



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**APLICACIÓN DE LA CROMATOGRFÍA DE GASES
ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS EN LA
INDUSTRIA DE FRAGANCIAS**

TRABAJO PROFESIONAL

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA:
ANTONIO CAMARENA TORRES**

**ASESOR
Ma. GUADALUPE NAVA ARZALUZ**

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: DRA. MARÍA DEL CARMEN VALDERRAMA BRAVO
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo Profesional**.

Aplicación de la Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas en la Industria de Fragancias.

Que presenta el pasante: **Antonio Camarena Torres**

Con número de cuenta: **302119950** para obtener el Título de: **Químico Farmacéutico Biólogo**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 03 de Octubre de 2023.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Miriam Aide Castillo Rodríguez	
VOCAL	Dra. María Guadalupe Nava Arzaluz	
SECRETARIO	Dr. José de Jesús Olmos Espejel	
1er. SUPLENTE	Dra. Gabriela Rodríguez Patiño	
2do. SUPLENTE	Dra. Mariana Dolores Hernández	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

MCVB/cga*

AGRADECIMIENTOS

A mis amados padres por todo su apoyo y esfuerzo.

A mis hermanos por su impulso y ejemplo.

A mi alma mater UNAM FES Cuautitlán.

A mi asesora la Dra. Lupita Nava por su paciencia y guía.

A mis amigos *Grove Street* que seguro estoy serán para toda la vida.

A IFF por permitir desarrollar mis habilidades y el apoyo para este trabajo.

A la vida y a las personas que me han acompañado en cada capítulo de mi historia.

ÍNDICE

	<i>Página</i>
1. Objetivos.....	2
2. Generalidades	3
2.1 La Empresa.....	3
2.2 El Puesto; Analista global remoto.....	4
2.3 Contexto de la industria de fragancias.....	5
3. Fragancias.....	8
4. La Cromatografía de Fragancias.....	12
5. Espectrometría de Masas.....	21
6. Redes y recursos informáticos para el análisis e interpretación de la cromatografía de fragancias.....	27
7. Desempeño profesional; Interpretación remota de Datos Cromatográficos “READI análisis”.....	38
8. Conclusiones.....	62
9. Referencias.....	63
10. Abreviaturas.....	66
11. Índice de figuras.....	67

1. Objetivos

1.1 Objetivo General.

Elaborar un informe de trabajo profesional donde se comparten experiencias y conocimientos de CG-EM con la comunidad de la FES Cuautitlán interesada en incursionar en la industria de fragancias.

1.2 Objetivos Particulares:

- Describir la importancia de la cromatografía de gases para la industria de fragancias a través de la ejemplificación de casos prácticos encontrados en el desempeño profesional para una correcta toma de decisiones.
- Establecer los alcances, limitaciones y retos que enfrenta la interpretación cromatográfica a partir de las experiencias expuestas para tener un panorama general del papel de la CG-EM dentro de la industria.
- Dar a conocer algunas de las diversas herramientas informáticas que acompañan la interpretación de la CG-EM, las ventajas del uso de las tecnologías de la información y las comunicaciones (TIC) para reducir tiempos y costos.
- Definir el papel del QFB dentro de la industria de fragancias mediante el estudio de los diferentes procesos implicados en el desarrollo producción y liberación de fragancias al mercado, para crear conciencia del criterio necesario en el momento de tomar decisiones.

2. Generalidades

2.1 La Empresa

International Flavors & Fragrances (IFF) es una empresa global líder en la creación y comercialización de sabores y fragancias. Tiene sucursales en 35 países y cuenta con aproximadamente 7400 empleados. Su filial en México se encuentra en el municipio de Tlalnepantla de Baz, en el Estado de México. Bajo el lema de “Somos el catalizador para los descubrimientos que chispean los sentidos y transforman el día a día”, IFF brinda productos y servicios a más de 3000 clientes de 168 países. Desde perfumes para productos de limpieza que se utilizan cotidianamente en los hogares, hasta fragancias finas asociadas a personalidades del mundo del espectáculo o de la moda, IFF ha desarrollado una gama de más de 35000 productos desde hace 130 años. Aquí se aprovechan las ideas de los consumidores, la investigación y desarrollo, la experiencia creativa y hasta la intimidad de los mismos clientes para desarrollar productos que los impacten.

Conocedores del mercado y su posición en él, IFF se define como una empresa inherentemente curiosa, lejos de aceptar el *statu quo*, constantemente busca límites que permitan su crecimiento, para esto desarrolla expertos que facilitan la adaptación a las necesidades y demandas de los clientes, buscando inspirarlos y deleitarlos, considerando el descubrimiento como un arte (About Us | IFF, 2023).

Como característica de empresa global, las diferentes sucursales de IFF se encuentran establecidas de manera estratégica con el fin de abarcar todo el mundo, aprovechando climas, recursos naturales y humanos para desarrollar sus productos de acuerdo con las características de cada población.

Las filiales y plantas de producción más grandes se encuentran en Tilburg, Holanda, un poblado a casi dos horas de la capital Amsterdam, Hazlet en New Jersey, Estados Unidos de América (EUA) y Rio de Janeiro, Brasil. Las oficinas corporativas se ubican en los Estados Unidos en la ciudad de Nueva York. En México además de producir fragancias y sabores, se encuentra el departamento de READI (Remote Analyst Data Interpretation) encargado de brindar soporte analítico a los laboratorios de control de calidad de las diferentes filiales de todo el mundo.

2.2 El Puesto; Analista global remoto.

El día a día en las plantas de producción es sumamente agitado, se requiere de una coordinación precisa entre todas las áreas involucradas para satisfacer la alta demanda y lograr así los objetivos planteados desde la dirección. Puesto que el trabajo de producción es a gran escala, lo es también el trabajo en los laboratorios de control de calidad. Diariamente llegan a ellos varios cientos de muestras desde materias primas hasta productos terminados que requieren de diversos análisis que demuestren su calidad e inocuidad.

Materias primas como aceites esenciales, disolventes, polvos con características odoríferas o productos terminados como perfumes que se aplican directamente en el cuerpo o se adicionan a productos cosméticos, limpiadores de uso general y otros tantos como la creatividad lo permita, son analizados de manera rutinaria en el laboratorio de control de calidad donde atraviesan por una serie de pruebas como son la evaluación sensorial, el análisis fisicoquímico y la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). Esta última se ha convertido en la técnica más confiable y sofisticada para el análisis cualitativo y semicuantitativo de fragancias. Gracias a la cromatografía de gases es posible determinar si una fragancia cumple o no con las especificaciones determinadas por el cliente o bien, con las que reportan los proveedores. Es también una poderosa herramienta para los perfumistas modernos cuya labor primordial radica en la creación, desarrollo e investigación de nuevas posibilidades olfativas (Van Asten, 2022).

La interpretación de los datos obtenidos a partir de la cromatografía se volvió una tarea fundamental tanto para identificar los componentes de las fragancias, así como para resolver numerosas y distintas cuestiones que impactan de manera directa en las finanzas de la empresa. Cambios en la formulación, contaminaciones cruzadas, variaciones en productos naturales, rechazos (internos y externos), son solo algunos de los distintos problemas que si no son atendidos de manera adecuada se traducen en pérdidas millonarias para la compañía. La interpretación cromatográfica es una actividad altamente especializada que permite abordar estos y otros temas para dar soluciones confiables que reestablezcan el flujo ideal de un proceso o bien para dictaminar la destrucción de un producto.

La labor de interpretación de datos no es tarea sencilla, se requiere personal calificado y con las competencias necesarias que le permitan desarrollar criterios de aprobación o bien, identificar la causa raíz de no conformidades encontradas en el procedimiento de análisis y/o manufactura. Para un analista de laboratorio de control de calidad, la interpretación de datos cromatográficos representa una tarea muy demandante tanto por la cantidad de información, como por la complejidad del análisis, esto limita su capacidad para realizar de manera eficiente las pruebas adicionales a las que los materiales deben ser sometidos.

A lo largo del tiempo, las empresas han ido desarrollando bases de datos con información específica de los materiales. Estas bases son una de las principales herramientas para el

análisis e interpretación de datos. También se utilizan herramientas informáticas como el “Systemanalyse Programmentwicklung” (“Análisis de Sistemas y Desarrollo de Programas”, SAP por sus siglas del alemán), software de desarrollo de programas de sistemas de análisis, que a *grosso modo*, son aplicaciones tecnológicas de arquitectura en capas en las cuales se reportan todas las acciones relacionadas a la naturaleza, fabricación y distribución de productos. También es necesario el uso de plataformas de internet, que permiten el acceso remoto y en tiempo real al software de los instrumentos analíticos (ej., cromatógrafos).

La idea de un departamento especializado y enfocado a la interpretación cromatográfica surge de lo descrito anteriormente. El análisis de costos, tiempo y las herramientas tecnológicas disponibles para desarrollar esta idea concluyó que no era necesario que dicho departamento se encontrara físicamente cerca de cada laboratorio de control de calidad, sino que brindara servicio de manera remota a las principales filiales de la empresa: Tilburg y Hilversum en Holanda, Hazlet en New Jersey y Rio de Janeiro en Brasil. Así, la filial en México se convirtió en el lugar más adecuado para instalarlo aprovechando el espacio disponible y el costo de la inversión.

La principal tarea del departamento READI es brindar soporte analítico a través de la interpretación de datos cromatográficos generados vía remota. Para este caso, El equipo READI trabaja con más de 10 filiales alrededor del mundo.

2.3 Contexto de la industria de fragancias.

El olfato es el sentido más primitivo y al mismo tiempo el más desconocido. El perfume manipula ese sentido recordándonos inmediatamente buenos tiempos y habla de glamor y sofisticación a aquellos que lo perciben cerca. Las fragancias explotan tanto nuestras emociones, que se han convertido en una industria global multimillonaria (Denyer, 2011) .

Cada vez existen más marcas comerciales y con ellas, la fabricación de perfumes se ha intensificado. Por ejemplo, Coty recientemente reportó resultados de su primer trimestre fiscal del 2023. En el periodo generó ingresos netos por 1390 millones de dólares, 9% más que el periodo anterior (Mata Ferrusquía, 2022). Hoy el marketing es tan importante como el olor y los perfumistas tienen que encarar el desafío.

Los perfumes se utilizan en un sinnúmero de productos tanto de belleza y cuidado personal, como de limpieza en general. Tener a profesionales de la salud en este campo brinda una mayor confianza en los productos.

Hace aproximadamente 50 años el mundo de la perfumería quedó conmocionado por la aparición del cromatógrafo de gases en el mercado. En todos lados se discutía la gran capacidad de este instrumento para separar muestras complejas y la posibilidad de convertir

al perfumista en algo superfluo. La realidad es que gradual e inequívocamente el cromatógrafo de gases ha transformado profundamente el trabajo del perfumista de los cuales se pueden señalar: 1) la erosión del secreto y la intensificación de la competencia, 2) la aceleración de las modas y del fenómeno de filtración a otros campos y 3) la aparición de una preocupación creciente por la seguridad y el medio ambiente (Calkin y Jellinek, 1996).

Un estudio reveló que en 2017 la industria global de las fragancias —sin considerar a los Estados Unidos y a Canadá— generó ventas por 7,300 millones de euros; creó 26,000 fuentes de empleo; conformó una red de 3,000 proveedores de materias primas; y atendió, junto con el sector de sabores, a 162 mercados de productos de consumo. Asimismo, encontró que la fragancia puede aumentar hasta 10 veces el valor de los productos de consumo final (García Vieyra, 2020).

Las fórmulas continúan siendo un secreto, sin embargo, el valor de este secreto ha disminuido drásticamente. El hecho de que cualquier persona que disponga de un cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-EM) y tenga cierta experiencia en su uso pueda desentrañar en cuestión de pocos días una parte importante de una fórmula ha cambiado esta situación radicalmente. Esta erosión del secreto ha conducido lógicamente, a una mayor competencia entre las empresas, manteniéndose en el mercado solo aquellas capaces de adaptarse y mantener un rendimiento óptimo, mientras que aquellas casas artesanales se quedan rezagadas. La cuota de facturación cada vez va en aumento, decir que esto se debe solo a la aparición del GC-EM puede ser una simplificación excesiva, pero, sin lugar a duda, el GC-EM ha jugado un papel esencial en todo ello.

Los perfumistas se encuentran de cierta forma presionados por el mercado, las modas y los cambios de estilo, además existen leyes que protegen ciertas especies tanto animales como vegetales de las cuales ya no es posible extraer las esencias. Sin embargo, el GC-EM y haciendo equipo perfumistas-químicos se han encontrado materiales muy similares y otros tantos nuevos, lo que ha permitido adaptarse a todos estos cambios e innovar.

Una de las ventajas que ofrece el GC-EM es que nos habla de la pureza de los materiales, así, los perfumistas pueden trabajar con materiales de puridades fidedignas cosa que no se podía en el pasado, solo que tienen que estar dispuestos a desembolsar el precio que esto conlleva.

El GC-EM junto con otras técnicas analíticas ha jugado un papel importante en la intensificación de la preocupación pública por los efectos que los perfumes y los materiales integrantes de los perfumes pueden llegar a tener sobre la salud humana. Solo un pequeño grupo de especialistas tenían la posibilidad de detectar componentes menores dentro de las fragancias tales como aditivos y trazas residuales de materiales cuya función es la protección de grupos funcionales. Así, debido al rápido avance de las técnicas analíticas los especialistas comenzaron a encontrar cada vez más evidencias de impurezas potencialmente nocivas, incluso en alimentos que hasta ese momento habían estado libres de sospechas. Este clima

también ha influido sobre el modo en que el público percibe los productos de los que se ocupa el perfumista: cosméticos, y artículos de tocador, detergentes y otros productos de limpieza para el hogar. También aquí los aditivos e impurezas son vistos como factores graves de riesgo. El aroma es uno de los aditivos que ha adquirido protagonismo y motivo de preocupación. En consecuencia, hoy día, los perfumistas deben estar constantemente pendientes de los múltiples y siempre cambiantes requisitos relacionados con la seguridad exigida por la legislación de los países y por los clientes concretos para los que fabrican sus aromas (Calkin y Jellinek, 1996).

Aunado a la preocupación por los efectos nocivos en la salud, también ha aumentado la preocupación y el interés por el impacto medioambiental, productos sintéticos que reemplazan a productos de origen animal o vegetal. La base de este desarrollo no se encuentra en la química analítica pero su curso ha quedado marcado profundamente por ellos (Kazemi et al., 2022).

En el presente trabajo se enfoca la aplicación de la cromatografía de gases en el análisis de fragancias antes de ser adicionadas a algún otro producto cosmético o de limpieza. Además, se precisan los fundamentos teóricos y las bases técnicas del GC-EM para el análisis de fragancias.

3. FRAGANCIAS

Son compuestos químicos de origen natural o sintético que, por sus propiedades odoríferas o mejoradoras de olor, son utilizadas como ingredientes en la fabricación de perfumes y que usualmente poseen un olor agradable. Existen algunos compuestos como los indólicos que por sí solos tienen un olor desagradable pero que dentro de una fragancia aportan cualidades positivas en un acorde perfumístico.

3.1 Estructura de un perfume y acorde perfumístico.

Un perfume es una mezcla de materiales aromáticos (en este apartado, aromático se refiere a la acción de volatilizarse y ser percibido por el sentido del olfato) generalmente con una estructura bien definida y con una identidad adecuada si hablamos en términos de estética y percepción. Adicionalmente, un perfume debe reunir ciertas características técnicas como son Intensidad, difusividad, persistencia y debe mantener su esencia durante todo el proceso de evaporación. Con toda seguridad, un perfume no es solo una mezcla de materiales olorosos.

Cuando examinamos la estructura de un perfume con mayor detalle, podemos considerar la existencia de sus componentes principales bajo tres epígrafes básicos: El acorde perfumístico; la relación entre notas altas, medias y bajas; y el equilibrio entre simplicidad y complejidad.

3.2 Materias primas empleadas perfumera.

El olor, la volatilidad, la fuerza y estabilidad de los materiales empleados en la elaboración de fragancias están determinados por su estructura química. Hasta ahora han sido identificados más de 2500 materiales con capacidad de uso para perfumes, la gran mayoría proviene del metabolismo de las plantas, otros más provenían de animales sin embargo, gracias a los avances de la química sintética, se ha podido abandonar el uso de animales para la obtención de estos materiales, inclusive, ha avanzado tanto, que se ha logrado sintetizar un gran número de compuestos de plantas y otros tantos que no se encuentran en la naturaleza pero que si están basados en ella (Calkin & Jellinek, 1996).

3.2.1 Aceites Esenciales

Históricamente las plantas y sus componentes volátiles han sido la mayor fuente de fragancias para perfumes y cosméticos. Las plantas sintetizan una amplia gama de compuestos volátiles, es decir, que tienen presiones de vapor relativamente altas y que por lo tanto pueden evaporarse fácilmente al ambiente. Estos compuestos son generalmente de

naturaleza oleosa, de ahí el nombre que se le da al líquido que contiene los compuestos aromáticos de la planta o de partes de ella, los aceites esenciales (Séquin, 2017).

Los aceites esenciales se producen en las células oleosas, pelos glandulares, y células secretoras dentro de la epidermis o cavidades de la planta (Berger, 2007). La composición y/o proporción de los compuestos de un aceite esencial también es diferente en las distintas partes de la planta por ejemplo no es la misma composición que se extrae de las hojas que la que se obtiene de las semillas o la raíz. También, dicha proporción está determinada por el tipo de planta, su edad, fase de crecimiento y las condiciones climáticas ambientales (Séquin, 2017).

Tradicionalmente son extraídos mediante destilación por arrastre de vapor o por extracción con solventes para posteriormente pasar por una destilación fraccionada. También se utilizan técnicas de expresión en el caso de los aceites de cáscara y otros procesos que involucran extracción con fluidos supercríticos y microondas, estos últimos requieren de mucho menor tiempo y energía. Diversas investigaciones demuestran que la composición de los aceites esenciales y extractos puede variar de acuerdo con el método de extracción utilizado. Aunque estas variaciones puedan no ser importantes, son detectables por técnicas sensibles como la cromatografía de gases. Las variaciones radican en diferencias en la proporción de los compuestos e incluso en el número de compuestos (Safaralie et al., 2008; Yamini et al., 2008)

Los aceites esenciales son complejas mezclas de compuestos, pueden llegar a ser identificados cientos de compuestos en un solo aceite esencial. Muchos compuestos son comunes en distintos olores de plantas, pero en concentraciones diferentes. Por ejemplo, el α -pineno es el componente mayoritario del aceite de pino, pero también se encuentra en un porcentaje de 40 a 60 % en el romero y a nivel de trazas en los aceites de rosas y lavanda. La rosa damascena, la mayor fuente de aceite de rosa, puede contener 20% de geraniol y 40% de citronelol y pequeñas cantidades, a veces en trazas de numerosos compuestos volátiles.

Las moléculas que comprenden los compuestos volátiles de las plantas y que por lo tanto son de interés perfumístico, comparten muchas propiedades químicas a pesar de su amplia diversidad estructural. Son generalmente moléculas orgánicas pequeñas de hasta 15 átomos de carbono. Al ser principalmente moléculas hidrocarbonadas son por lo tanto de naturaleza no polar e insolubles o ligeramente solubles en agua. Existen fuerzas de atracción entre las moléculas determinadas por los grupos funcionales presentes como grupos alcoholes, aldehídos, cetonas o éster que permiten interacciones dipolo-dipolo y puentes de hidrógeno. Otra característica muy importante es que tienen puntos de ebullición bajos. A continuación, se describen las principales familias de compuestos encontrados en las fragancias de las plantas, la mayoría de estas, son componentes principales en la composición de perfumes.

3.2.2. Terpenos

Por mucho es el grupo más amplio de componentes volátiles de las plantas y son también conocidos como isoprenoides. El nombre terpeno proviene del aceite de turpentino, una mezcla terpenos aislada de pinos con un olor característico. La unidad estructural básica de los terpenos es el isopreno, una molécula de 5 carbonos que resulta de rutas metabólicas específicas de carbohidratos y que lleva a la formación de terpenos gracias a la fotosíntesis. La mayoría de los terpenos volátiles pertenece a la clase “monoterpenos” los cuales están compuestos por 10 átomos de carbono, es decir, 2 unidades de isopreno. Ejemplos de monoterpenos presentes en aromas de flores, hojas y que son ampliamente utilizados en la perfumería se describen en la figura 1. Grupos funcionales como alcoholes y cetonas contribuyen a percibir los aromas de estas moléculas como placenteros.

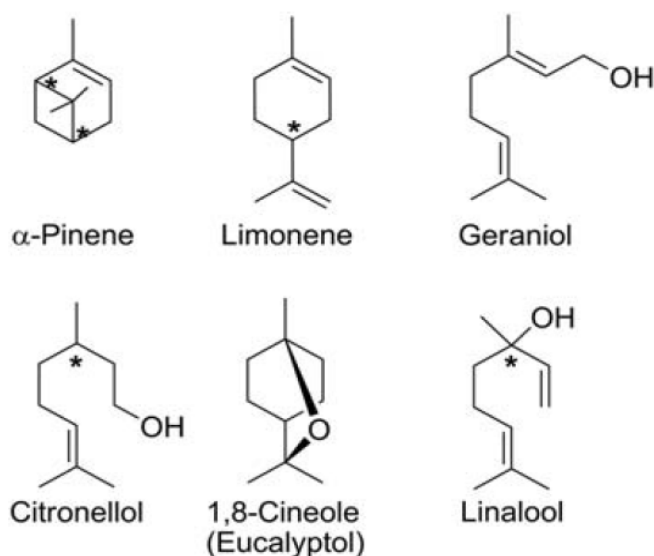


Figura 1. Ejemplos de isoprenoides volátiles de plantas (Séquin, 2017)

Muchas moléculas de monoterpenos son asimétricas (los centros quirales se encuentran marcados con un asterisco en la imagen 1). Esta asimetría puede afectar la forma en la cual percibimos su aroma. Por ejemplo (R) o (-) Linalol es el responsable del aroma maderoso presente en el aceite de lavanda. Su enantiómero (S) o (+) Linalol se encuentra en el cilantro y su aroma es descrito como floral dulce. Las plantas pueden contener un enantiómero exclusivamente o bien una mezcla racémica de ambos. Los aceites de *Eucalyptus spp.* contienen mezclas racémicas de ambas formas de α -pineno. Curiosamente, los aceites de los pinos norteamericanos contienen un enantiómero del α -pineno, mientras que el aceite de los pinos europeos posee el otro enantiómero.

Un pequeño grupo de isoprenoides volátiles comprende los sesquiterpenos, con 15 átomos de carbonos, son resultado de tres unidades de isopreno. Estas moléculas todavía son

suficientemente pequeñas para evaporarse a elevadas temperaturas. Un ejemplo de estos es el cariofileno, encontrado en el clavo y en los crisantemos, con su típico olor de clavo. Moléculas más grandes de terpenos con cuatro o más unidades de isopreno no son volátiles a temperatura ambiente.

