard, P., Nobel prize. Nobel media A.B, (2014), Recurso: https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1905/lenard-facts.html.
- Lieser, Heinrich, K., Nuclear and Radiochemistry. VCH, Weinheim, Alemania, 1996.
- Makarov, A., Electrostatic Axially Harmonic Orbitrap Trapping: A high-performance Technique of Mass Analysis, Anal. Chem. 72 (2000) 1156-1162.
- Millikan, R.A., Nobel prize, Nobel media A.B., (2014), Recurso: https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1923/millikan-facts.html.
- Millikan, R.A., The Isolation an Ion, A Precision Measurement of its Charge., and Correction of Stokes Law, Phys. Rev. 32 (1911) 349-402.
- Murray, K.K., Boyd, R.K., Eberlin, M.N., Langley, G.J., Li, L., Naito, Y. Definitions of terms relating to Mass Spectrometry (IUPAC Recommendation). Pure Appl. Chem. 85 (2013) 1515-1609.
- Nave, C.R., Hyper Physics 1 (2000) 3302-4106.
- Peña, M.A., Muntane, A.R., Química Física. Ed. Alhambra, Granada, 1972.
- Serway, R.A., Beichner, R.J., Física para ciencia y ingeniería vol. II, , 3ª Edición. Editorial McGraw-Hill, 1997.

- Sturm, S., Kohler, F., High-precision measurement of the atomic mass of the electron. Science 506 (2014) 467-470.
- Thomson, J.J. Nobel prize. Nobel Media A.B, (2014), Recurso: https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1906/thomson-facts.html.
- Thomson, J.J., Cathode Rays, Philos. Mag. 44 (1897) 283-316.
- Tipler, P.A., Física moderna edición 1. Reverte S.A, Barcelona, España, (2009).
- Troncoso-Iribarren, P., Research gate, (2015), Recurso: <https://sites.google.com/site/electricalia/503>.
- Uribe-Mejía, S.A., Samuribe.blog, (2011), Recurso: <http://samuribe.blogspot.com/p/quimica-inorganica.html>
- Wales, J., Sanger, L., Wikipedia, (2018), Recurso: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Millikan%E2%80%99s_oil-drop_apparatus_1.jpg.
- Watson, J.T., Sparkman, O.D., Introduction to Mass Spectrometry: Instrumentation, Applications, and Strategies for Data Interpretation, 4th Edition. Ed. Wiley, (2007).

Wilson, H.A., Nobel prize. Nobel Media A.B, (2014), Recurso: https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/peace/laureates/1919/wilson-facts.html

- Zatorski, J., Sikora, B., Extraction of the electron mass from g factor measurements on light hydrogen like ions, Phys. Rev. A. 96 (2017) 12502-12508