3.2.3 Alcoholes, aldehídos y ésteres alifáticos

No solo los terpenos son componentes de las fragancias florales, también alcoholes y aldehídos simples con aromas que resultan placenteros al olfato. Cis-3-Hexenol es producido por muchas plantas y es también un ingrediente común en perfumes, tiene un aroma de pasto recién cortado. El Octanal es un aldehído con olor frutal que se encuentra comúnmente en los cítricos. Los ésteres se encuentran particularmente en las frutas maduras, como el etil-2-metilbutirato en las manzanas, haciéndolas atractivas para la alimentación de animales y humanos.

3.2.4 Aromáticos volátiles

Aromáticos en ambos sentidos, por un lado, son compuestos con aromas placenteros y por otro se entiende el contexto de compuestos con un anillo de benceno. Como el acetato de bencilo es el mayor componente de la fragancia del jazmín. El eugenol con su aroma de clavos y el cinamaldehído con el olor de la canela pertenecen a la familia de fenilpropanoides.

3.2.5 Volátiles nitrogenados y sulfurados.

Los componentes florales que contienen nitrógeno o azufre (fig. 2) contribuyen a los aromas de plantas que son atractivas para moscas o escarabajos, pero generalmente estos olores no son placenteros para los humanos y por lo tanto son de menor interés perfumístico.

El indol forma parte de la fragancia de los jancitos y tiene en si un olor de heces que, en bajas concentraciones exhibe un olor floral. En una mezcla puede contribuir al característico racimo de aromas de una esencia floral.

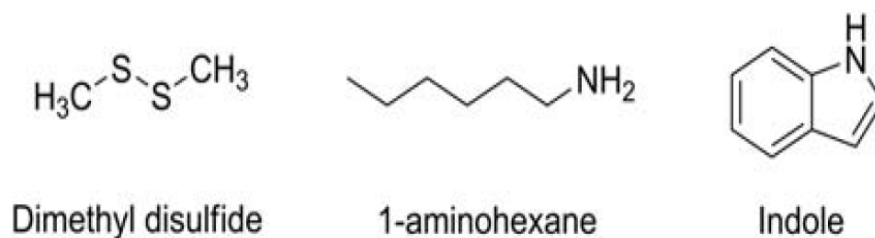


Figura 2. Ejemplos de compuestos volátiles con nitrógeno y azufre (Séquin, 2017)

3.2.6. Sintéticos

Actualmente el 90% de los materiales utilizados en la perfumería son de origen sintético. Un alto porcentaje de ellos no se utilizan para perfumes finos, pero si, en otros productos como jabones, shampoos, geles de baño, jabones de lavanderas y una infinidad de perfumes baratos donde las fragancias naturales no son necesarias (Séquin, 2017).

4. La Cromatografía de Fragancias.

Para que las empresas puedan colocar una fragancia en el mercado es primordial cumplir con una serie de requisitos que determinan la calidad de los productos, dentro de estos requisitos se incluyen cumplimiento con leyes nacionales e internacionales en el caso de que se trate de una empresa transnacional. Uno de los documentos más importantes para dar cumplimiento legal es el certificado de análisis, el cual, contiene los resultados de los análisis de los laboratorios de control de calidad que garantizan, que dicho producto cumple con las especificaciones de calidad. Existen tres categorías de análisis de laboratorio, las cuales son: 1) Análisis fisicoquímico (que incluye determinaciones colorimétricas, densidad, acidez y en ocasiones formación de peróxidos), 2) Análisis cromatográfico (exclusivamente cromatografía de gases acoplado a masas) y 3) Análisis sensorial, en el cuál, un grupo de evaluadores sensoriales olfatean los materiales y evalúan su aspecto visual. Las determinaciones de las tres categorías arrojan un conjunto de datos que se deben interpretar para tomar decisiones tales como liberar un producto o rechazarlo. Las tres categorías son muy importantes en su papel, sin embargo, la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) es el análisis más sofisticado y de mayor valor ya que por su complejidad, es el que provee de mucha más información que las otras dos (Van Asten, 2002).

La cromatografía de gases (CG) es una de las técnicas analíticas más importantes y ampliamente utilizadas en la industria de fragancias y es ideal para los compuestos volátiles que son la base de la industria perfumera. La CG permite separar, identificar y cuantificar una mezcla compleja de cada uno de sus componentes.

La CG o “cromatografía gas-líquido”, es una técnica que se basa en la partición de los analitos entre una fase móvil (un gas como helio, hidrógeno o nitrógeno) y una fase estacionaria líquida, la cual se encuentra unida químicamente a las paredes de una columna de sílica. El tiempo que le toma a un componente eluir de la columna (tiempo de retención) es reproducible bajo condiciones idénticas de reproducción y es el principio físico básico de una

bien establecida técnica CG. El tiempo de retención es una buena guía para la identificación de un componente, comparándolo con un estándar conocido (Sell, 2006).

4.1 El Cromatógrafo de Gases

El cromatógrafo de gases es el instrumento que reúne todos los requerimientos y sistemas para que la cromatografía se lleve a cabo. Este consta a grandes rasgos de 4 sistemas que funcionan en conjunto: sistema de inyección, columna, detector y software que se describen a continuación.

4.1.1 Sistema de inyección (Inyector)

Son muchos los sistemas de inyección utilizados en la CG para liberar sin alteración la muestra en la columna. El método convencional de inyección (figura 3) es simplemente inyectar un volumen pequeño ($1\mu\text{L}$) de una dilución de la muestra usando una jeringa con una aguja muy fina, la cual, penetra un bloque de silicón y libera la muestra dentro de una cámara caliente donde es vaporizada y acarreada hacia el interior de la columna por la corriente de un gas acarreador (Fase móvil). Una parte del gas acarreador que contiene la muestra vaporizada puede ser dividida del flujo principal de la columna y ventada para reducir la cantidad de muestra que es liberada a la columna. Lo anterior se conoce como inyección dividida o “split injection” y es adecuada para casi todos aquellos materiales líquidos o solubles en acetona, excepto para muestras que puedan contener trazas de contaminantes no volátiles ya que estos se depositan en la cámara de vaporización del inyector y no alcanzan la columna (Sell, 2006).

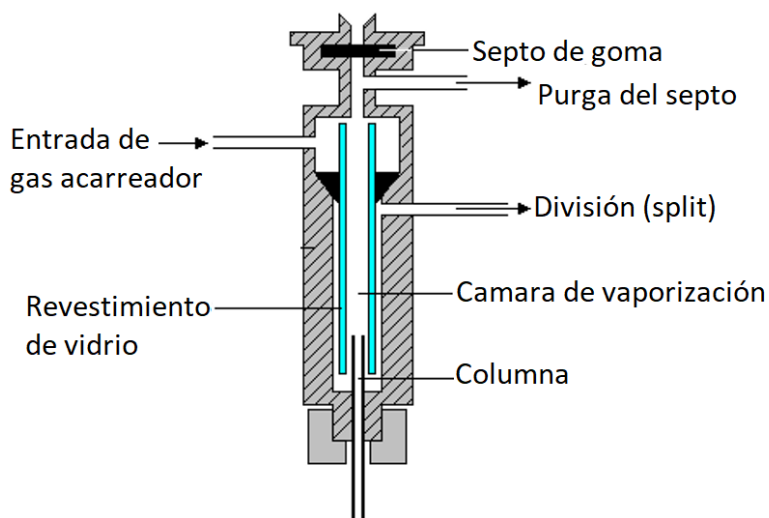


Figura 3. Inyector con y sin dilución, adaptado de (<https://teaching.shu.ac.uk/hwb/chemistry/tutorials/chrom/gaschrn.htm>, 2023)

La temperatura del inyector es elevada, típicamente 250 °C, lo cual hace que este método no sea adecuado para analitos que son susceptibles a la degradación térmica. Para materiales termosensibles es preferible inyectar la muestra directamente en la columna con ayuda de una aguja fina. Este método es adecuado para muestras muy diluidas ya que permite liberar mayor cantidad dentro de la columna, pero es menos adecuado para muestras sucias que contienen contaminantes no volátiles y que se pueden acumular en la columna.

4.1.2 Columnas y fases estacionarias

La columna para cromatografía de gases consta de dos partes principales: el tubo y la fase estacionaria. Como se puede observar en la figura 4, una película delgada (de 0,1 a 10,0 μm) de un polímero de alto peso molecular térmicamente estable recubre la pared interna del tubo de pequeño diámetro (de 0,05 a 0,53 mm de diámetro interno), este recubrimiento polimérico se llama fase estacionaria. El gas que fluye por el tubo se llama gas portador o fase móvil. Las columnas capilares de pared abierta y recubierta conocidas como “WCOT” son las más utilizadas para el análisis en la industria de las fragancias. Estas columnas están hechas de un tubo de sílica, cuyas paredes internas están cubiertas por una delgada capa de fase estacionaria y en el exterior cubiertas con poliamida para su protección. Generalmente tienen una longitud de 25 a 60 m, con un diámetro interno de 0.53 a 0.1 mm (figura 5). La composición química de una amplia variedad de fases estacionarias está basada en dimetil siloxano con sustituyentes de fenilo. Tras su introducción en la columna, las moléculas de los solutos se distribuyen entre las fases estacionaria y móvil. Las moléculas de la fase móvil descienden por la columna y las moléculas de la fase estacionaria permanecen inmóviles temporalmente. Dado que algunas de las moléculas de la fase móvil se desplazan por la columna, pueden chocar con la fase estacionaria e introducirse en esta. Al mismo tiempo, algunas de las moléculas de los solutos pueden salir de la fase estacionaria e introducirse en la fase móvil. Esto ocurre miles de veces para cada molécula de soluto a medida que pasa por la columna (Sell, 2006).

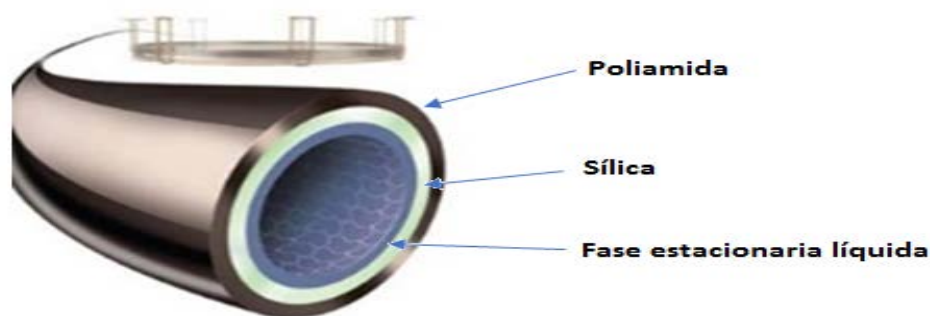


Figura 4. Estructura de una columna capilar. Adaptada de LIBRETEX CHEMISTRY (https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_%20Analytical_Chemistry%29/Instrumentation_and_Analysis/Chromatography/Gas_Chromatography, 2023)

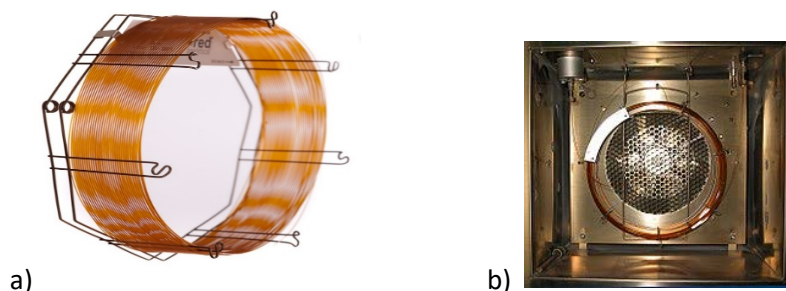


Figura 5. A) Columna capilar B) Columna capilar montada en el horno del cromatógrafo de gases. (Tomada de <https://www.goconqr.com/diapositiva/19402853/cromatografia-de-gases>, 2023)

4.1.2.1 Polaridad de la fase estacionaria

La polaridad de la fase estacionaria se determina mediante la polaridad de los grupos sustituidos y sus cantidades relativas. En la figura 6 se muestran diferentes fases estacionarias en orden creciente de polaridad.

Non Polarity					Mid				
DB-1	DB-5	DB-XLB	DB-35	HP-Chiral 10 β	DB-17	DB-TPH	DB-502.2	DB-VRX	DB-1301
HP-1	HP-5		DB-35ms	HP-Chiral 20 β	DB-17ms		HP-VOC		DB-624
DB-1ms	DB-5ms		HP-35		DB-608				HP-Fast Residual Solvent
HP-1ms	HP-5ms				HP-50+				
DB-2887	HP-5ms Semivol				DB-17ht				
DB-Petro	DB-5.625								
DB-PONA	DB-5ht								
DB-HT Sim Dis	Ultra 2								
DB-1ht	HP-PASS								
Ultra 1	DB-EVDX								

Polarity					High Polarity				
DB-1701	DB-ALC2	DB-225	DB-ALC1	DB-Dioxin	DB-200	DB-210	DB-23	HP-88	DB-WAX
DB-1701P		DB-225ms							DB-WAXetr
CycloSil- β		HP Blood Alcohol							HP-INNOWax
Cyclodex- β									DB-FFAP
									HP-FFAP
									DB-WaxFF

Figura 6. Tabla de polaridad de fases estacionarias, Adaptada de (Agilent Technologies, s/f, 2010)

La polaridad de la fase estacionaria es tan solo uno de los muchos factores que influyen en la retención y la separación. Aunque la polaridad no está directamente relacionada con la selectividad, tiene un efecto considerable en la retención del compuesto y, por consiguiente, en la separación. Por lo que uno de los errores que se presentan frecuentemente es la selección de columnas de polaridad incorrecta (Agilent Technologies, 2023).

En el caso de los compuestos con un nivel de volatilidad similar, la mayor retención se obtiene para los solutos con polaridades similares a las de la fase estacionaria. Es decir, los compuestos polares presentan una mayor retención en una fase estacionaria polar que en una fase estacionaria menos polar y viceversa. Este efecto se puede observar en la figura 7. Los cambios en la retención y el orden de elución se deben en gran medida a los cambios en la polaridad de la fase estacionaria. Los cambios en la cantidad de sustitución del grupo fenilo, las interacciones de los enlaces de hidrógeno y dipolares también influyen en los cambios. No obstante, es difícil evaluar la magnitud de estas influencias individuales. Además de la retención, la polaridad de la fase estacionaria influye en otras características de la columna. Hay una relación general entre la polaridad de la fase estacionaria y la vida útil, los límites de temperatura, el sangrado y la eficiencia de la columna. La vida útil, los límites de temperatura y la eficiencia de la columna tienden a ser superiores en el caso de las fases estacionarias menos polares. Se trata de una tendencia general y no de un fenómeno invariable. En ocasiones, las fases estacionarias de bajo sangrado tienen un comportamiento contrario a esta tendencia.

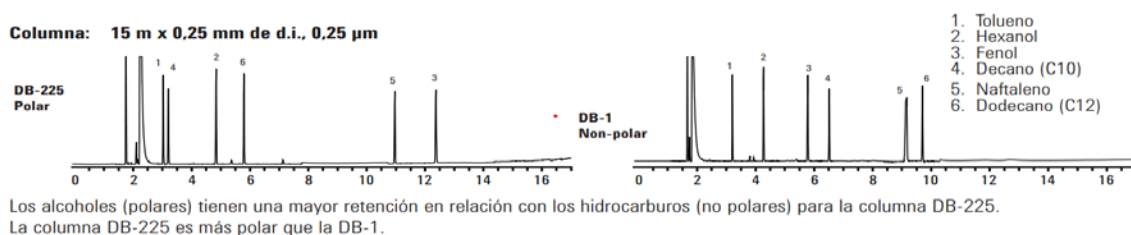


Figura 7. Relación de retención – polaridad. Tomada de (Agilent Technologies, s/f)

La elección de la fase estacionaria líquida (Figura 8) se basa en la regla «lo semejante disuelve a lo semejante». Las columnas no polares son las más indicadas para solutos no polares, como los que aparecen en la figura 9. Las columnas de polaridad intermedia son las mejores para solutos de polaridad intermedia, y las muy polares, para solutos muy polares. A medida que la columna envejece, la fase estacionaria se altera, dejando al descubierto grupos silanol (Si-O-H), y aumentando las colas en los cromatogramas. El contacto con el oxígeno a altas temperaturas también degrada la columna. Para reducir la tendencia a efluir que tiene la fase estacionaria a elevadas temperaturas, se puede modificar la superficie de la sílice, mediante enlaces covalentes con determinados reactivos o consigo misma, en cuyo

caso se habla de fase estacionaria enlazada o entrelazada, respectivamente (Agilent Technologies, n.d.).

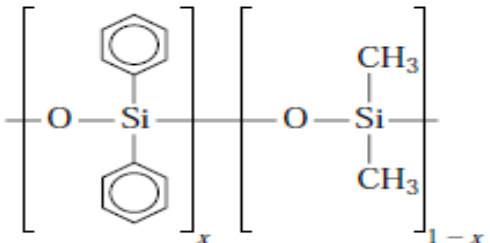
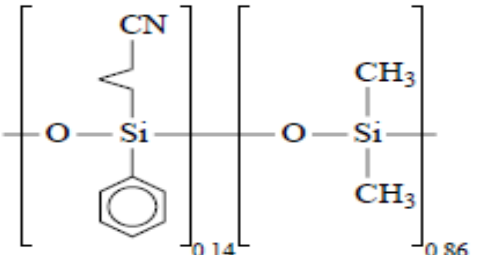
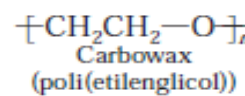
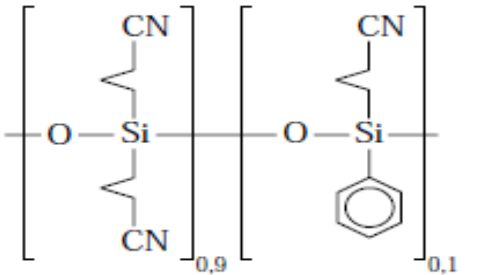
Estructura	Polaridad	Intervalo de temperatura (°C)
 <p>(Difenil)_x(dimetil)_{1-x} polisiloxano</p>	<p>$x = 0$ No polar</p> <p>$x = 0,05$ No polar</p> <p>$x = 0,35$ Polaridad intermedia</p> <p>$x = 0,65$ Polaridad intermedia</p>	<p>$-60^{\circ}-320^{\circ}$</p> <p>$-60^{\circ}-320^{\circ}$</p> <p>$0^{\circ}-300^{\circ}$</p> <p>$50^{\circ}-370^{\circ}$</p>
 <p>(Cianopropilfenil)_{0,14}(dimetil)_{0,86} polisiloxano</p>	Polaridad intermedia	$-20^{\circ}-280^{\circ}$
 <p>Carbowax (poli(etilenglicol))</p>	Muy polar	$40^{\circ}-250^{\circ}$
 <p>(Biscianopropil)_{0,9}(cianopropilfenil)_{0,1} polisiloxano</p>	Muy polar	$0^{\circ}-275^{\circ}$

Figura 8. Fases estacionarias de uso frecuente en cromatografía de gases, tomada de (HARRIS, 2003)

No polares	De polaridad intermedia débil
Hidrocarburos saturados	Éteres
Hidrocarburos olefínicos	Cetonas
Hidrocarburos aromáticos	Aldehídos
Halocarburos	Ésteres
Mercaptanos	Aminas terciarias
Sulfuros	Nitrocompuestos (sin átomos α -H)
CS ₂	Nitrilos (sin átomos α)
Polaridad intermedia fuerte	Muy polares
Alcoholes	Polihidroalcoholes
Ácidos carboxílicos	Aminoalcoholes
Fenoles	Hidroxiácidos
Aminas primarias y secundarias	Ácidos polipróticos
Oximas	Polifenoles
Nitrocompuestos (con átomos α -H)	
Nitrilos (con átomos α -H)	

Figura 9: Polaridad de solutos, tomada de (HARRIS, 2003)

4.1.2.2 Índice de Kovats

El índice de Kovats es un método de cuantificación de los tiempos de elución relativa de los diferentes compuestos en cromatografía de gases, de forma que ayuda a identificar positivamente los componentes de una mezcla. Para proporcionar un medio fácil de identificar un compuesto desconocido, Kovats propuso un sistema de índices basado en los n-alcenos como sustancias de referencia, puesto que estos compuestos son químicamente inertes, solubles en las fases estacionarias comunes y no son polares. El índice de Kovats se calcula mediante la siguiente ecuación.

$$I = 100(n[\frac{\log R_{Xn} - \log R_z}{\log R_{z+n} - \log R_z}] + Z)$$

Donde

I= índice de retención de Kovats

n= número de átomos de carbono en el alcano más pequeño

R_x= tiempo de retención de la sustancia desconocida X

R_z= tiempo de retención del alcano normal que tiene z átomos de carbono

R_{z + n}= tiempo de retención de un alcano normal teniendo z + n átomos de carbono.

Las propiedades deseables de una fase estacionaria líquida e inmobilizada en una columna de sílica incluyen: 1) Baja volatilidad (idealmente, el punto de ebullición del líquido debe ser 100 °C más alto que la temperatura máxima de operación de la columna); 2) Debe tener estabilidad térmica y 3) ser químicamente inerte (Hashemi, 2018).

4.1.3 El Detector

Los detectores comúnmente más utilizados en CG de fragancias son los de ionización de flama (FID, por sus siglas en inglés). La salida de la columna se encuentra direccionada a una cuidadosamente controlada flama de hidrógeno (figura 10). El potencial eléctrico a través de la flama es medido continuamente, ya que cambia cuando un compuesto orgánico eluye de la columna y es ionizado en la flama. La señal análoga del detector aparece en la pantalla de la computadora como una serie de picos a lo largo del análisis; los cuales corresponden a cada material eluido por la columna. Dicha señal se conoce como cromatograma. La amplitud de la señal es directamente proporcional a la cantidad de material pasando a través del detector y por lo tanto, el área bajo el pico en el cromatograma es proporcional a la cantidad del material en la muestra.

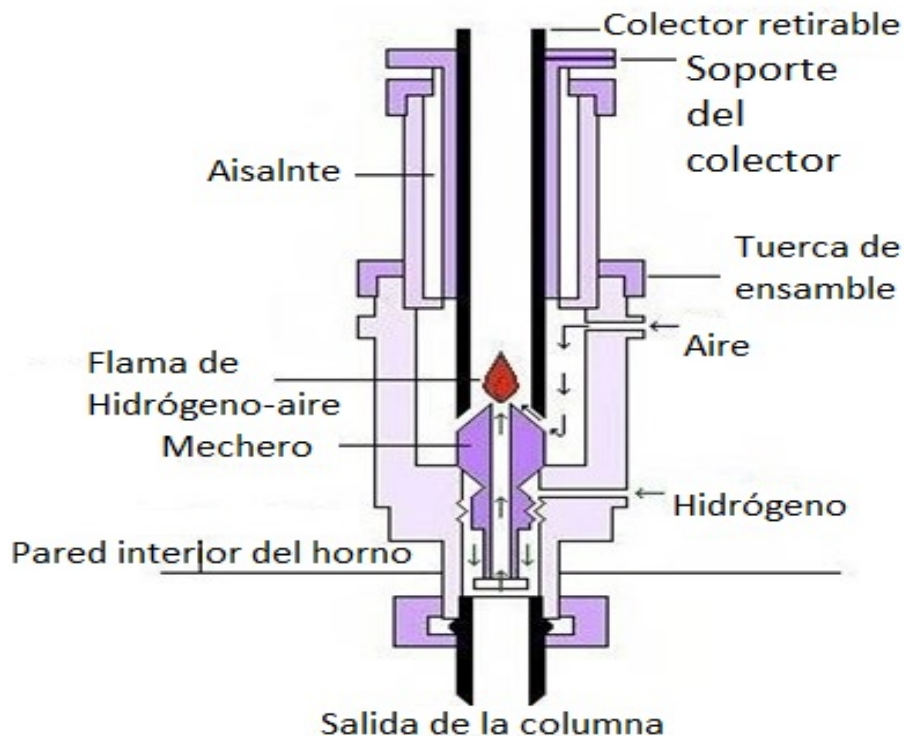


Figura 10. Detector de ionización de flama. Adaptada de QUEEN'S UNIVERSITY (<https://www.queensu.ca/asu/instrumentation/gc-msfidecdtd>, 2023)

Los datos son procesados usualmente por un programa integrador y los resultados son expresados comúnmente como un porcentaje relativo al total de área de picos (% RPA), como una medida simple de los componentes en la muestra.

4.2 El Cromatograma

El cromatograma es el resultado gráfico de la separación de los componentes de una mezcla mediante cromatografía. En el eje x se encuentra el tiempo de corrida mientras que en el eje y se encuentra la señal del detector generalmente en milivolts (mV).

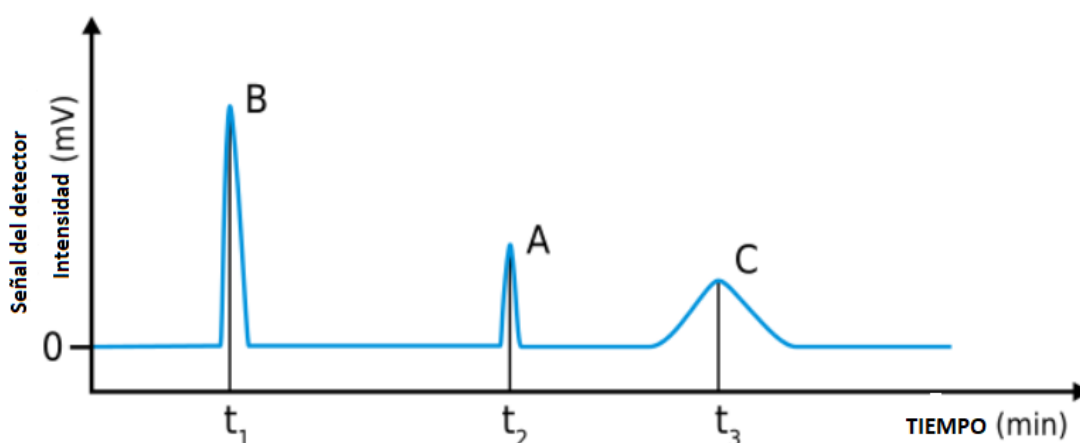


Figura 11. Cromatograma típico. Tomada de: Heliagon [(CC BY-SA 3.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0>))]. From Wikimedia Commons

La interpretación de los cromatogramas es el trabajo principal del analista READI. Saber leer un cromatograma permite discernir entre la inconsistencia de algún material o un error en el sistema analizador, esto se expondrá con mayor detalle en el capítulo 7.

Acoplar una columna de CG a un espectrómetro de masas (CG-EM) provee una poderosa combinación, la cual puede indentificar y cuantificar casi todos los compuestos en una mezcla compleja (ej., un aceite esencial o un perfume), gracias a que posee como referencia librerías de espectros de masas de compuestos conocidos. La cuidadosa investigación del espectro de masas puede ser utilizado deductivamente para determinar una posible estructura para un material desconocido usando las teorías de fragmentación para identificar componentes subestructurales de una molécula.

El uso de detectores específicos de nitrógeno o de azufre permite detectar pequeñas cantidades de estos átomos en las moléculas. Estos átomos a menudo tienen olores muy potentes; por ejemplo el 2-isobutil-3 metoxipirazina del aceite de gálbano tiene una poderosa

nota verde y el 1-para-menteno-8-tiol tiene una fuerte nota con olor a uva en concentraciones del orden de partes por millón.

Otra adaptación muy importante empleada en la industria de las fragancias es la cromatografía olfativa o “GC-sniffing”. El efluente de la columna es dividido entre un detector convencional y un puerto olfativo el cual dispone los componentes individuales para ser olidos por la nariz humana la cual es más sensible para ciertos materiales que los más sofisticados detectores. Si la nariz pertenece a un perfumista, entonces el olor puede ser reconocido y descrito inmediatamente. Esto es particularmente útil cuando se intenta determinar el olor de un solo componente en una mezcla compleja, ya que la cromatografía olfativa provee información con unos cuantos microgramos de muestra ya que de otra manera, se necesitarían varios gramos de muestra para poder aislar y cuantificar el material, sin mencionar el tiempo que este procedimiento requiere (Sell, 2006).

5. Espectrometría de Masas

Como ya se había mencionado, el acoplamiento de la técnica de espectrometría de masas a la cromatografía de gases provee la más poderosa herramienta para determinar la composición y pureza de un perfume. Ya sea para análisis de costos o para el control de calidad, las casas perfumeras, la industria del cuidado del hogar y las compañías dedicadas al cuidado personal utilizan las columnas capilares en la cromatografía de gases con detector de ionización de flama y la detección por espectrometría de masas. La muestra de perfume es, después de una apropiada dilución, analizada mediante CG en al menos dos columnas diferentes: una de características no polares (por ejemplo, de polidimetil siloxano) y una de características polares (polietilenglicol) para posteriormente pasar al detector de EM. Mientras la CG permite la separación y cuantificación de complejas muestras de aromas, la espectrometría de masas es utilizada para la identificación de compuestos individuales.

La espectrometría de masas se fundamenta en la obtención de iones gaseosos a partir de moléculas orgánicas en fase gaseosa, en presencia de un campo magnético los iones se separan de acuerdo con su masa y su carga.

La espectrometría de masas provee la masa molecular y ofrece información valiosa acerca de la fórmula molecular usando una muestra en cantidades muy pequeñas. En el espectrómetro de masas, se hacen incidir electrones de alta energía sobre una muestra, lo cual rompe las moléculas, se miden las masas de los fragmentos y esta información se utiliza para reconstruir la molécula.

5.1. Espectrómetro de masas.

Un espectrómetro de masas ioniza las moléculas al alto vacío, clasifica los iones de acuerdo con sus masas y registra la abundancia de iones de cada masa. Un espectro de masas es la gráfica trazada por el espectrómetro de masas, con las masas graficadas en el eje x y el número relativo de cada masa en el eje y .

La ionización por impacto electrónico es la técnica más utilizada para formar iones, mientras que la deflexión magnética es la técnica utilizada para separarlos. En la fuente de iones, la muestra se bombardea con un haz de electrones. Cuando un electrón choca contra una molécula neutra, puede ionizar esa molécula desprendiendo un electrón.



Cuando la molécula pierde un electrón, se queda con una carga positiva y un electrón sin aparear. Por lo tanto, el ion es un catión radical.

Además de ionizar la molécula, el impacto de un electrón puede romperla. Este proceso de fragmentación da una mezcla de iones característica. El catión radical correspondiente a la masa de la molécula original se denomina *ion molecular*, que se abrevia M^{+} . Los iones de masas moleculares menores se denominan fragmentos (Wade, 2011).

5.2 Separación y detección de iones de masas diferentes.

Una vez que la ionización y la fragmentación hayan formado una mezcla de iones, estos iones se separan mediante deflexión magnética.

Después de la ionización, los iones con carga positiva son atraídos a una placa aceleradora con carga negativa, la cual tiene una abertura estrecha para permitir que algunos de los iones pasen. El haz de iones entra en un tubo de vuelo (Figura 12) al alto vacío, con una porción curva posicionada entre los polos de un imán. Cuando una partícula con carga pasa a través de un campo magnético, una fuerza transversal tuerce su trayectoria. La trayectoria de un ion más pesado cambia menos que la trayectoria de un ion más ligero.

La trayectoria de un ion depende de su proporción entre masa y carga, simbolizada como m/z . En esta expresión, m es la masa del ion (en unidades de masa atómica, u) y z es su carga

en unidades de carga electrónica. La gran mayoría de los iones tienen carga de +1, por lo que consideramos que sus trayectorias dependen solo de sus masas.

Al final del tubo de vuelo hay otra abertura. Seguida por un detector de iones conectado a un amplificador. La señal del detector es proporcional al número de iones que inciden sobre él. Al variar el campo magnético, el espectrómetro rastrea todas las masas de los iones posibles y genera una gráfica del número de iones de cada masa.

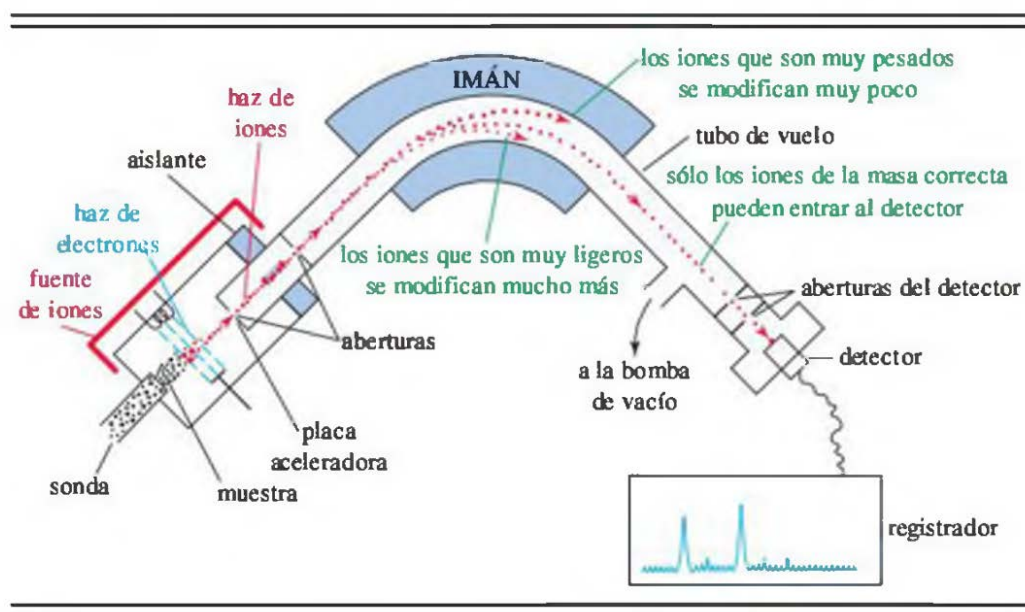


Figura 12. Diagrama de un espectrómetro de masas, tomada de Researchgate (https://www.researchgate.net/figure/Figura-4-Esquema-de-un-Espectrometro-de-Masas_fig4_290649179, 2023)

El espectrómetro de masas normalmente traza el espectro como una gráfica en una pantalla de computadora. Esa información se tabula y el espectro se imprime como una gráfica de barras o como una tabla que especifica las abundancias relativas. Los picos son las abundancias asignadas como porcentajes del pico más intenso, llamado pico base. El pico base no necesariamente corresponde a la masa del ion molecular. Simplemente es el pico más intenso, lo cual facilita que los demás picos se expresen en porcentajes.

El pico de un ion molecular (llamado pico precursor) se observa en la mayoría de los espectros de masas, lo que significa que un número detectable de iones moleculares (M^+) alcanza el detector sin fragmentarse. Estos iones moleculares por lo regular son las partículas de mayor masa en el espectro y (para los compuestos que no tienen nitrógeno) el ion molecular suele tener una masa de número par. El valor de m/z para el ion molecular proporciona de inmediato la masa molecular del compuesto.

La mayoría de los sistemas de CG-EM emplea un filtro de masa cuadrupolo (figura 13) para separar iones. Al alto vacío, los iones atraviesan longitudinalmente cuatro barras, a las cuales se les aplican voltajes variables. Los campos eléctricos variables ocasionan que los iones sigan orbitas complejas y solo una masa alcanza el detector en cualquier instante. Al escanear

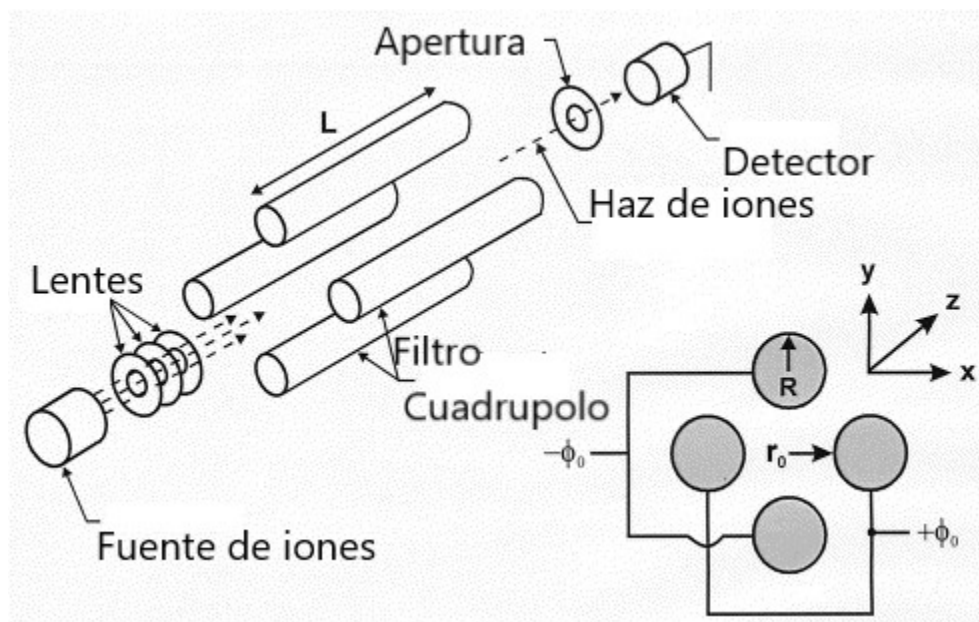


Figura 13. Diagrama de un filtro cuadrupolo de masas. Tomada de Sciencedirect, (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S138738069814174X>, 2024)

los voltajes, es posible medir un amplio rango de masas en menos de un segundo. De esa manera, se toman varios espectros de masas y se almacenan en un disco de computadora a medida que los componentes de la muestra pasan de la columna del cromatógrafo al espectrómetro de masas. Esta poderosa combinación CG-EM permite que se separen varios componentes de una mezcla por medio de la cromatografía de gases y que se identifiquen después mediante sus espectros de masas (WADE, 2017). Así un espectro de masas representa la abundancia relativa de los iones en función de su relación masa/carga. A continuación, se expone un ejemplo práctico de un espectro de masas de limoneno.

El limoneno, es un compuesto líquido translúcido con olor a limón. Pertenece al grupo de hidrocarburos terpénicos monocíclicos (figura 14). Este aparece abundantemente en muchos aceites esenciales y se obtiene en grandes cantidades como un subproducto en la producción de jugo de naranja. Su uso es de importancia en la producción de productos del hogar, cuidado personal y como componente de aceites esenciales artificiales (Surburg y Paten, 2006). Una característica peculiar del limoneno es que se encuentra junto con otros 25 compuestos, dentro de la lista de sustancias alergénicas que emite la directiva europea. Estos compuestos deben ser mencionados en los productos destinados para el cuidado personal ya que se han encontrado como los principales agentes causantes de reacciones alérgicas.

Limonene

- **Fórmula:** C₁₀H₁₆
- **Peso molecular:** 136.2340
- **IUPAC InChI Estándar:**
 - InChI=1S/C10H16/c1-8(2)10-6-4-9(3)5-7-10/h4,10H,1,5-7H2,2-3H3
 - [Descarga el identificador en un archivo..](#)
- **IUPAC InChIKey Estándar:** XMGQYMWDXHJM-UHFFFAOYSA-N
- **Número de registro CAS:** 138-86-3
- **Estructura química:**

InChI TRUST
CERTIFIED
2011

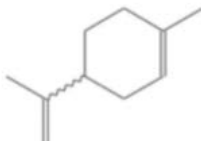


Figura 14. Estructura química del limoneno, tomada de NIST (<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C138863&Units=SI>, 2023)

LIMONEO Espectro de masas

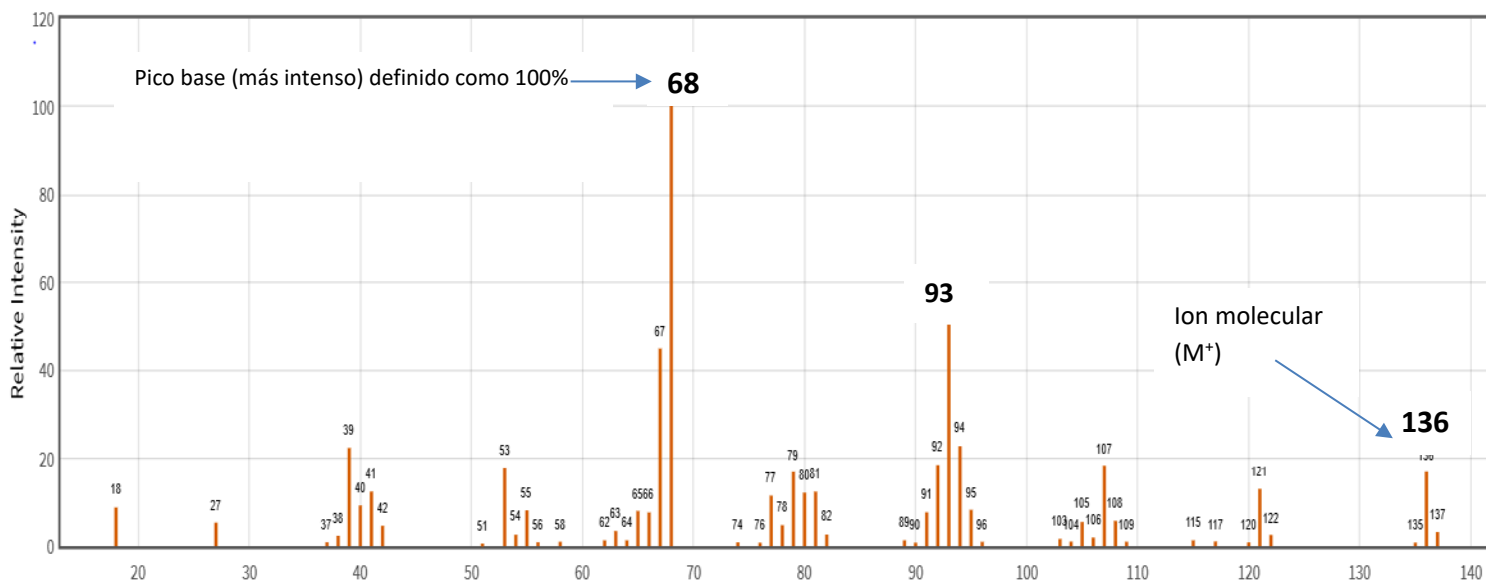


Figura 15. Espectro de masas (m/z) de limoneno representado en gráfica de barras. El ion principal corresponde al ion 68 mientras que el ion molecular corresponde al 136, tomado del NIST (<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?Name=LIMONENE&Units=SI>, 2023)

El bombardeo de moléculas de limoneno por electrones produce el ion molecular (136) y varios fragmentos (121, 107, 93, 58, etc.) con carga y sin carga, pero solo los fragmentos con carga positiva son detectados por el espectrómetro de masas (figura 15).

5.3 Determinación de la composición de fragancias mediante CG-EM

Para determinar la composición de una muestra de perfume, por ejemplo, para análisis de costos o control de calidad, las casas perfumeras y las compañías de cuidado personal y del hogar utilizan un enfoque similar basado en la cromatografía capilar con ionización de flama y detección por espectrometría de masas (figuras 16 y 17). Con el uso de índices de Kovats (KI) específicos para cada perfume y las bases de datos de EM, se puede saber la composición. La CG-EM también es útil en la formulación de perfumes, la exactitud del proceso de formulación está determinado principalmente por la calidad de las bases de datos y la experiencia de los formuladores. Los laboratorios de análisis de perfumes gastan mucho tiempo asegurando que sus librerías de EM y bases de datos se encuentren actualizadas y libres de datos erróneos o irrelevantes. Tales librerías contienen un promedio de 1000 a 3000 registros. Actualmente los perfumistas pueden usar hasta 5000 materias primas diferentes, aunque, solo alrededor de 1500 ingredientes son utilizados con frecuencia. Existe un reto especial en la identificación de aceites esenciales en perfumes complejos. Estos destilados o prensados en frío de productos naturales como flores y frutos pueden comprender hasta más de 50 componentes. Adicionalmente los compuestos principales suelen usarse a menudo en su forma sintética (Van Asten, 2022).

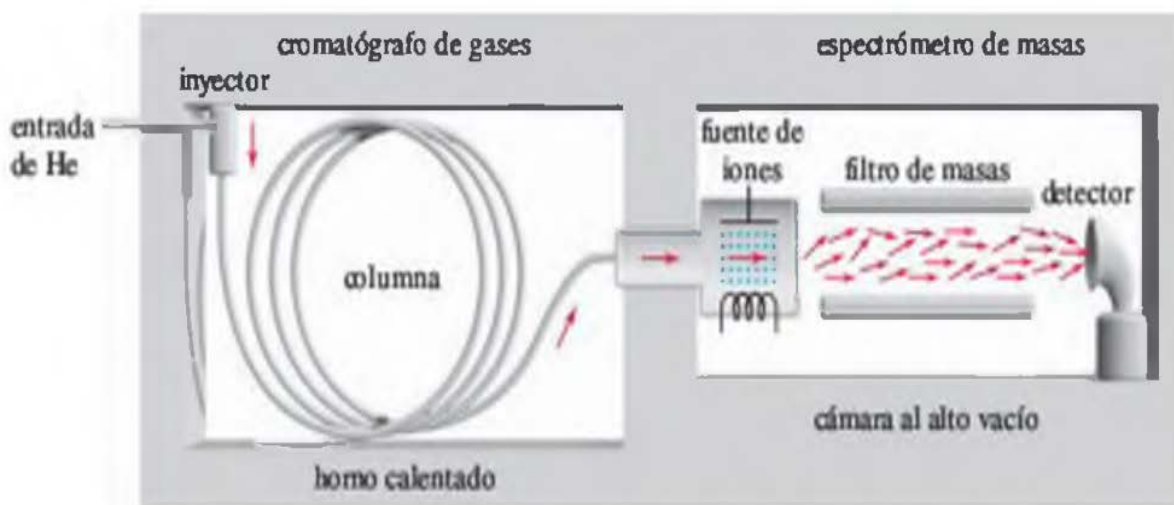


Figura 16. Diagrama de bloques de un cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas, adaptado de BINGHAMTON University (<https://chemiris.chem.binghamton.edu/XCMS/>, 2023)



Figura 17. Fotografía de un Cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas modelo AGILENT 7890B/5977A

6. Redes y recursos informáticos para el análisis e interpretación de la cromatografía de fragancias

Todas las empresas buscan optimizar sus procesos y recursos con el fin de obtener siempre la mayor utilidad y así mantener una posición competitiva en el mercado. El análisis e interpretación de la cromatografía de gases se volvió una tarea fundamental que demanda gran cantidad de tiempo en principio por la cantidad de muestras que se procesan a diario y posteriormente por la complejidad que pueda llegar a tener su interpretación. Con el afán de reducir el tiempo de análisis y costos, se creó el departamento de análisis remoto e interpretación de datos “READI” (por sus siglas en inglés), cuya tarea fundamental es el análisis e interpretación de la cromatografía de gases de los materiales empleados en la fabricación y desarrollo de fragancias de distintos laboratorios de control de calidad alrededor del mundo. Para realizar esta tarea es necesario utilizar diversas herramientas informáticas que permiten determinar si una fragancia cumple o no con las especificaciones establecidas. Estas herramientas interactúan entre sí en un ambiente virtual seguro donde es posible obtener información mejor clasificada que permite dar explicación a problemas encontrados en los productos finales.

6.1 Redes informáticas

Las redes de computadora, también llamadas de ordenadores o redes informáticas, son un conjunto de equipos conectados por medio de cables, señales, ondas o cualquier otro medio

de transporte de datos que comparten información. La información y las herramientas necesarias para el análisis remoto se encuentran interactuando en un mundo virtual, donde las compañías informáticas proveen recursos especializados (de acuerdo con las necesidades de los clientes) como: aplicaciones, servidores, dispositivos periféricos y las capacidades con los que cuenta una computadora en un ambiente seguro para las corporaciones.

De manera general y en un esquema tradicional, las empresas gastan todo tipo de recursos materiales (humanos y tecnológicos) en la infraestructura y mantenimiento de las tecnologías de la información (TIC) y tienen que agrupar todas las actividades que estas demandan en una sola área. Dicha área además de ser la responsable de solucionar los problemas de la infraestructura informática se ve en la necesidad de dedicar buena parte de su tiempo en las tareas de implementar, configurar, dar mantenimiento y actualizar proyectos relacionados con la infraestructura de su organización, lo cual, normalmente no supone un valor añadido en el balance final de la producción de esta.

La definición más utilizada de cómputo en nube es la establecida por el Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST por sus siglas en inglés), que lo describe como “un modelo que permite el acceso ubicuo, conveniente y bajo demanda de red a un conjunto de recursos informáticos configurables (por ejemplo, redes, servidores, almacenamiento, aplicaciones y servicios) que puedan ser rápidamente proveídos con esfuerzos mínimos de administración o interacción con el proveedor de servicios”.

Una analogía del cómputo en nube la hace Francisco Carlos Martínez en su artículo “Computo en nube: Ventajas y desventajas” (2010) donde relaciona el escenario de la provisión de recursos informáticos de manera similar a los servicios básicos de consumo por ejemplo; luz, agua, telefonía etc., donde los consumidores pagan por utilizar dichos servicios y dejan a los proveedores con toda la responsabilidad de generar, organizar y administrar todo lo necesario para que al final el usuario reciba lo acordado. Dicho de otra manera, el cómputo en nube es el espacio virtual, e intangible que se crea en internet a partir de la utilización e interacción de todo tipo de servicios y recursos informáticos (aplicaciones, servidores, almacenamiento, bases de datos, etc.) dispuestas por uno o varios proveedores que administran los accesos. Estos proveedores son responsables de la infraestructura y de mantener actualizados todos los servicios que brindan, así, la empresa u organizaciones que utilizan todos esos recursos pueden centrar su atención en actividades estratégicas, que tengan un impacto real, en este caso, es el de agilizar la detección y solución de problemas encontrados en el análisis cromatográfico de fragancias.

6.1.1 Tecnologías Web 3.0 o Web semántica y Web 4.0

Es posible decir que el empleo de diversas aplicaciones, bases de datos y demás servicios digitales en un ambiente seguro para la producción e interpretación de la información de la cromatografía es el resultado de al menos 3 etapas en la evolución del internet y la tecnología

Web (1.0, 2.0 y 3.0 o web semántica). En principio fue la Web 1.0 la que permitía un flujo de información con las páginas web, posteriormente en la web 2.0 comenzaban las redes sociales, y el flujo de información masivo e inmediato de una forma más interactiva (O'reilly, 2005). Hoy en día no hay un consenso de diferenciación entre la Web 3.0 y la web semántica, ya que los elementos están conectados de manera indisoluble entre ellos, sin embargo, un rasgo característico de la web 3.0 es el estar enfocado a la interpretación de grandes cantidades de información provenientes de bases de datos para producir mayor conocimiento de los problemas del día a día y dar solución a nuevos problemas que surgen de manera espontánea en el desarrollo y crecimiento de la industria.

Web 4.0 Se refiere a la próxima generación web, que se espera que sea aún más avanzada y sofisticada que la web 3.0. La web 4.0 se centra en la idea de una internet aún más integrada y conectada, en la que los dispositivos, los objetos y las personas están todos interconectados. Se espera que la web 4.0 permita una mayor automatización e inteligencia artificial en línea, lo que dará lugar a una experiencia aún más personalizada y eficiente para el usuario (Mert et al., 2020).

A continuación, se describen algunas de las aplicaciones y recursos tecnológicos de la ahora conocida Web 3.0 que interactúan para en el análisis e interpretación de la cromatografía de fragancias.

6.2 Citrix Netscaler

Citrix Systems, Inc. es una corporación multinacional fundada en 1989, que suministra tecnologías de virtualización de servidores, conexión en red y software como servicio e informática en la nube. En un servidor Citrix es posible cargar distintos tipos de aplicaciones especializadas en el análisis cromatográfico, por ejemplo, portales de internet para acceder de manera remota al software de cromatógrafos y espectrómetros de masas, bases de datos con información clasificada de diversos materiales, por mencionar algunas. Citrix provee el ambiente virtual y los recursos para que algunas de las aplicaciones utilizadas diariamente funcionen de manera eficiente y segura (Reuters, 2023)

6.3 CHEMLAUNCH™

ChemLaunch™ es un sistema seguro basado en Internet/Intranet (Red local o interna de una corporación) que permite a los laboratorios configurar, supervisar y controlar de forma remota una amplia gama de instrumentos analíticos en un entorno de servidor de terminal Citrix. Estos instrumentos incluyen cromatógrafos de gases, cromatógrafos de líquidos y espectrómetros de masas que ejecutan el software OpenLAB CD ChemStation Edition. La capacidad de incrementar la "comunicación remota" permite que otros sistemas de datos y técnicas de instrumentos se integren de manera similar. La capacidad de ChemLaunch™

permite a los usuarios acceder a sus CDS OpenLAB en cualquier lugar y en cualquier momento sin instalar software en una PC, lo que reduce los costos de validación.

El mantenimiento y las actualizaciones de software se pueden implementar de forma centralizada a través del servidor Citrix. Además de ayudar a los administradores de laboratorio a ejecutar más muestras sin aumentar los costos, ChemLaunch™ elimina la necesidad de una computadora en cada instrumento, lo que reduce aún más los costos y los requisitos de espacio.

El software modular Agilent OpenLAB CDS ChemStation Edition para control de instrumentos, adquisición de datos y administración de datos brinda flexibilidad para satisfacer las necesidades cambiantes de un laboratorio. El software se puede ampliar con módulos complementarios que incluyen administración de datos, almacenamiento de datos, funciones de cumplimiento normativo, validación de métodos y control de aplicaciones específicas (Chemlaunch, 2023).

6.3.1 MatchCompare

MatchCompare es una herramienta del software OpenLab CDS de Agilent que permite realizar una comparación entre dos cromatogramas, es decir, el de una muestra y una referencia con el objetivo de demostrar que dicha muestra posee la misma composición que la referencia. Primero una referencia es cargada bajo una serie de especificaciones o límites de tolerancia establecidos, esto es, cada límite corresponde al porcentaje de variabilidad permitido entre cada componente de la referencia y los componentes presentes en la muestra (figura 18).

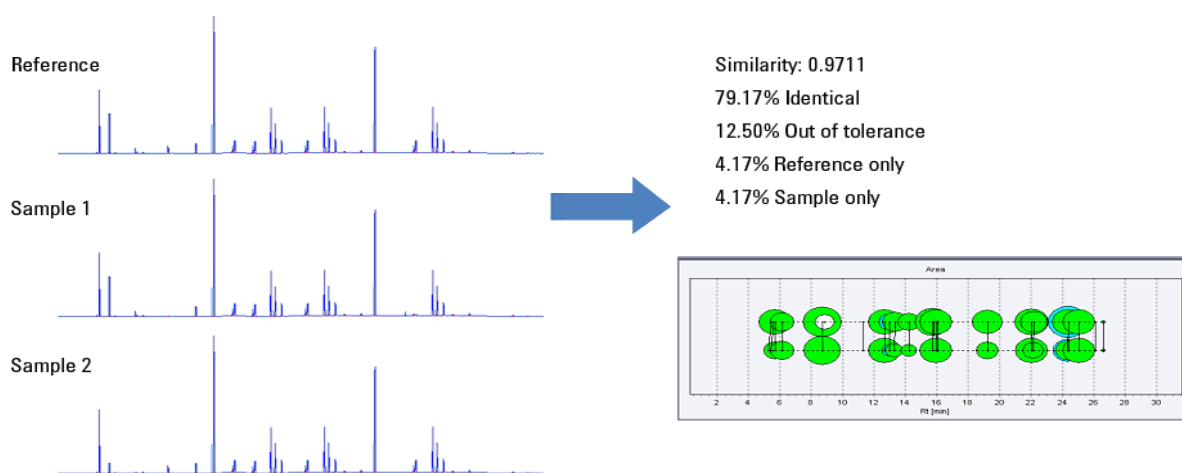


Figura 18. Comparación de dos muestras vs referencia. el programa muestra que hay una similitud el 97% entre los cromatogramas, 79.17% de los cuales se encuentran dentro de las tolerancias mientras que el 12.50% se encuentran fuera de ellas. Tomada de AGILENT MANUAL MATCHCOMPARE, 2023

Una vez realizada la comparación, MatchCompare muestra una tabla con los porcentajes de variabilidad entre los componentes de la muestra y la referencia (figura 19).

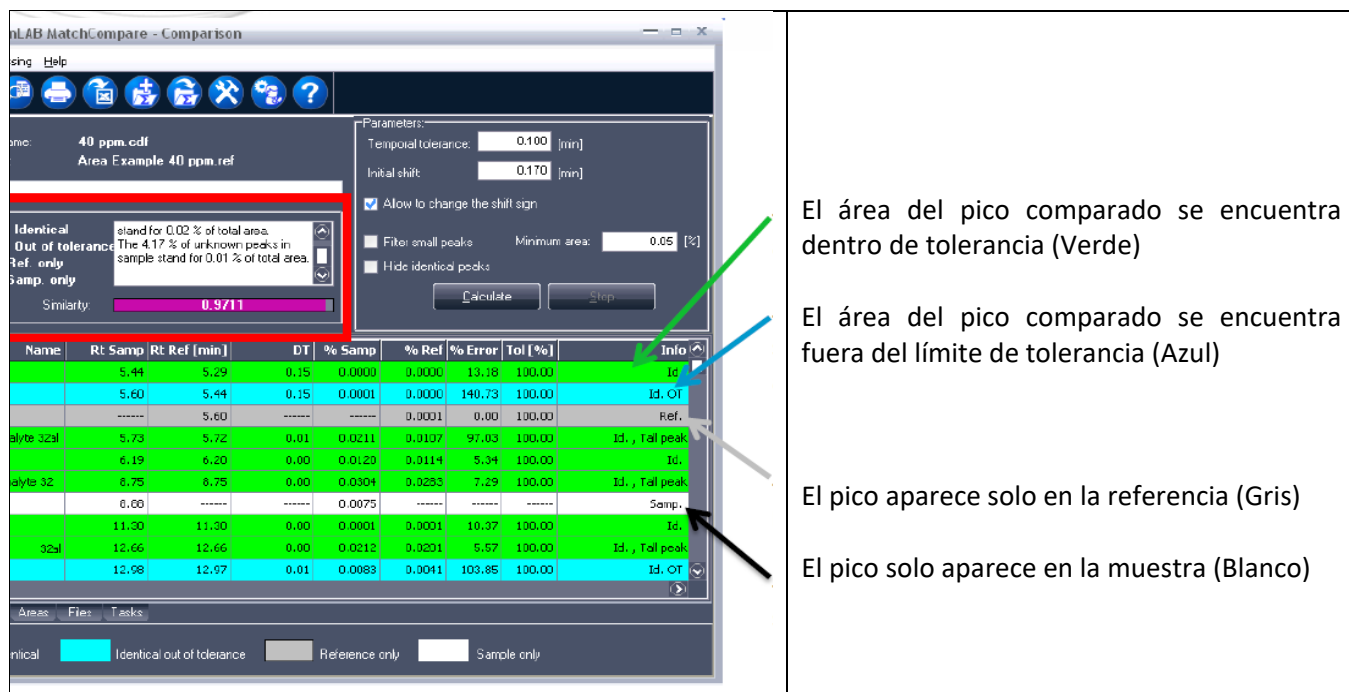


Figura 19. Descripción de los indicadores de diferencias entre muestra y referencia en MatchCompare, Tomada de AGILENT MANUAL MATCHCOMPARE, 2023

La comparación de MatchCompare entre cromatogramas está basada en el tiempo de retención y el porcentaje de área de cada pico. Las tolerancias o límites de variación pueden ser ajustadas según sea necesario (manual Agilent MatchCompare, 2023), por ejemplo, las tolerancias serán más estrictas en un análisis de fragancia fina que en una fragancia funcional empleada para darle aroma a un limpiador de pisos. El porcentaje de similitud entre la muestra y la referencia depende de que las condiciones de análisis como temperaturas, dilución, volumen de inyección y tipo de columna sean iguales tanto en la muestra como en la referencia.

La mayoría de las fragancias tienen una estructura o composición química sumamente compleja, como los aceites esenciales y los perfumes finos elaborados con ellos. Esto ocasiona que muchos de sus componentes no se puedan separar por completo en un análisis de rutina, como resultado, el software MatchCompare suele mostrar numerosas diferencias, incluso cuando la muestra comparada sea en realidad correcta (figura 20).

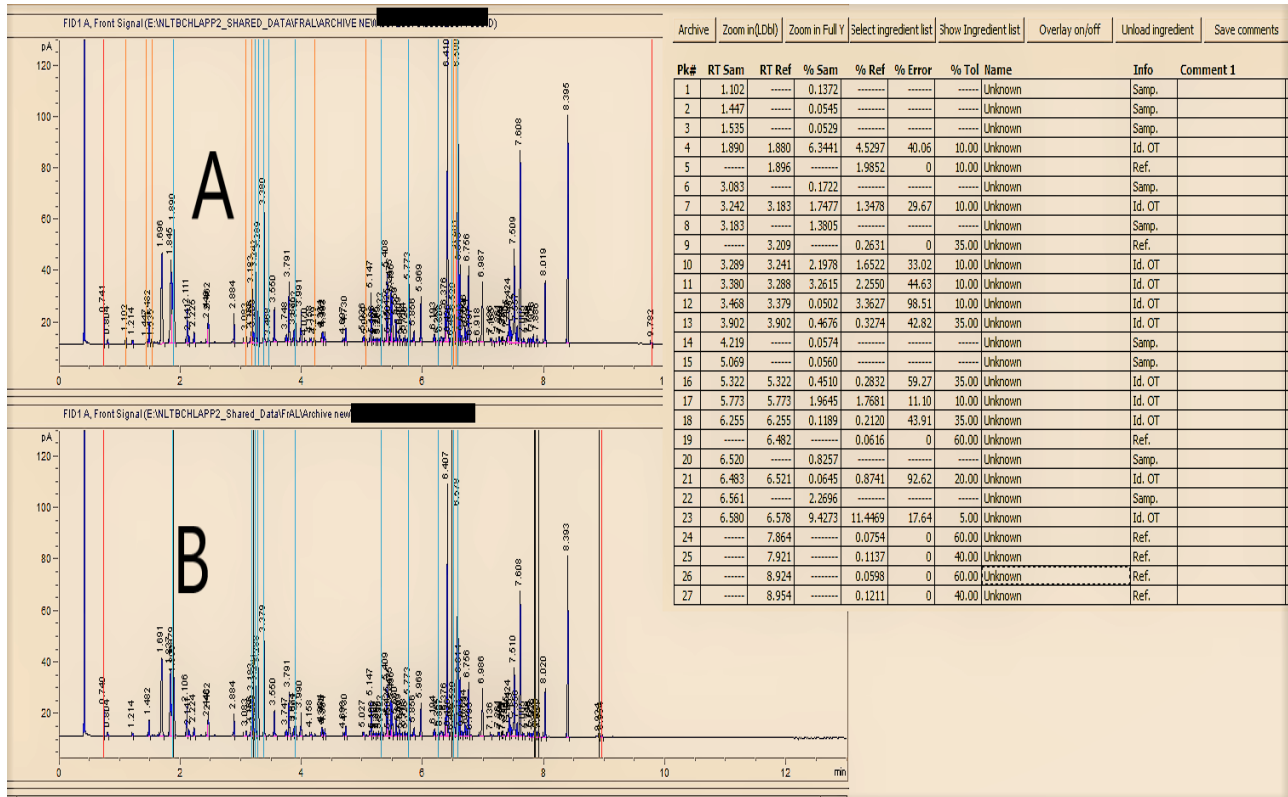


Figura 20. Fotografía de MatchCompare de una muestra compleja, del lado izquierdo se observan los cromatogramas de la muestra (arriba) y la referencia (abajo) con las diferencias encontradas representadas con líneas de colores, marcadores que el software interpreta como diferencias. En el lado derecho la tabla con los porcentajes de variación entre componentes.

En la figura 20 se muestra una comparación de una muestra (A) y una referencia (B) con muchas diferencias debido no a una mala adición de los componentes, más bien, se debe a que el software, no es capaz de identificar tantos materiales que co-eluyen, es decir “se confunde” con la gran cantidad de diferencias en la separación de los compuestos. Las coeluciones en el perfil cromatográfico se puede observar como una gran cantidad de diferencias significativas, aunque no lo sean. Es aquí donde radica el trabajo y la experiencia del químico READI, ya que su trabajo será analizar e interpretar si dichas diferencias corresponden en efecto a variaciones de materiales fuera de los límites establecidos, o bien, demostrar que el software no fue capaz de distinguir entre los distintos tipos de fenómenos fisicoquímicos que determinan un cromatograma de esta naturaleza.

El tiempo de retención de los materiales puede variar ligeramente entre cromatógrafos y también a lo largo del tiempo debido al desgaste de la columna y a pequeñas diferencias en la presión del gas acarreador. La calidad de los materiales puede variar también, por ejemplo, materiales como aldehídos y alcoholes almacenados por mucho tiempo pueden degradarse y formar éteres. También, los porcentajes entre los metabolitos de un aceite esencial pueden

variar de acuerdo con el método de extracción utilizado o a la temporada del año en que fue cosechada la planta de origen. Las variaciones entre la calidad de los materiales pueden inclusive depender de cada proveedor de estos. Todas estas variaciones tendrán un impacto y serán reflejadas en el resultado del MatchCompare por lo que una correcta y confiable interpretación determinará si dichas variaciones son aceptables o se rechazan.

6.4 Herramienta de deconvolución espectral (GC analyzer)

El GC Analyzer (analizador de cromatografía de gases) es una herramienta para el análisis de cromatografía de gases acoplada a masas que es de utilidad cuando existe la necesidad de identificar gran cantidad de compuestos y que además se encuentran coeluyendo. Esta herramienta está basada en la deconvolución de las señales producidas por el espectrómetro de masas luego de que una muestra se ha separado mediante cromatografía de gases. Para identificar y extraer la información cuantitativa de los metabolitos correspondientes, el espectro para cada metabolito individual debe construirse con base a los espectros compuestos. Este paso de construcción del espectro se denomina deconvolución.

6.4.1 Deconvolución

Para los datos de CG-EM, la deconvolución es el proceso de separar computacionalmente los componentes coeluyentes y crear un espectro puro para cada componente, específicamente para los iones extraídos del cromatograma (EIC por sus siglas en inglés) observados que resulta de dos o más componentes coeluyendo, la deconvolución calcula la contribución de cada componente al EIC (Du Y Zeisel, 2013).

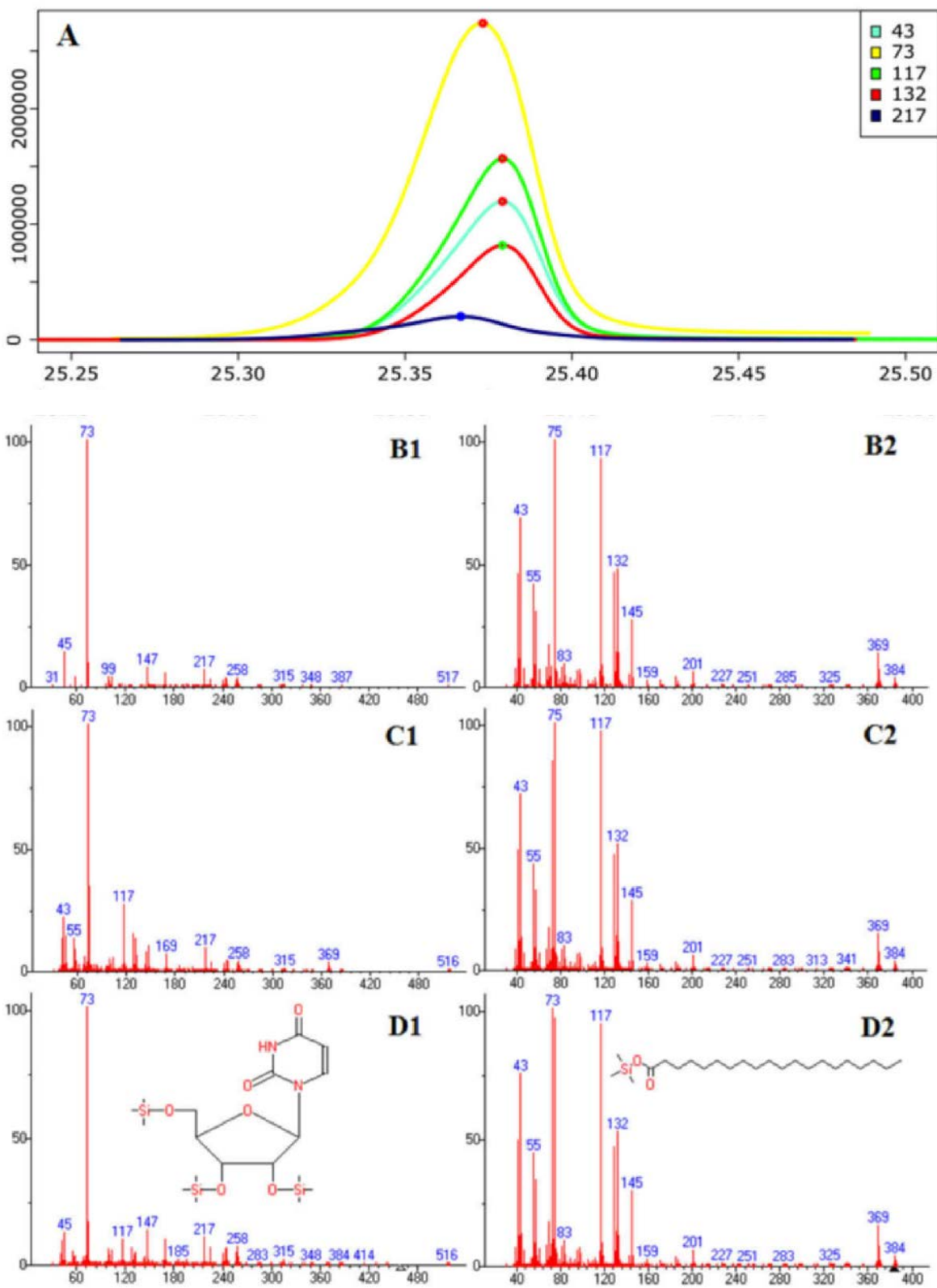


Figura 21. Ejemplo de deconvolución (Du & Zeisel, 2013) .

La figura 21 muestra la comparación de espectros de masas construidos y resultados de identificación de metabolitos posteriores con y sin deconvolución precisa de picos compartidos de dos compuestos coeluyentes, uridina (B1, C1) y ácido n-eicosanoico (B2, C2). (A) EIC sin procesar de masas seleccionadas. Las masas 43, 73 y 117 marcadas con círculos rojos son compartidas por ambos compuestos. La masa 217 es exclusiva de la uridina, mientras que la masa 132 es exclusiva del ácido n-eicosanoico. (B, 1 y 2) Espectros de masas construidos de uridina (B1) y ácido n-eicosanoico (B2) después de la deconvolución usando ADAP 1.0. Las masas compartidas 43, 73 y 117 solo se incluyen en el espectro del ácido n-eicosanoico o en el de la uridina. Sus puntajes coincidentes son 810 y 881, respectivamente. (C 1 y 2) Espectros de masas construidos después de la deconvolución que descompone los picos compartidos. Cada una de las masas compartidas, 43, 73 y 117, está incluida en los espectros tanto del ácido n-eicosanoico como de la uridina. Sus puntajes coincidentes son 909 y 948, respectivamente. (D 1 y 2) Espectros de referencia de una biblioteca interna (Du Y Zeisel, 2013).

El Analizador CG primero realiza la selección de picos buscando máximos locales de EIC. Una vez que se han detectado todos los picos para todas las trazas de EIC, la tarea es agrupar picos similares en componentes, este proceso se denomina: Agrupación, esta tarea consiste en agrupar los iones en componentes y al mismo tiempo tratar de distinguir entre componentes que eluyen muy juntos, cada grupo consta de varios iones que son muy similares en tiempo de retención y forma máxima. Una parte final de la agrupación es verificar los componentes que están dentro de una agrupación, pero que aún difieren en una pequeña cantidad de exploraciones. Después de que se haya realizado la agrupación, el programa ejecutará "Deconvolución" para estimar el espectro de EM más puro para cada componente. La deconvolución determina los espectros correctos al juzgar qué tan bien se correlaciona cada EIC con un pico modelo para cada grupo y, en el caso de componentes que eluyen estrechamente, cuáles son las contribuciones individuales de todos los iones. Los iones con baja correlación se eliminarán del espectro estimado, obteniéndose una tabla de picos deconvolucionados. Los espectros deconvolucionados para cada pico se almacenan en la memoria y se utilizarán para la identificación. La identificación se envía a un programa de búsqueda (MassLib o Nist) y las mejores coincidencias para cada pico deconvolucionado se muestran en el analizador CG. El proceso descrito se muestra en la figura 22.

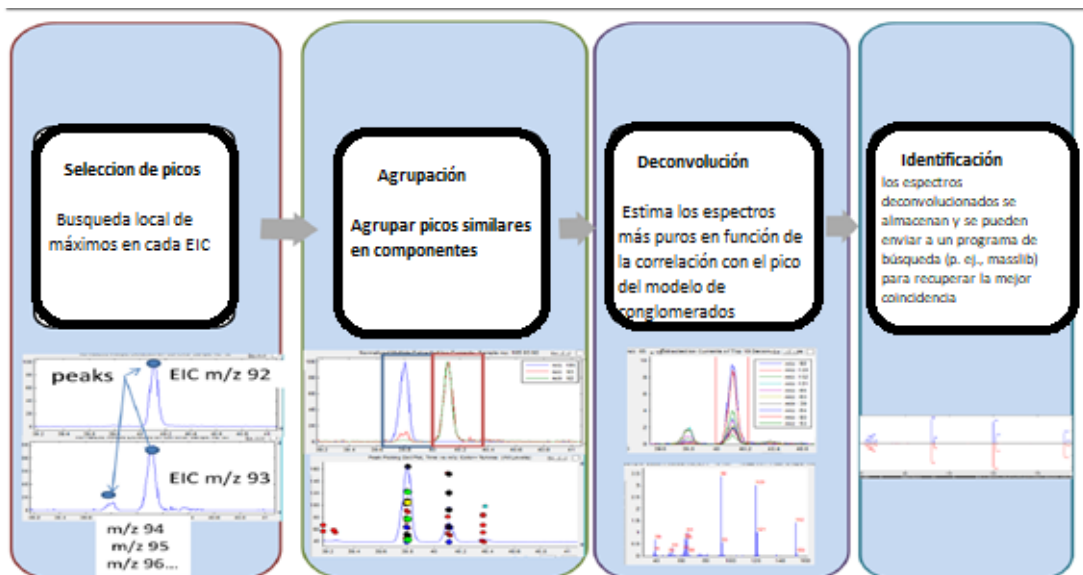


Figura 22. Proceso general de deconvolución.

6.5 Sistemas, aplicaciones y productos para el procesamiento de datos (SAP)

Entre los Sistemas de Gestión Empresarial (ERP, por sus siglas en inglés, Enterprise Resource Planning) se encuentra el Sistemas, aplicaciones y productos para el procesamiento de datos (SAP, por sus siglas en alemán, "Systeme, Anwendungen und Produkte in der Datenverarbeitung"). El sistema SAP es uno de los más utilizados a nivel mundial. Este sistema maneja e integra muchos negocios asociados con operaciones de producción y distribución de compañías de bienes o servicios.

El sistema SAP está conformado por diferentes módulos, entre los que se encuentran el de manufactura o producción, almacenamiento, logística e información tecnológica, contabilidad, mercadotecnia, sistema de administración de recursos humanos, administración estratégica entre otros (SAP, 2023).

Para poder acceder a cualquier módulo, es necesario contar con credenciales autorizadas gerencialmente y estas deben de estar acordes a la función que el usuario tenga dentro de la empresa, por ejemplo, un analista de laboratorio tendrá acceso únicamente a los módulos que le corresponden como control de calidad, producción, almacén, etc., y no tendrá acceso a aquellos que estén poco relacionados con sus funciones, como, finanzas o recursos humanos.

En el análisis cromatográfico de fragancias se suelen presentar problemas en la interpretación que requieren de una investigación profunda para ser solucionados. El acceso a transacciones dentro del sistema SAP es necesario para obtener información de materias primas, proveedores, análisis fisicoquímicos y sensoriales, planes de inspección, especificaciones técnicas y demás datos relacionados al proceso interpretativo, acceder a estos datos es

fundamental, ya que una vez recopilada la información adecuada, es posible tomar una decisión correcta, dicho de otra forma, el proceso de interpretación cromatográfica permite tomar decisiones basadas en datos confiables y no solo de manera intuitiva.

6.6 Libro Web de Química del NIST

Otra herramienta muy importante es el libro Web de Química del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST, por sus siglas en inglés), este “libro” es una base de datos compuesta de compuestos orgánicos y algunos compuestos inorgánicos, actualmente se encuentra en su edición número 69, el “libro” permite el acceso de manera gratuita (por el momento) a una gran cantidad de información sobre compuestos orgánicos de referencia. Dentro de la información más relevante que nos puede proporcionar este sitio y que se presenta en formato de monografías, son: estructuras y fórmulas químicas, peso molecular, número CAS, isómeros, sinónimos, cromatografía y espectro de masas. Al tratarse de sustancias de referencia nos permite hacer comparaciones con los datos obtenidos en el laboratorio para la identificación de moléculas. Otras funciones interesantes de esta herramienta son sus motores de búsqueda que puede filtrar la búsqueda haciéndola más especial, por ejemplo, por propiedades físicas como energías vibracionales, propiedades energéticas de los iones, peso molecular y también por filtros específicos como números CAS y reacciones (NIST, 2023).

6.7 The Good Scents Company

La base de datos de acceso libre “The Good Scents Company” está especializada en la industria de fragancias y sabores que comenzó en 1980. Es una herramienta que provee gran cantidad de información sobre aceites esenciales, especies botánicas, funciones cosméticas, extractos, resinas, oleorresinas, bases de perfumes, gomas, disolventes y demás compuestos relacionados. En ella se puede buscar información específica de algún material como propiedades organolépticas, estructura molecular, proveedores y se pueden localizar materiales de acuerdo con descriptores sensoriales como, por ejemplo, maderoso, dulce, fresco, terroso, floral, marítima etc. En esta base de datos se puede “conocer el olor” de algún material sin necesidad de olerlo a través de diversos descriptores sensoriales (The Good scents company, 2023). Esto puede ayudar a conocer que tanto puede impactar la adición, incremento o reemplazo de algún material en una fragancia. Por ejemplo, existen disolventes que tienen baja o nula cualidad odorífera como el tributil acetilcitrate, un incremento significativo de este disolvente no impactará en el carácter de la fragancia, pues, su función principal es la de disolver otros compuestos. En cambio, una variación de 0.05% en materiales de tipo animales como civeta, puede arruinar lotes completos de perfumes finos. En cromatografía podemos observar cómo los perfumistas prueban distintas combinaciones de materiales buscando la mejor experiencia sensorial.

7. Desempeño profesional; Interpretación remota de Datos Cromatográficos; “READI análisis”.

Los datos cromatográficos son observaciones y medidas científicas que se generan en un análisis instrumental por cromatografía. Los tiempos de retención, los porcentajes de área, factores de respuesta, eficiencia de picos, espectros de masas, abundancia de iones son entre otros datos, información que se analiza para determinar si una fragancia mantiene las características necesarias para su uso. Interpretar de manera correcta la cromatografía no siempre es tarea sencilla. En ocasiones esta puede resultar confusa y como consecuencia es posible emitir resultados erróneos lo que puede provocar desde un rechazo interno, hasta la necesidad de recoger un producto que ya estaba en el mercado. A continuación, se explicarán algunos ejemplos que demuestran la importancia de la cromatografía para resolver problemas encontrados en la industria perfumera.

7.1 Uniformidad entre lotes (Monitoreo)

La aplicación más sencilla y rutinaria, pero no por ello menos importante, de la cromatografía de gases es el monitoreo de las variaciones que pueden existir entre lotes de fabricación. El MatchCompare es la herramienta básica que nos ayuda a verificar que los componentes de una fragancia se encuentran dentro de los límites de variación establecidos, manteniendo así, las mismas características de los lotes anteriores.

En principio una referencia que cumpla con las características de aptitud de uso es cargada en el software, posteriormente se carga la muestra a evaluar y se realiza la comparación.

Una vez que el software arroja el porcentaje de similitud y una tabla con las diferencias que este encontró, se procede a analizar dichas diferencias, dentro de las cuales podemos encontrar de tres tipos: aceptables, no aceptables y diferencias que necesitan una investigación mayor para determinar si son aceptables o no.

7.1.1 Variaciones aceptables

Dentro de este grupo encontramos variaciones que el sistema ha detectado pero que no corresponden propiamente a una variación que salga de los límites de aceptación, es decir, variaciones que el sistema no pudo determinar correctamente debido a la complejidad de la muestra.

En el siguiente ejemplo (figura 23) encontramos el análisis de una muestra compleja destinada para un desodorante, en la cual, debido a la gran cantidad de componentes, el sistema no logro determinar correctamente si se trataba de variaciones reales o no.

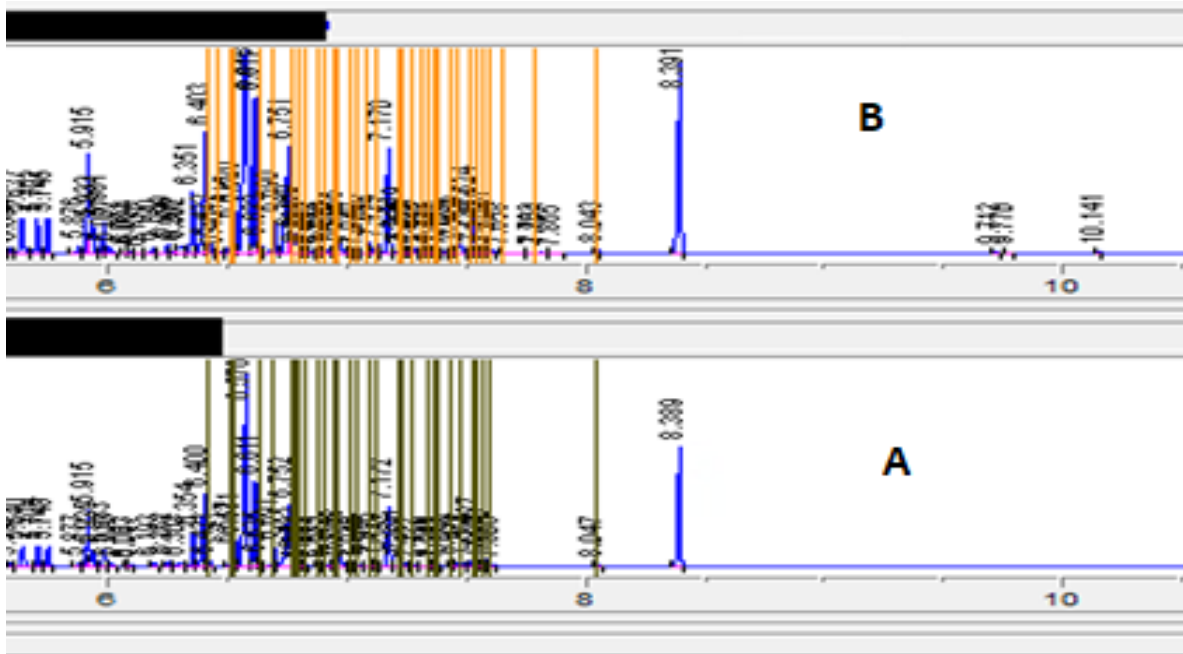
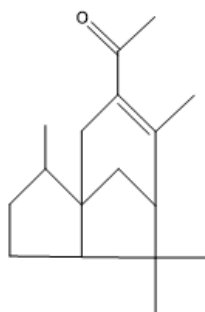


Figura 23. Comparación de cromatogramas de una fragancia destinada para un desodorante, a) estándar y b) muestra.

Sin embargo, al revisar los componentes de la fórmula encontramos que esta contiene 5.5% de Vertofix, un material sintético que posee un aroma cálido, maderoso y a cuero entre otros. El componente principal del Vertofix es el metil cedril cetona (figura 24) el cual, es acompañado por numerosos subproductos lo que lo convierte en un material complejo ya que el sistema detecta numerosas variaciones como si se trataran de materiales independientes. En la figura 25 es posible observar el cromatograma de la muestra (A), el cromatograma de la referencia (B) y el cromatograma de Vertofix (C).



CID	Unit	Formula	Molecular Weight
22141	22141	$C_{17}H_{26}O$	246.1984
Preferred IPC	Spectra	cLogP	Purity
	H1 APT	5.02	
CPA Flavor	CPA Fragrance	LC-MS Ref	GC-MS Ref
	Yes		

Figura 24. Metil cedril cetona

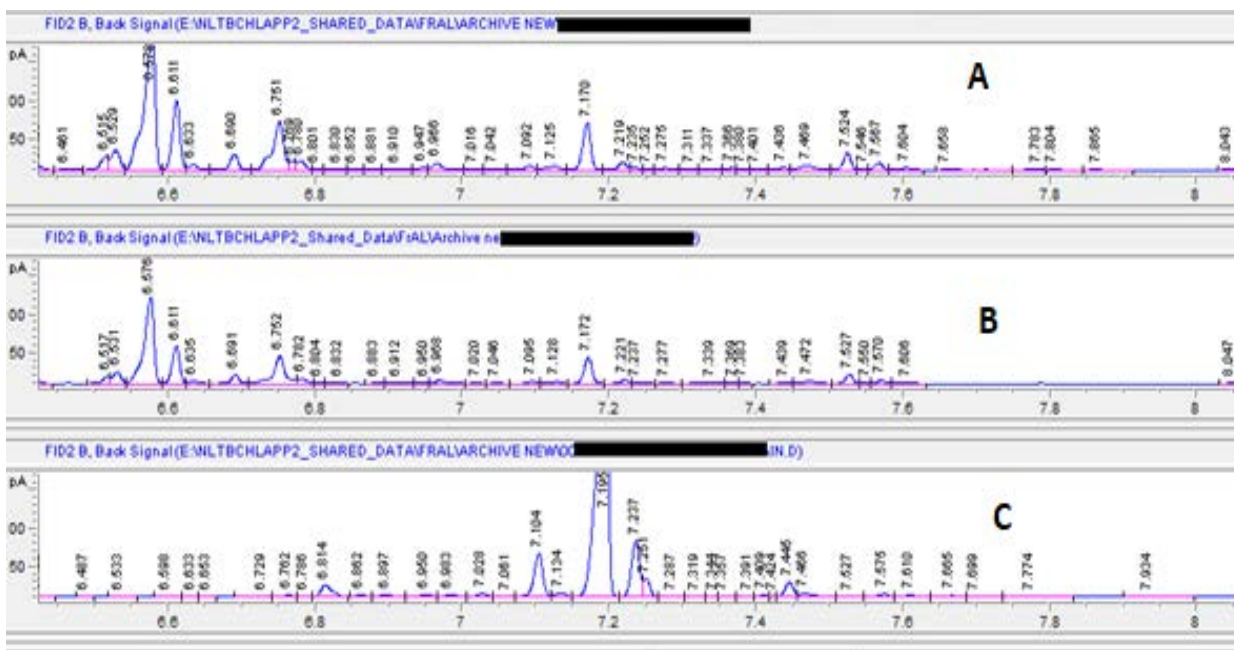


Figura 25. Sobreposición de una muestra (a) y referencia (b) con el espectro del material puro Vertofix (c)

Para saber si realmente está fuera de tolerancia o no, únicamente es necesario sumar todos los componentes que pertenecen a vertofix, si la suma se encuentra dentro de tolerancias respecto a la referencia entonces, la muestra es aceptable, de lo contrario será no aceptable o susceptible de llevar a cabo un análisis más detallado.

Otra manera de entender este concepto es mediante el ejemplo de Vertofix. A veces, los materiales como Vertofix pueden tener variaciones aceptables en sus componentes, lo que se conoce como diferentes calidades. En la imagen 26, el cromatograma A corresponde a una muestra que contiene Vertofix en su fórmula, el B es la referencia, el C es el lote puro de Vertofix que se utilizó para fabricar la muestra y el D corresponde al Vertofix puro utilizado en la fabricación de la referencia. Las diferencias en las calidades de Vertofix se reflejan en los cromatogramas de productos terminados. En este ejemplo las diferencias más significativas se encuentran resaltadas con los rectángulos. El sistema detecta diferencias entre componentes que corresponden a un mismo material, esto es porque existen variaciones entre los isómeros o subproductos de un mismo material lo que ocasiona que el sistema detecte esta variación como si fueran picos independientes, sin embargo, si la suma de los componentes del mismo material se encuentra dentro de especificación corresponde a una variación aceptable.

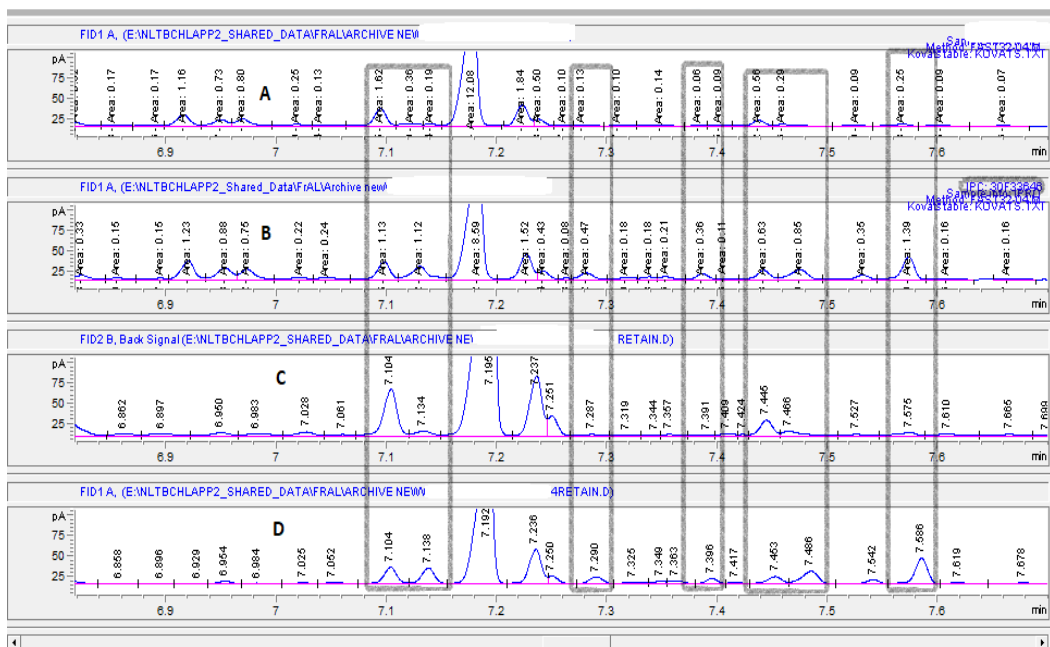


Figura 26. La muestra A presenta diferencias con respecto a la referencia (B) debido a las diferencias en la calidad de los lotes de Vertofix utilizados para cada fabricación. (C) lote de Vertofix empleado en la muestra. (D) lote de Vertofix empleado en la referencia

7.2 Variaciones no aceptables

Las variaciones significativas donde factores como el equipo y las calidades de los materiales han sido descartados, necesitan una investigación más profunda para encontrar cual fue la causa raíz y determinar las acciones correctivas para remediar el problema y prevenir eventos similares en el futuro. A continuación, se explican algunos casos prácticos

7.2.1 Errores en la adición.

Uno de los errores más comunes en la fabricación de fragancias y que podemos detectar mediante la cromatografía, es cuando uno o más componentes son agregados de forma inadecuada. En ocasiones podemos encontrar algún material por debajo del porcentaje establecido en la formula, o bien, por encima de él. Cuando esto sucede, es necesario identificar que material es el que está generando la desviación y en qué proporción, para así, establecer las acciones correctivas a seguir. En la figura 27, se puede observar el cromatograma de una fragancia utilizada como colonia femenina (a), la cual muestra un pico del doble de tamaño con respecto a la referencia (b), lo que indica que un material no fue agregado correctamente.

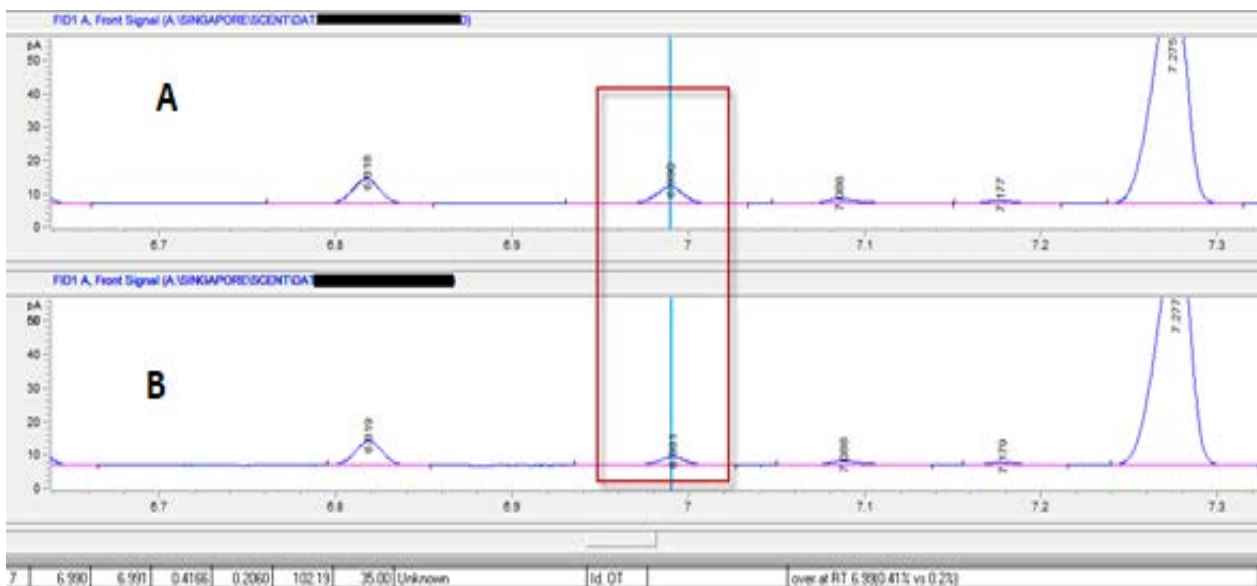


Figura 27. Exceso de un material en cromatografía de gases

De acuerdo con los registros existen dos materiales que pueden eluir a ese tiempo de retención (6.99min) por lo que es necesario realizar un análisis extra de EM para identificar cuál de los dos materiales es el que está aportando dicha diferencia.

La figura 28 corresponde al análisis de espectrometría de masas con el cual se pudo identificar con un 95% de precisión que la diferencia entre el estándar y la muestra corresponde a un exceso de un material identificado como óxido de difenilo.



Figura 28. Detección de un exceso de Oxido de difenilo mediante CG-EM.

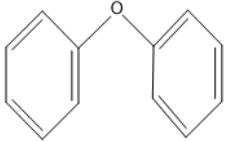
	CID	Unit	Formula	Molecular Weight	Source
	8196	8196	C ₁₂ H ₁₀ O	170.0732	I&A
	Preferred IPC	Spectra	cLogP	Purity	CID Date
	045403	GCIR MS H1 APT	4.05		24-Feb-1981
	CPA Flavor	CPA Fragrance	LC-MS Ref	GC-MS Ref	Accuracy
Yes	Yes		K1326	CONFIRMED	
CAS Number(s)	IE(s)		IPC(s)	Associated Codes(s)	
101-84-8	Col OV1 BP1 BPX5 CBWX BP21 C 9.98 13.49 C 10.00 10.29 13.63 V 13.78 14.27 20.08		040971 045403 IPC Details	FMA: 3667 IA: 75007 NMR: J49844 RD: RD028323	

Figura 29. Propiedades fisicoquímicas del óxido de difenilo.

El óxido de difenilo (figura 29) es un material de olor muy fuerte que exhibe aromas agradables tales como floral (similar a rosas y geranio), sin embargo, también se aprecian aromas fenólicos y metálicos. Una diferencia de esta magnitud no es aceptable en cromatografía y mucho menos en análisis sensorial, por lo que el departamento de producción tendrá que evaluar la posibilidad de ajustar la fragancia o llevarla a destrucción. Al realizar la investigación de la causa raíz se detectó gracias al registro electrónico de surtido de materiales, que el material se agregó dos veces debido a una desatención de la persona encargada de la fabricación.

7.2.2 Contaminación cruzada.

Otro posible error durante la fabricación es la contaminación cruzada, la cual es el resultado de una falta de atención en la manipulación de materiales durante procesos que se realizan simultáneamente, estas desatenciones a los procedimientos pueden resultar en pérdidas significativas para la empresa. Un caso práctico se expone a continuación.

Dos fragancias destinadas para productos cosméticos presentan el mismo problema en cromatografía, esto es, dos diferencias fuera de especificación. La primera diferencia se trata de un pico extra al tiempo de retención de 0.8 min, la segunda un pico faltante al tiempo 1.5min.

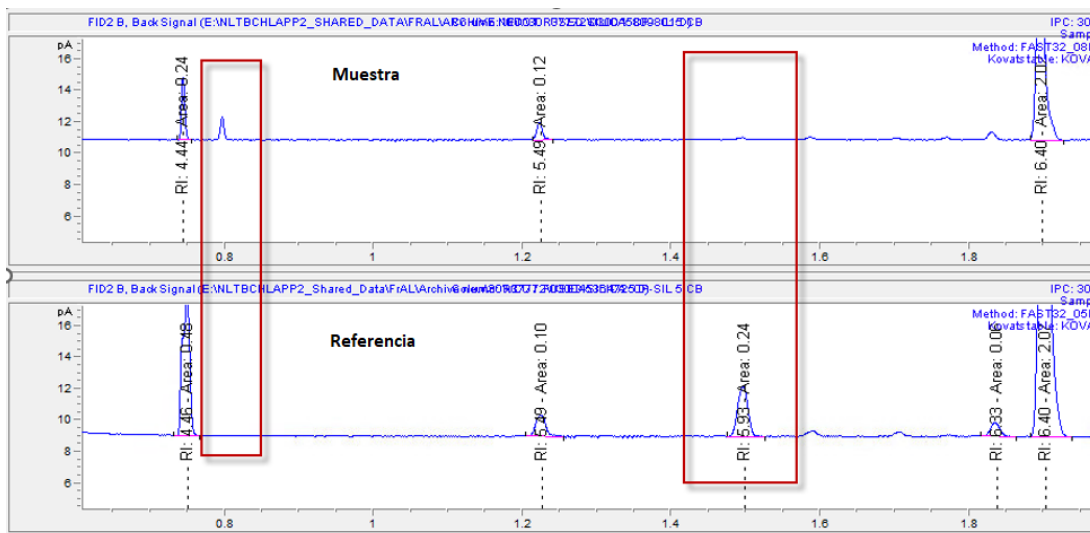


Figura 30. Fragancia 1, contaminación cruzada. Pico extra en 0.80min y pico faltante a 1.50min

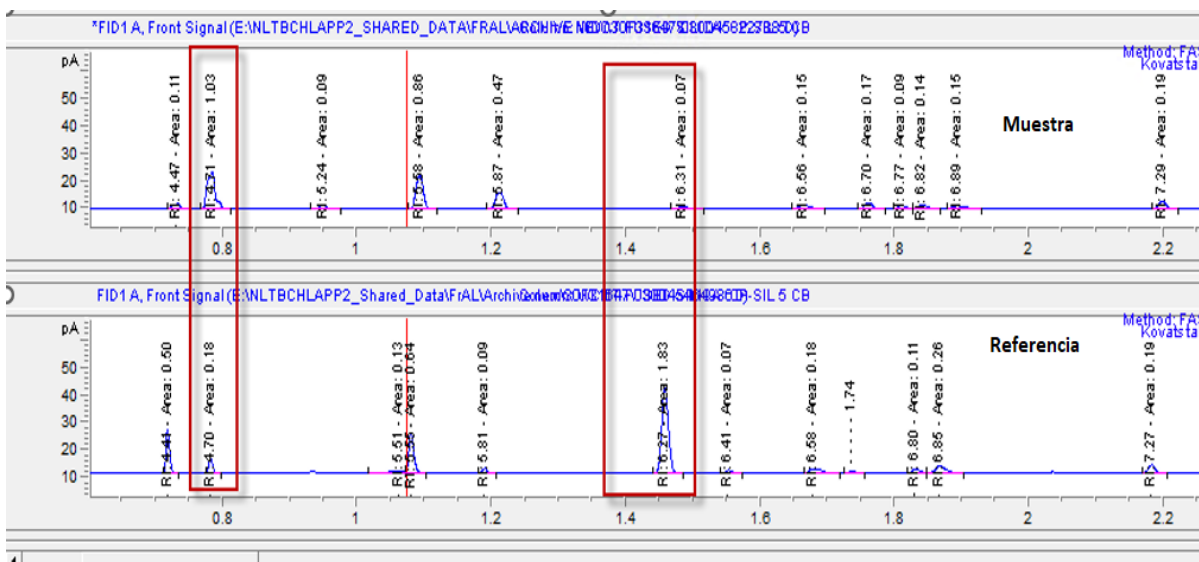


Figura 31. Fragancia 2, contaminación cruzada. Pico extra en 0.80min y pico faltante a 1.50min

Una manera de identificar componentes ajenos a una formulación es utilizando bases de datos que contienen información sobre los tiempos de retención de los materiales utilizados en su fabricación. En ambos casos (Figuras 30 y 31), se observa que les falta un componente. Existe una sospecha que el material faltante podría ser GALBANUM OIL debido a que este compuesto eluye en un tiempo de retención específico (1.5 minutos), pico que no se observa en la muestra y si en la referencia. Además se sabe que GALBANUM OIL pertenece a la formulación de ambas muestras y que se utilizó el mismo lote para su producción. Para confirmar si el componente faltante es GALBANUM OIL, se puede superponer el

cromatograma específico de este compuesto y compararlo con los cromatogramas de las muestras en cuestión. Si el pico correspondiente al tiempo de retención 1.5 minutos coincide con el cromatograma del GALBANUM OIL , esto confirmaría que el componente ausente es, efectivamente, GALBANUN OIL (Ver figura 32).

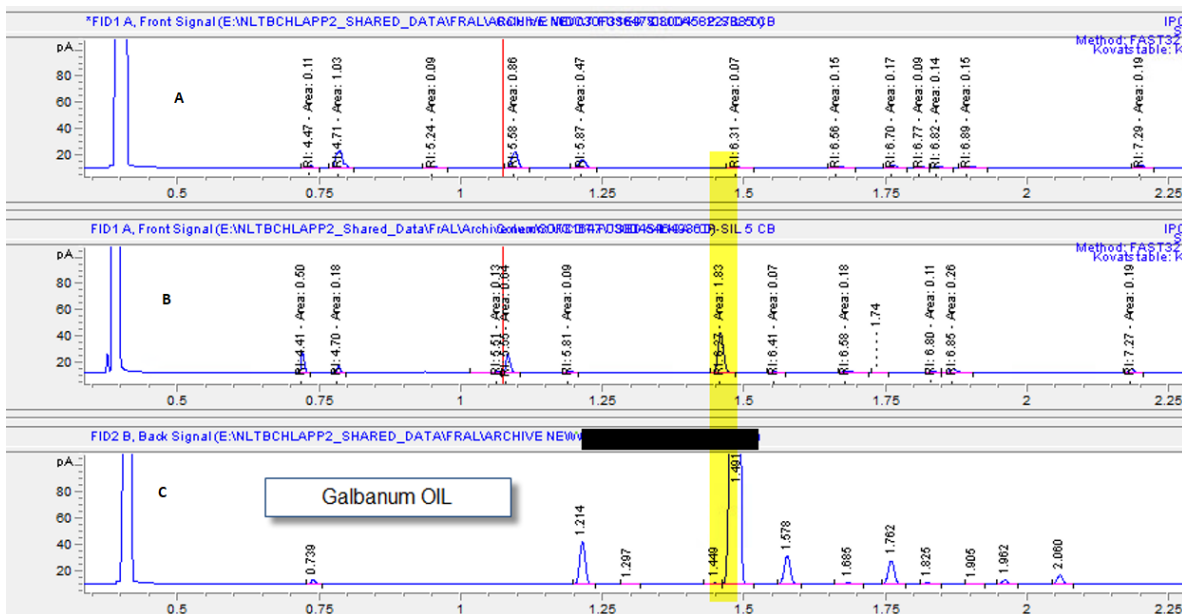


Figura 32. Superposición de los cromatogramas de la muestra (a), referencia (b) y Galbanum oil (c)

La tarea del Analista READI es realizar la investigación de este tipo de no conformidades, y detectar que pudo haber sucedido. Para lo anterior es posible solicitar análisis extras que aporten información para determinar qué es exactamente lo que pudo haber sucedido. En el ejemplo anterior se solicitó muestrear el material GALBANUM OIL utilizado en la fabricación e inyectarlo en un cromatógrafo de gases acoplado a masas. La cromatografía del lote de GALBANUM OIL utilizado mostró importantes diferencias en el perfil; un pico extra al tiempo de retención 0.80min con un porcentaje de 49%, y un pico alto de 26.2% en la muestra vs 3.51% en la referencia en 1.23minutos, lo que indica que la materia prima se encontraba contaminada (figura 33).

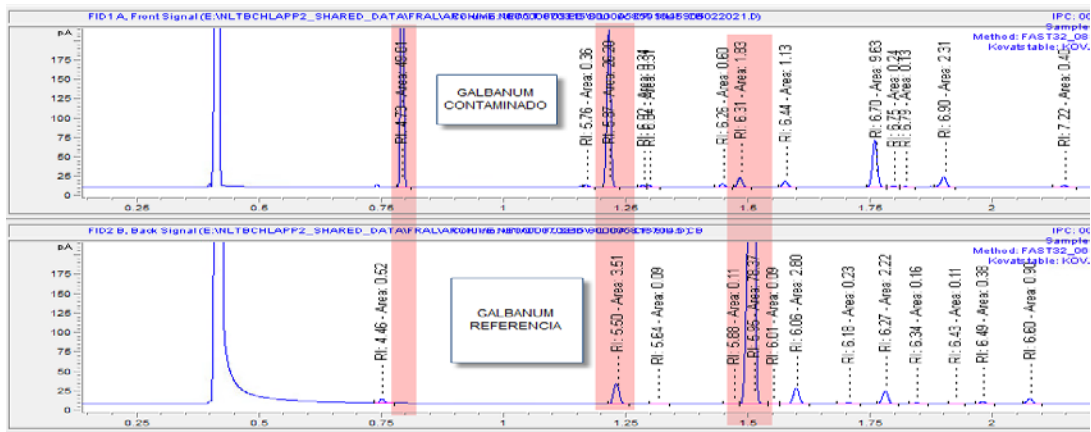


Figura 33. Galbanum Oil contaminado comparado con una referencia aprobada.

El análisis de espectrometría de masas (Figura 34) reveló que galbanum oil se contaminó con una gran cantidad de etil-2-metilbutirato al tiempo de retención de 0.80 minutos y de pineno beta al tiempo de retención de 1.23 minutos. La gran cantidad de etil-2-metilbutirato contaminando la materia prima se hace notar como un pico extra en el producto terminado y al mismo tiempo hace que el pico principal del galbanum oil desaparezca (Fig 31).

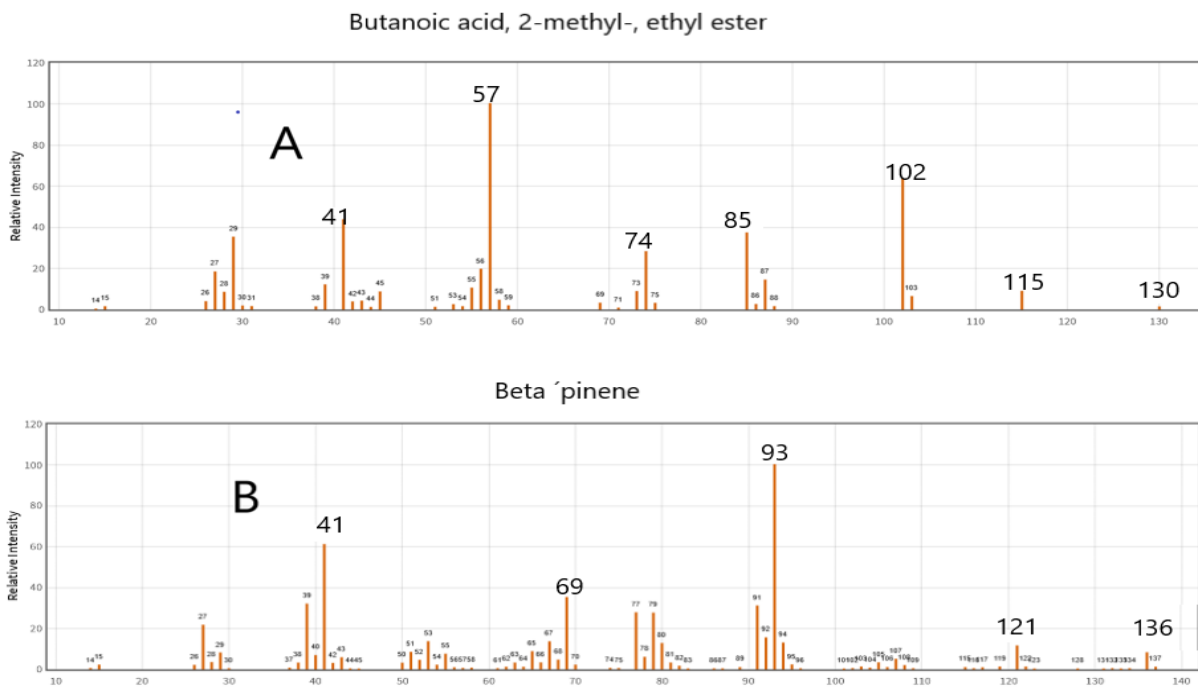


Figura 34. Espectros de masas encontrados en el análisis de Galbanum oil contaminado; etil-2-metilbutirato (a), beta pineno (b). Tomada del libro web de química del NIST, 2023.

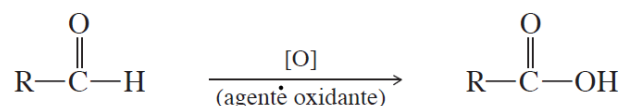
La investigación reveló que el contenedor destinado para galbanum oil se encontraba contaminado con otra fórmula con gran cantidad de etil-2-metilbutirato. Así, la contaminación de galbanum oil impactó sobre los productos terminados. Aparentemente, esto resultó en un gran problema por las pérdidas económicas que esto representa para la compañía, por otro lado, la detección oportuna permitió actuar rápidamente para bloquear el material contaminado y evitar que se siguiera empleando en la fabricación de más productos.

7.3 Reacciones químicas en la perfumería

Existen diversos tipos de reacciones que ocurren entre los materiales empleados en la perfumería, algunas de ellas son completamente deseadas, por ejemplo, reacciones que con el tiempo producen nuevas moléculas que aportan cualidades de olor y color a un perfume y que van madurando la fragancia. También existen reacciones que cambian las características de una fragancia pero que no son deseables y que reflejan áreas de oportunidad entre las prácticas de fabricación y de laboratorio. A continuación, se exponen algunas de las reacciones más comunes encontradas en el análisis de fragancias.

6.3.1 Oxidación de Aldehídos

Gran parte de los aldehídos empleados en la perfumería son muy susceptibles a la oxidación y por consiguiente a la formación de ácidos carboxílicos. Dicha formación de ácidos carboxílicos no es deseable ya que impacta en las cualidades de una fragancia tanto sensoriales como en perfil cromatográfico. Adicionalmente, esta formación de ácido carboxílico puede catalizar otras reacciones indeseables entre otras especies presentes en la fórmula. Los aldehídos se oxidan tan fácilmente que el aire debe eliminarse de sus contenedores para evitar la oxidación lenta por oxígeno atmosférico (Wade, 2011). Por ello que es muy importante la correcta manipulación de los aldehídos desde su almacenamiento hasta el orden de adición.



En la figura 35 se observa una muestra de 2-metildecanal degradado, la formación de gran cantidad de ácido carboxílico se nota en el cromatograma como un pico considerablemente alto y asimétrico.

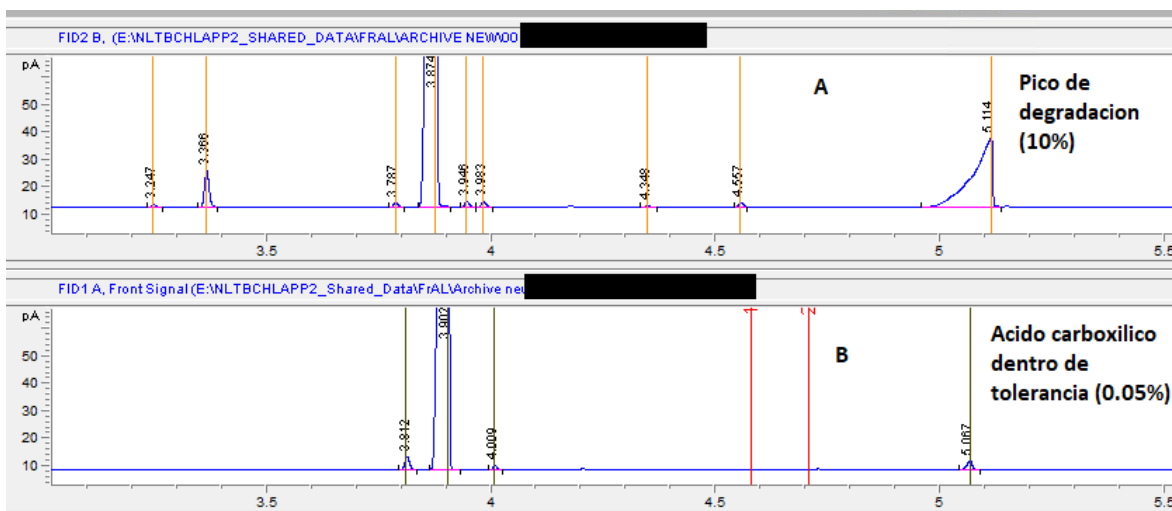
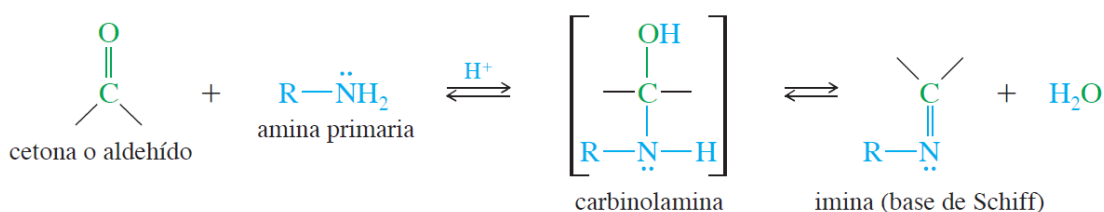


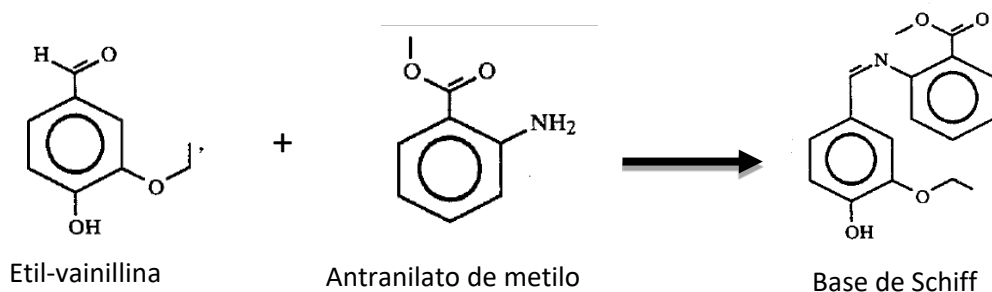
Figura 35. A) Cromatograma de 2-Metildecanal degradado B) Referencia

7.3.2 Formación de Iminas (Base de Schiff)

En las condiciones apropiadas, el amoníaco o una amina primaria reaccionan con un aldehído o una cetona para formar una imina. Las iminas son análogos de nitrógeno de cetonas y aldehídos, con un enlace doble carbono-nitrogeno en lugar del grupo carbonilo. Como las aminas, las iminas son básicas; una imina sustituida es también llamada una base de Schiff. La formación de iminas es un ejemplo de una larga clase de reacciones llamadas condensaciones, reacciones en las que dos (o más) compuestos orgánicos están unidos, con frecuencia con la pérdida de agua u otra molécula pequeña (Wade, 2011).



En la perfumería las iminas o bases de schiff se utilizan para aumentar o realzar el aroma de composiciones de perfumes incluyendo polímeros perfumados y colonias. El antranilato de metilo, es uno de los compuestos más utilizados en la formulación de fragancias para la formación de bases de schiff. Un proceso común para mejorar el aroma de un perfume, colonia o artículos perfumados consiste en mezclar en la formulación la base de schiff formada a partir de etil-vanillina y antranilato de metilo.



Otras bases de Schiff obtenidas partir de antranilato de metilo encontradas en la industria perfumera y reportadas en la literatura (Mookherjee y Trenkle, 1989) incluyen:

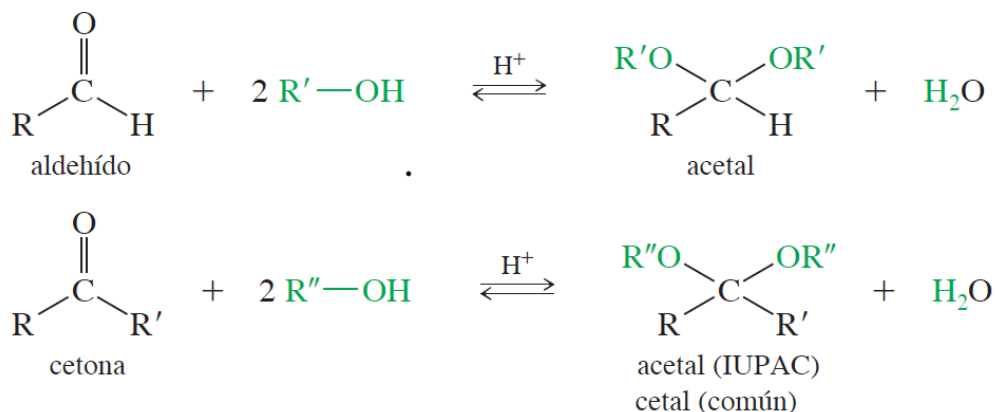
- Antranilato de metilo y aldehído cinámico
- Antranilato de metilo e Hidroxicitronelal
- Antranilato de metilo y Lilial
- Antranilato de metilo y 4-Anisaldehído
- Antranilato de metilo y decanal
- Antranilato de metilo y Lyrál

Un detalle que presentan algunas fragancias con materiales que producen bases de Schiff es que pueden cambiar de color con el tiempo mientras la reacción va progresando. Hay ocasiones inesperadas donde los clientes rechazan los productos terminados debido a que no cumplen con sus especificaciones de color, sin embargo, la queja se atiende explicando a este la formación y objetivo de las bases de Schiff.

7.3.3 Formación de acetales

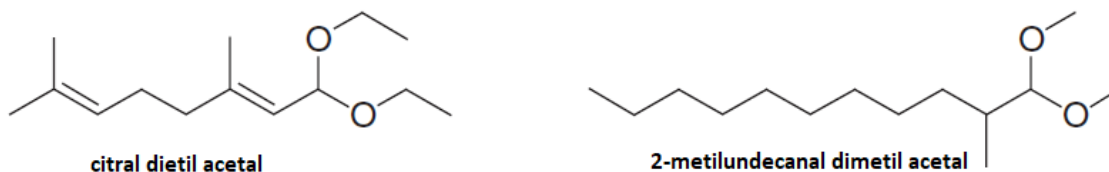
Un problema que aparece en el empleo de aldehídos, especialmente en fragancias muy demandadas, es que son propensos a la oxidación, la formación de bases de Schiff, y si tienen un hidrogeno alfa, reacciones de condensación aldólica. Estas reacciones pueden ser prevenidas si el grupo aldehído es protegido mediante la formación del acetal (Rowe, 2009).

Los aldehídos y cetonas reaccionan con los alcoholes para formar acetales. En la formación de un acetal, dos moléculas de alcohol se adicionan al grupo carbonilo y se elimina una molécula de agua.



Aunque la hidratación es catalizada por ácido o base, la formación de acetales es catalizada por ácido (Wade, 2011).

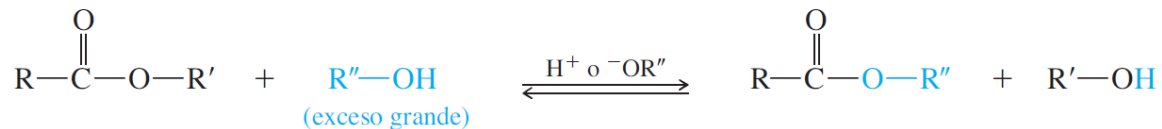
Muchos acetales tienen olores similares a sus aldehídos precursores y pueden ser utilizados en su lugar; como ejemplos podemos mencionar al citral dietil acetal, 2-metilundecanal dimetil acetal.



Los acetales también comprenden una serie de compuestos llamados “ambar”. Estos materiales son así llamados debido a su semejanza con el ambergris, un material formado en el estómago de las ballenas. El material es encontrado ocasionalmente en las playas. Como era de esperar, se trata de un material raro y caro lo que ha ocasionado optar por alternativas sintéticas tales como el ambercetal, amberconide y ambroxan. (Rowe, 2009)

6.3.4 Transesterificación

Los ésteres experimentan transesterificación, en la cual un grupo alcoxi se sustituye por otro, en condiciones ácidas o básicas. Cuando un éster de un alcohol se trata con un alcohol diferente en presencia de ácido o base, los dos grupos alcohol pueden intercambiarse. Resulta un equilibrio y el equilibrio puede conducir hacia el éster deseado usando un gran exceso de alcohol deseado o eliminando el alcohol (Wade, 2011).



La transesterificación en la perfumería a menudo está asociada a una degradación de materiales. En el siguiente caso se expone un problema encontrado en una fragancia destinada para productos cosméticos.

Se encontró una variación fuera de especificación al tiempo de retención 8.80min (Ver fig.36) se trata de un pico que se encuentra muy por debajo del porcentaje con respecto a una referencia de un año anterior (0.22% vs 0.68%) pero muy por arriba de una referencia fresca también llamada “Tiebraker” (0.22% vs 0.077%).

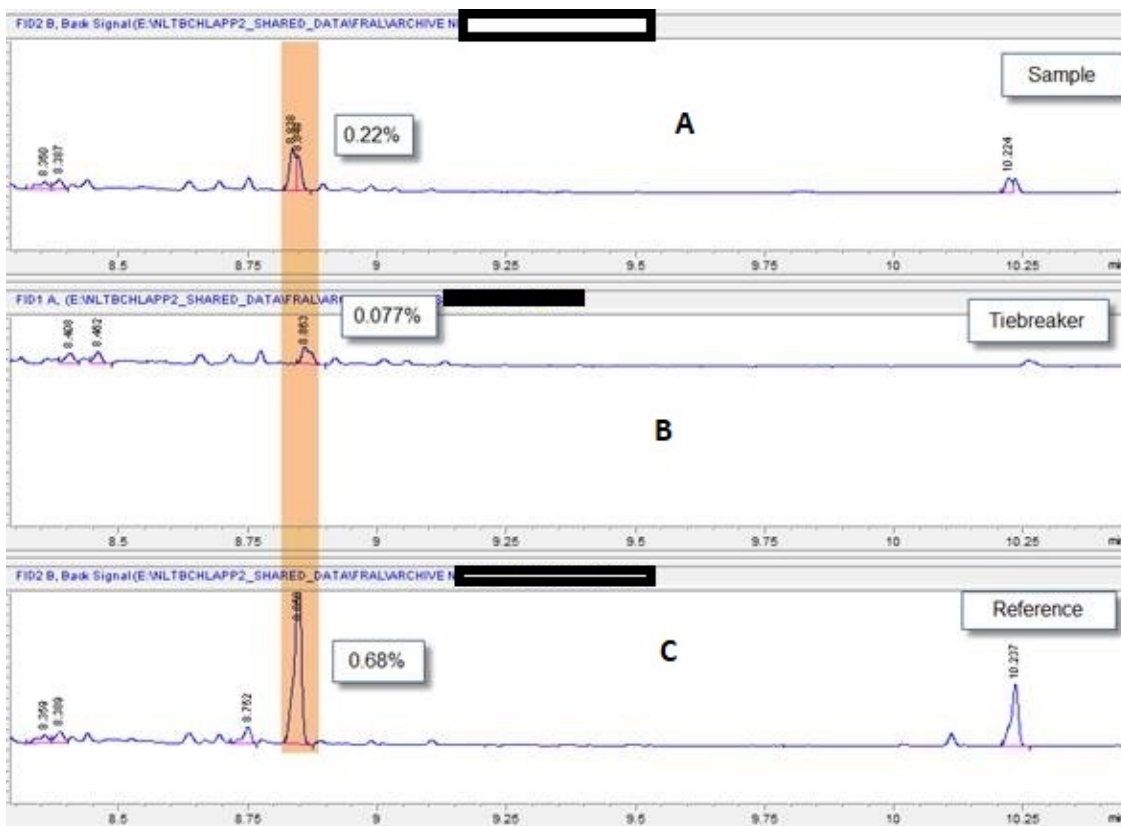


Figura 36. Pico fuera de especificación al tiempo de retención 8.80min. A) Muestra, B) Referencia reciente, C) Referencia de un año anterior.

Al no contar con un registro de algún material puro que eluyera a ese tiempo de retención, se procedió a solicitar un análisis de cromatografía de gases acoplado a masas para tratar de identificar el compuesto en cuestión.

La cromatografía acoplada a masas no arrojó una buena identificación, por lo que se tuvo que investigar más a fondo. Al revisar la fórmula de dicho material se encontró que contiene

gran cantidad de alcohol bencílico y biclconalactona (un éster cíclico), materiales que pueden reaccionar en presencia de un ácido. Por lo cual se procedió a hacer una comparación entre los iones de estas dos entidades y los iones del compuesto problema obtenidos mediante la CGEM (figuras 37, 38 y 39).

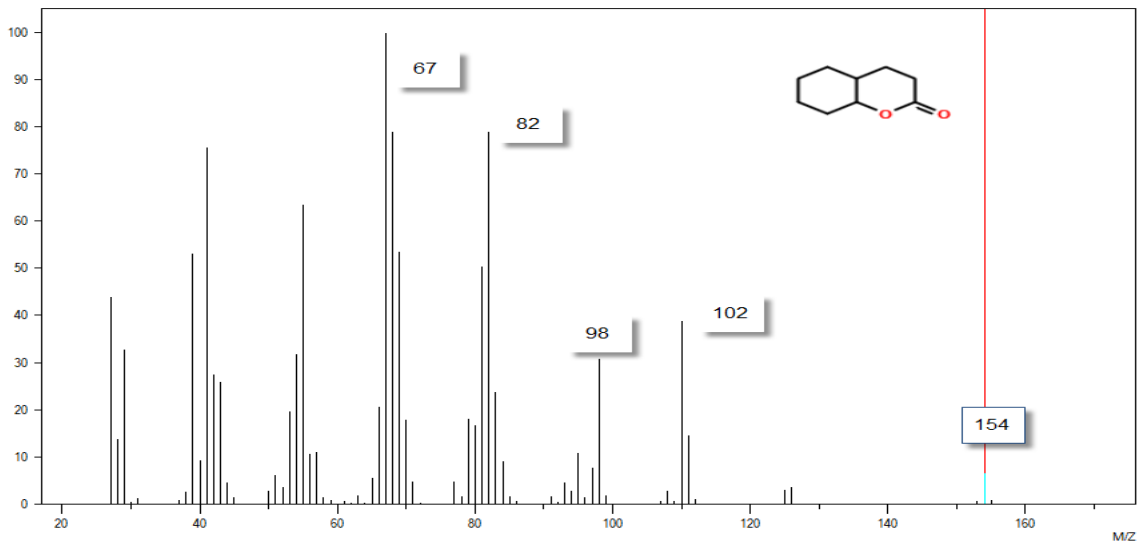


Figura 37. Espectro de masas de biclconalactona

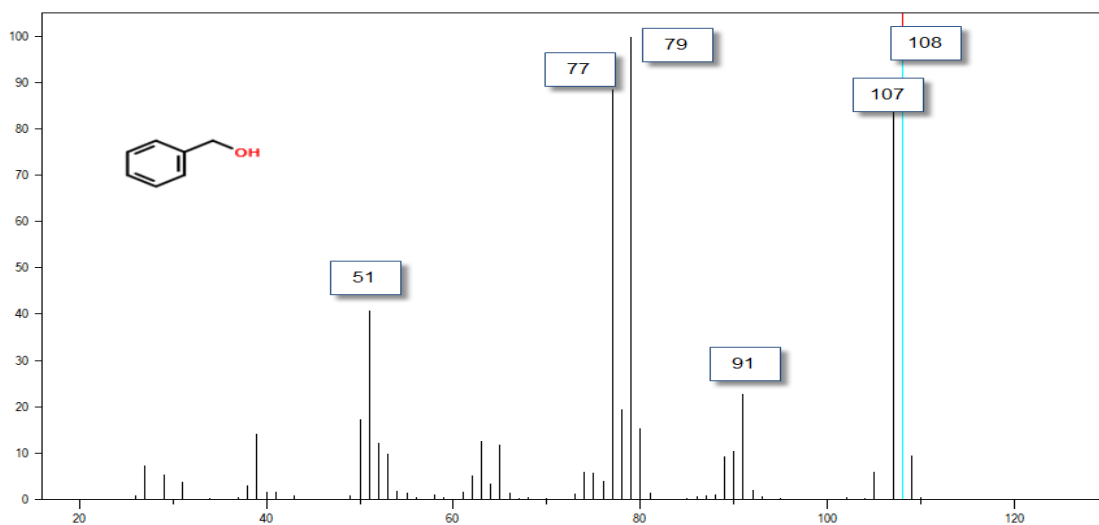


Figura 38. Espectro de masas del alcohol bencílico

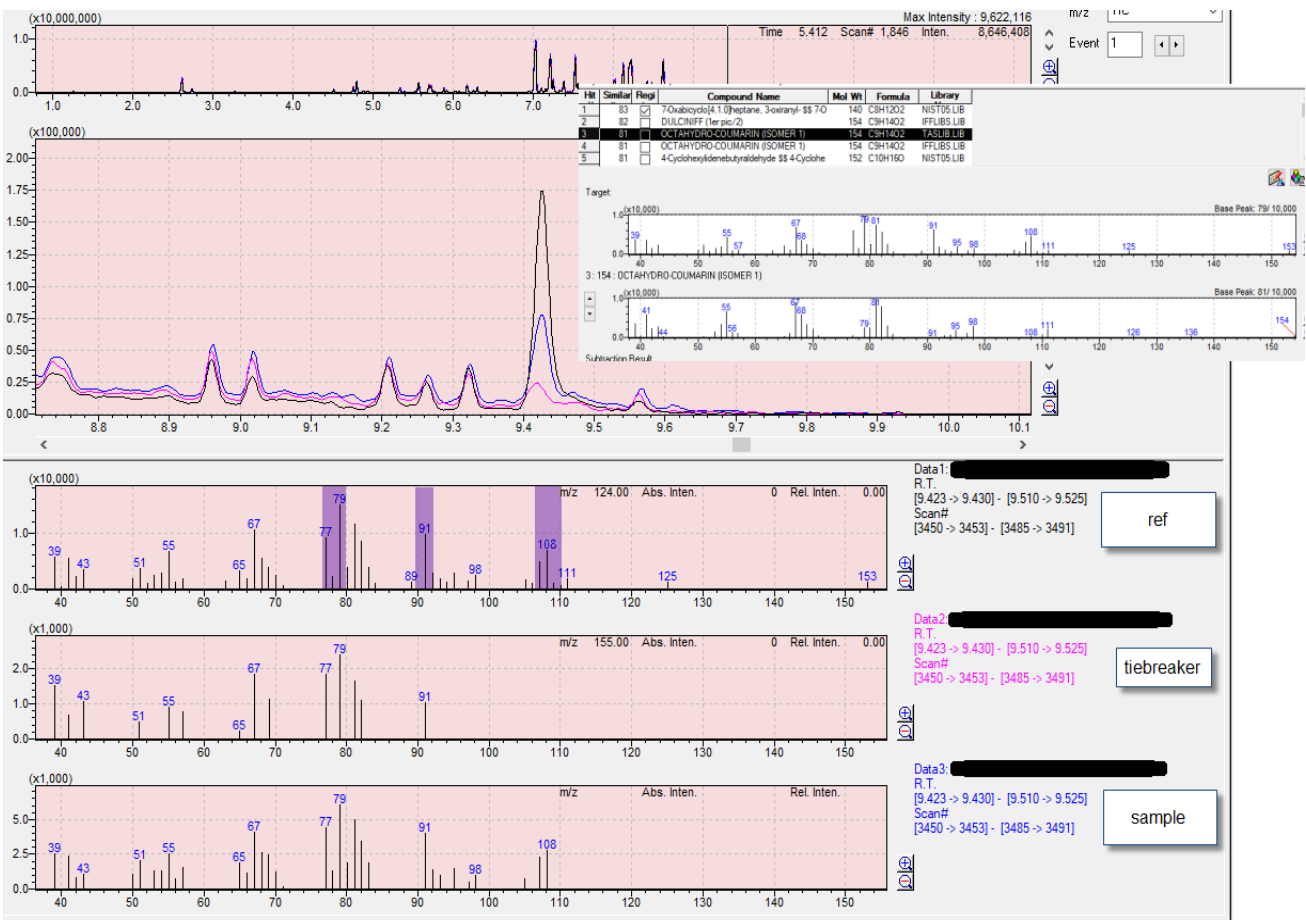


Figura 39. Espectrometría de masas del pico de reacción entre bicliclonalactona y alcohol bencílico.

La comparación entre los iones del compuesto problema arrojó que dicho compuesto contiene los iones de las entidades antes mencionadas, es decir, por un lado, contiene los iones de la bicliclonalactona (67, 82, 98, 102 y 154) y adicionalmente contienen los iones principales del alcohol bencílico (77, 79, 91 y 108) con lo cual es posible decir que el pico problema es el resultado de la reacción de estos dos materiales.

Un problema adicional es que la formula del material no contiene ningún ácido para que esta reacción se lleve a cabo. Sin embargo, existen componentes que pueden producir ácido a partir de su degradación por ejemplo los aldehídos. En este caso la formula contiene Helional, un aldehído fácilmente oxidable a ácido carboxílico y Benzoina resinosa, la cual tiene en su composición ácido benzoico. La degradación de estos dos materiales aporta el medio ácido para que la reacción de transesterificación tenga lugar. En conclusión, este es un ejemplo de cómo la degradación de una materia prima puede fomentar la reacción entre otras especies, arrojando no conformidades en el análisis de cromatografía de gases.

7.4 Alergenos en la perfumería

La alergia de contacto a los ingredientes de la fragancia ocurre cuando un individuo susceptible ha estado expuesto en la piel al alérgeno de la fragancia, por ejemplo, a través de su presencia en un producto cosmético. Es una reactividad específicamente alterada de por vida del sistema inmunitario que implica el reconocimiento de los alérgenos de la fragancia por parte de las células inmunitarias. Una vez que se ha desarrollado una alergia de contacto, las células capaces de reconocer y reaccionar frente al alérgeno siempre estarán presentes en el sistema inmunitario. Como consecuencia, los síntomas de la dermatitis alérgica de contacto caracterizados por eritema ("enrojecimiento"), hinchazón y vesículas aparecen tras la reexposición al alérgeno de la fragancia en cuestión. Si la exposición continúa durante un período de tiempo más largo, puede convertirse en una afección crónica con descamación y fisuras dolorosas en la piel. La dermatitis de contacto alérgica a los ingredientes de las fragancias suele ser causada por la exposición a los cosméticos y afecta principalmente a la cara, las axilas o las manos. La enfermedad puede ser grave y generalizada, con un deterioro significativo de la calidad de vida y posibles consecuencias para la aptitud para el trabajo. Además de la dermatitis de contacto alérgica, las fragancias de los perfumes y productos cosméticos también pueden provocar dermatitis de contacto irritante, reacciones de contacto inmediatas (urticaria de contacto), dermatitis de contacto pigmentada o fotosensibilidad

Los dermatólogos y otros científicos distinguen entre alérgenos de contacto probados (en seres humanos o animales), probables y posibles. Para la evaluación se tienen en cuenta datos sobre la sustancia aromatizante obtenidos a partir de estudios en humanos (como estudios clínicos o epidemiológicos) y estudios experimentales en animales. También se considera información sobre la estructura química que, basándose en la experiencia previa con sustancias químicas similares, indican la probabilidad de que una sustancia cause alergias cutáneas.

Tras el examen y evaluación de los datos, el comité científico de seguridad de los consumidores de la unión europea identificó un total de 54 sustancias aromatizantes individuales y 28 extractos naturales (aceites esenciales) como "alérgenos de contacto probados en humanos". El comité también categorizó 18 sustancias químicas individuales y un extracto natural como "alérgenos de contacto probados en animales", 26 sustancias químicas individuales como "alérgenos de contacto probables" y 35 sustancias químicas individuales más 13 extractos naturales como "alérgenos de contacto posibles" (European Commission, 2023).

Alergenos de contacto establecidos en humanos		
NOMBRE	CAS	Evidencia en humanos
ACETYLCEDRENE	32388-55-9	+
AMYL CINNAMAL*	122-40-7	++
AMYL CINNAMYL ALCOHOL*	101-85-9	++
AMYL SALICYLATE	2050-08-0	+
trans-ANETHOLE	4180-23-8	+ (r.t.)
ANISE ALCOHOL*	105-13-5	+
BENZALDEHYDE	100-52-7	+
BENZYL ALCOHOL*	100-51-6	++
BENZYL BENZOATE*	120-51-4	++
BENZYL CINNAMATE*	103-41-3	++
BENZYL SALICYLATE*	118-58-1	++
BUTYLPHENYL METHYLPROPIONAL *	80-54-6	++
CAMPHOR	76-22-2 / 464-49-3	+ (r.t.)
beta-CARYOPHYLLENE (ox.)	87-44-5	Non-ox.: +, ox.: +
CARVONE	99-49-0 / 6485-40-1 / 2244-16-8	+ (r.t.)
CINNAMAL*	104-55-2	+++
CINNAMYL ALCOHOL*	104-54-1	+++
CITRAL*	5392-40-5	+++
CITRONELLOL*	106-22-9 / 1117-61-9 / 7540-51-4	++
COUMARIN*	91-64-5	+++
(DAMASCENONE) ROSE KETONE-4	23696-85-7	+ (r.t.)
alpha-DAMASCONE (TMCHB)	43052-87-5 / 23726-94-5	++
cis-beta-DAMASCONE	23726-92-3	+
delta-DAMASCONE	57378-68-4	+
DIMETHYLBENZYL CARBINYL ACETATE (DMBCA)	151-05-3	+
EUGENOL*	97-53-0	+++
FARNESOL*	4602-84-0	++ - +++
GERANIOL*	106-24-1	+++
HEXADECANOLACTONE	109-29-5	+ (r.t.)
HEXAMETHYLINDANOPYRAN	1222-05-5	++
HEXYL CINNAMAL*	101-86-0	++
HYDROXYISOHEXYL 3-CYCLOHEXENE CARBOXALDEHYDE (HICC)*	31906-04-4 / 51414-25-6	++++
HYDROXYCITRONELLAL*	107-75-5	+++
ISOEUGENOL*	97-54-1	+++
alpha-ISOMETHYL IONONE*	127-51-5	++
(DL)-LIMONENE*	138-86-3	++ (non-ox.); +++ (ox.)

Continuación Alergenos de contacto establecidos en humanos		
LINALOOL*	78-70-6	++ (non-ox.) +++ (ox.)
LINALYL ACETATE	115-95-7	+ (non-ox.) ++ (ox.)
MENTHOL	1490-04-6 / 89-78-1 / 2216-51-5	++
6-METHYL COUMARIN	92-48-8	++
METHYL 2-OCTYNOATE*	111-12-6	++
METHYL SALICYLATE	119-36-8	+
3-METHYL-5-(2,2,3-TRIMETHYL-3-CYCLOPENTENYL)PENT-4-EN-2-OL	67801-20-1	++ (r.t.)
alpha-PINENE and beta-PINENE	80-56-8 and 127-91-3, resp.	++
PROPYLIDENE PHTHALIDE	17369-59-4	+ (r.t.)
SALICYLALDEHYDE	90-02-8	++
alpha-SANTALOL and beta-SANTALOL	115-71-9 and 77-42-9, resp.	++
SCLAREOL	515-03-7	+
TERPINEOL (mixture of isomers)	8000-41-7	+
alpha-TERPINEOL	10482-56-1 / 98-55-5	
Terpinolene	586-62-9	+
TETRAMETHYL ACETYLOCTAHYDRONAPHTHALENES	54464-57-2 / 54464-59-4 / 68155-66-8 / 68155-67-9	+
TRIMETHYL-BENZENEPROPANOL (Majantol)	103694-68-4	++
VANILLIN	121-33-5	++
Natural extracts		
CANANGA ODORATA and Ylang-ylang oil	83863-30-3; 8006-81-3	+++
CEDRUS ATLANTICA BARK OIL	92201-55-3; 8000-27-9	++
CINNAMOMUM CASSIA LEAF OIL CINNAMOMUM ZEYLANICUM BARK OIL	8007-80-5 84649-98-9	++ (r.t.)
CITRUS AURANTIUM AMARA FLOWER / PEEL OIL	8016-38-4; 72968-50-4	++
CITRUS BERGAMIA PEEL OIL EXPRESSED	89957-91-5	+ (r.t.)
CITRUS LIMONUM PEEL OIL EXPRESSED	84929-31-7	++
CITRUS SINENSIS (syn.: AURANTIUM DULCIS) PEEL OIL EXPRESSED	97766-30-8; 8028-48-6	++
CYMBOPOGON CITRATUS / SCHOENANTHUS OILS	89998-14-1; 8007-02-1; 89998-16-3	++
EUCALYPTUS SPP. LEAF OIL	92502-70-0; 8000-48-4	++
EUGENIA CARYOPHYLLUS LEAF / FLOWER OIL	8000-34-8	+++
EVERNIA FURFURACEA EXTRACT*	90028-67-4	+++
EVERNIA PRUNASTRI EXTRACT*	90028-68-5	+++
JASMINUM GRANDIFLORUM / OFFICINALE	84776-64-7; 90045-94-6; 8022-96-6	+++
JUNIPERUS VIRGINIANA	8000-27-9;	++
	85085-41-2	

Continuación Alergenos de contacto establecidos en humanos		
LAURUS NOBILIS	8002-41-3; 8007-48-5; 84603-73-6	++
LAVANDULA HYBRIDA	91722-69-9	+ (r.t.)
LAVANDULA OFFICINALIS	84776-65-8	++
MENTHA PIPERITA	8006-90-4; 84082-70-2	++
MENTHA SPICATA	84696-51-5	++
MYROXYLON PEREIRAE	8007-00-9;	++++
NARCISSUS SPP.	diverse	++
PELARGONIUM GRAVEOLENS	90082-51-2; 8000-46-2	++
PINUS MUGO/PUMILA	90082-72-7 / 97676-05-6	++
POGOSTEMON CABLIN	8014-09-3; 84238-39-1	++
ROSE FLOWER OIL (ROSA SPP.)	Diverse	++
SANTALUM ALBUM	84787-70-2; 8006-87-9	+++
TURPENTINE (oil)	8006-64-2; 9005-90-7; 8052-14-0	++++
VERBENA ABSOLUTE	02/12/8024	++

Figura 40. Tabla de sustancias alergénicas en humanos. Tomado de FDA, 2023

Más de 2500 ingredientes de fragancia se utilizan en perfumes y productos de consumo perfumados, como cosméticos, detergentes, suavizantes para tejidos y otros productos domésticos, para conferirles un olor específico, por lo general agradable.

Dado que dichos ingredientes pueden causar irritaciones cutáneas o reacciones alérgicas, el comité científico de la Unión Europea emitió una lista de 26 sustancias que deben identificarse en los productos para informar a los consumidores desde 1999 (Fig 41).

Sobre esta base, la directiva sobre cosméticos dispuso que la presencia de cualquiera de estas 26 sustancias se indicara en la lista de ingredientes cuando estuvieran presentes en concentraciones superiores a 0,001 % en los productos que no requieren aclarado y 0,01 % en los que sí. Dichos límites se establecieron como una decisión administrativa pragmática ante la ausencia de umbrales conocidos para estos alérgenos. Estas directrices de etiquetado permiten a los pacientes alérgicos a una, o más de estas 26 sustancias químicas aromatizantes, evitar los productos que las contienen.

INGREDIENT	CAS-No.
Alpha-Isomethyl Ionone*	127-51-5
Amyl Cinnamal*	122-40-7
Amylcinnamyl Alcohol*	101-85-9
Anise Alcohol	105-13-5
Benzyl Alcohol	100-51-6
Benzyl Benzoate	120-51-4
Benzyl Cinnamate	103-41-3
Benzyl Salicylate	118-58-1
Butylphenyl Methylpropional*	80-54-6
Cinnamal	104-55-2
Cinnamyl Alcohol	104-54-1
Citral	5392-40-5
Citronellol	106-22-9
Coumarin	91-64-5
Eugenol	97-53-0
Evernia Furfuracea (Treemoss) Extract	68648-41-9/90028-67-4
Evernia prunastri (Oakmoss) Extract	68917-10-2/90028-68-5
Farnesol	4602-84-0
Geraniol	106-24-1
Hexyl Cinnamal*	101-86-0
Hydroxycitronellal*	107-75-5
Hydroxyisohexyl 3-Cyclohexene Carboxaldehyd	31906-04-4/51414-25-6
Isoeugenol	97-54-1
Limonene	5989-27-5
Linalool	78-70-6
Methyl 2-Octynoate*	111-12-6

Figura 41. sustancias que deben identificarse en los productos para informar a los consumidores, Tomada de European comisión (European Commission. Directorate General for Health & Consumers., 2012)

Como resultado de esta directiva, se hizo necesario desarrollar métodos analíticos que permitieran cuantificar niveles bajos de estos “alérgenos” en presencia de mezclas altamente complejas, como las fragancias.

Dentro de IFF, se ha desarrollado un método para el análisis de alérgenos en materias primas y perfumes. El método utiliza un sistema Shimadzu CG-DSM (fig. 42) y se puede utilizar para varios tipos de muestras como materias primas, perfumes terminados o sabores. Debido a la complejidad de estas muestras, existe el riesgo de que la coelución produzca alérgenos falsos positivos/negativos detectados o una cuantificación incorrecta. Para minimizar este riesgo de coelución, se utilizan dos columnas de diferente polaridad. El instrumento está equipado con dos inyectores, ambas columnas se instalan en el MSD mediante una férula de

doble orificio. Durante el análisis, el inyector automático inyecta secuencialmente la muestra en ambas columnas.



Figura 42. Sistema Shimadzu GC-MSD modelo GC2010, equipado con un auto muestreador AOC500 y un espectrómetro de masas GCMS QP2010

La adquisición se realiza en modo de escaneo completo, lo que brinda la capacidad de identificar componentes/alérgenos utilizando espectros completos y búsquedas en bibliotecas. Se utiliza un patrón interno para la cuantificación. Cada alérgeno se cuantifica utilizando un ion objetivo. Se prefiere que este ion sea lo más único posible y, por lo tanto, se elige con cuidado. El método verifica automáticamente la presencia y cantidad de todos los alérgenos. Sin embargo, se necesita una verificación manual de la identidad y la integración.

Para identificar/cuantificar con precisión todos los alérgenos, el instrumento necesita un mantenimiento regular y el método necesita una calibración regular. La calibración se realiza utilizando 8 estándares con una cantidad conocida de cada alérgeno y cada estándar interno. Las curvas de calibración se configuran para cada alérgeno individualmente (fig. 43).

En total, se pueden identificar y cuantificar 28 alérgenos utilizando este método. Algunos alérgenos consisten en múltiples isómeros (por ejemplo: aldehído cinámico hexilo, que consiste en un isómero cis-trans).

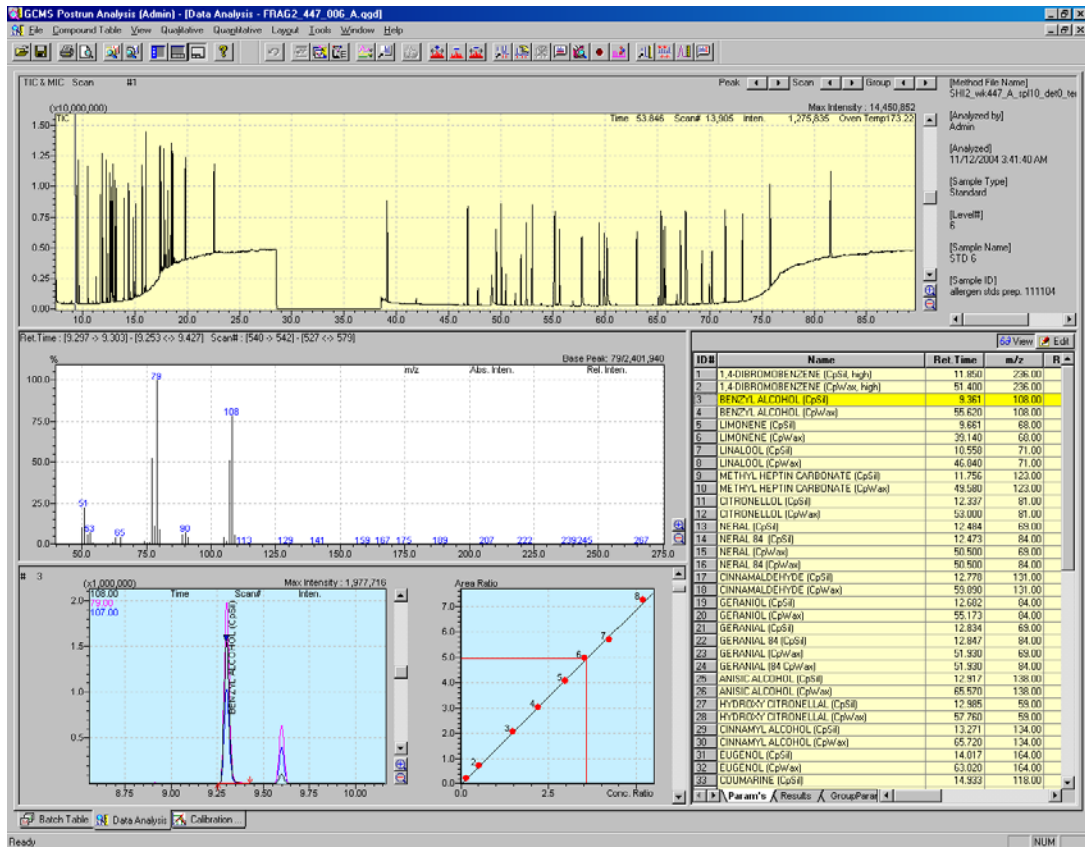


Figura 43. Vista general de la calibración de Alérgenos

¿Qué vacíos existen en los conocimientos actuales sobre la alergia a los perfumes?

Aunque la ciencia ha avanzado en los últimos años, existen vacíos en los conocimientos sobre:

- Qué sustancias aromatizantes específicas causan alergias en los seres humanos,
- Hasta qué punto es mayor el riesgo de desarrollar alergias entre la población vulnerable en comparación con la población normal,
- Qué niveles de exposición pueden considerarse seguros para los grupos de población no alérgicos y susceptibles, y
- Cómo, en qué medida y con qué frecuencia los consumidores utilizan productos cosméticos perfumados.

Un conocimiento más profundo de estos aspectos mejorará la evaluación y gestión de riesgos de los productos perfumados con fragancias alérgicas (FDA, 2023).

7.4.1 Marco regulatorio en México

En México el marco regulatorio para las fragancias esta principalmente regulado por la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), que es una entidad del gobierno, encargada de proteger la salud pública y regular los productos que se comercializan en el país. Las fragancias entran en la categoría de productos cosméticos y como tal, están sujetas a regulaciones específicas. Los tres marcos normativos que existen son: La Norma Oficial Mexicana 259, relacionada con las buenas prácticas de fabricación, la Norma Oficial Mexicana 189, que tiene que ver con el etiquetado y envasado de productos para el aseo personal, y el Acuerdo de Sustancias que se utilizan para fabricar cosméticos y perfumes.

7.5 Otras Aportaciones Empresa-Empleado

IFF ha contribuido significativamente a mi crecimiento profesional al permitirme formar parte del equipo de analistas remotos READI. Además, he tenido la oportunidad de involucrarme en otras áreas de la empresa, como el mantenimiento del sistema de gestión de calidad. Esto incluye la realización de auditorías internas en el departamento READI, así como en otras áreas clave del sistema de gestión de calidad, como compras, recursos humanos, producción, laboratorio de control de calidad, centro creativo, entre otras. Esta experiencia me ha capacitado como auditor interno, permitiéndome contribuir al equipo de auditores internos. Además, he recibido formación y capacitación en análisis sensorial, lo cual me ha habilitado para integrar tanto la parte técnica cromatográfica como la sensorial en la interpretación de los resultados de los análisis. Asimismo, he participado activamente en paneles sensoriales con el fin de identificar materiales contaminados y/o rechazados. Adicionalmente, se me ha encomendado la tarea de ser el líder de varios proyectos de integración de nuevos laboratorios en Europa y Asia a los servicios que proporciona el departamento de READI obteniendo resultados satisfactorios para ambas partes, lo que se traduce en una expansión del departamento y afianzamiento de clientes.

IFF ha contribuido a mi bienestar personal mediante una retribución monetaria justa y horarios flexibles que me han permitido desarrollarme en otros ámbitos de la vida como el artístico y familiar.

Por mi parte, me he esforzado cada día por lograr los objetivos de la empresa mediante una actitud positiva y asumiendo los compromisos y responsabilidades que se me han encomendado. La adaptación al cambio ha sido una contribución que también he realizado para con la empresa ya que las circunstancias globales del mercado así lo demandan, por ejemplo, el afrontar diversas crisis como el desabasto de materias primas derivado de contingencias en los principales proveedores de materiales a nivel mundial y la crisis por COVID 19.

8. CONCLUSIONES

Hoy en día el mundo de la perfumería no se concibe sin cromatógrafo de gases. El cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas es el instrumento de mayor importancia dentro de la industria perfumera ya que debido a su alta especialización, se benefician las distintas áreas que interactúan para descubrir y producir nuevos aromas destinados al uso común de los seres humanos.

La aplicación de la CG-EM para el análisis de fragancias no se limita al uso cotidiano en la verificación de un adecuado proceso de producción, sino que trasciende a otras áreas como son el desarrollo de nuevas fragancias, atención a clientes y asuntos regulatorios.

Existen numerosos retos aun por enfrentar por ejemplo el descubrimiento constante de nuevas moléculas con cualidades odoríferas, la adulteración de fragancias y el potencial riesgo para la población que las utiliza, con lo cual es de vital importancia tener personal especializado tanto en el funcionamiento del instrumento como en la interpretación de los datos que se obtienen para brindar la mayor seguridad posible en los productos comerciales.

Existen materiales que no son detectables mediante el CG pero que sí lo son ante un análisis sensorial y viceversa, por ello, un entrenamiento tanto en la parte sensorial como en la cromatografía es de mucha ayuda al momento de detectar no conformidades.

En México, la legislación para alérgenos es menos exigente que en los países desarrollados, lo que mantiene en un riesgo mayor a la población que utiliza productos perfumados. Es necesario contar con más personal con una formación orientada a la salud pública para vigilar y reducir el riesgo de alergias por productos perfumados.

Como QFB es importante mantener el enfoque en el impacto a la salud verificando el estado validado de los métodos y actualizando la información relacionada constantemente.

En este trabajo se expusieron algunos ejemplos de los problemas encontrados a diario en el análisis de fragancias mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas con el fin de compartir experiencias con la comunidad de la FES Cuautitlán y alentarla a incursionar en este ramo industrial.

9. REFERENCIAS

- About Us / IFF*. (s/f). Recuperado el 16 de enero de 2023, de <https://www.iff.com/about>
- Van Asten, A. (2002). The importance of GC and GC-MS in perfume analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 21(9), 698–708.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)00807-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00807-5)
- Denyer, I. (2011). *Something old, something new*[Documental]. BBC.
<https://www.bbc.co.uk/programmes/b0126vf0>
- Mata Ferrusquía, R. (2022, diciembre 7). La industria de las fragancias huele bien en México. *Forbes México*. . <https://www.forbes.com.mx/la-industria-de-las-fragancias-huele-bien-en-mexico/>
- Calkin, R. R., y Jellinek, J. S. (1996). *La Perfumería: Práctica y Principios*. Acribia.
<https://books.google.com.mx/books?id=PUcIAAAACAAJ>
- García Vieyra, P. (2020). *La industria de fragancias evoluciona de la mano del consumidor - Perfumería Moderna*. Perfumería Moderna.
<https://www.perfumeriamoderna.com/fragancias/industria-fragancias-evolucionamano-consumidor/>
- Kazemi, Z., Aboutaleb, E., Shahsavani, A., Kermani, M., & Kazemi, Z. (2022). Evaluation of pollutants in perfumes, colognes and health effects on the consumer: a systematic review. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 20(1), 589.
<https://doi.org/10.1007/S40201-021-00783-X>
- Berger, R. G. (2007). *Flavours and Fragrances Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*. 43–48. <https://doi.org/10.1007/b136889>
- Séquin, M. (2017). Volatiles for the Perfume Industry. En *Encyclopedia of Applied Plant Sciences* (pp. 393–398). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394807-6.00089-7>
- Safaralie, A., Fatemi, S., & Sefidkon, F. (2008). Essential oil composition of *Valeriana officinalis* L. roots cultivated in Iran. Comparative analysis between supercritical CO₂ extraction and hydrodistillation. *Journal of Chromatography A*, 1180(1–2), 159–164.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.12.011>
- Yamini, Y., Bahramifar, N., Sefidkon, F., Saharkhiz, M. J., & Salamifar, E. (2008). Extraction of essential oil from *Pimpinella anisum* using supercritical carbon dioxide

- and comparison with hydrodistillation. *Natural Product Research*, 22(3), 212–218.
<https://doi.org/10.1080/14786410601130349>
- Sell, C. (2006). *The Chemistry of Fragrances: From Perfumer to Consumer*. Royal Society of Chemistry. <https://books.google.com.mx/books?id=G90hcKHwrqEC>
- Agilent Technologies. (s/f). *Guía de selección de columnas Agilent J&W para GC*. Recuperado el 15 de enero de 2024, de <https://www.agilent.com/cs/library/selectionguide/Public/5990-5488ES.pdf>
- HARRIS, D. C. (2003). *Análisis químico cuantitativo*. Reverté.
- Hashemi, S. M. B., Khaneghah, A. M., & de Souza Sant'Ana, A. (Eds.). (2018). *Essential oils in food processing: chemistry, safety and applications*. Hoboken: John Wiley & Sons.
- Wade, L. G. (2004). *Química orgánica*. España: Pearson Educación.
- Surburg, Horst., & Paten, Johannes. (2006). *Common Fragrance and Flavor Materials*. Wiley-VCH.
- Martínez C. 2010. Computo en nube: ventajas y desventajas. DGTIC. 8.
<https://revista.seguridad.unam.mx/numero-08/computo-en-nube-ventajas-y-desventajas>
- O'reilly, T. (2005). *What Is Web 2.0 Design Patterns and Business Models for the Next Generation of Software*. <http://www.oreillynet.com/lpt/a/6228http://www.oreilly.com/>
- Mert, G., Şen, E., & Yılmaz, O. (2020). *DATA, INFORMATION AND KNOWLEDGE MANAGEMENT*. Nobel.
https://www.academia.edu/50881819/Data_Information_and_Knowledge_Management
- Reuters, 2023. Citrix Systems Inc. Consultado el 20 de noviembre de 2023
<https://web.archive.org/web/20170825022934/https://in.reuters.com/finance/stocks/companyProfile?symbol=CTXS.OQ>
- Chemlaunch, 2023. Agilent Technologies and Healex Systems Ltd. Collaborate on Remote Instrument Access and Control Software. Consultado el 20 de noviembre de 2023.
<http://www.chemlaunch.com/about/news2.asp>.
- Agilent technologies, 2023. Open Lab CDS Match Compare. Consultado el 20 de noviembre de 2023. https://gcms.cz/labrulez-bucket-strapih3hsga3/Agilent_Open_LAB_Match_Compare_A_01_01_9983007d14/Agilent-OpenLAB_Match-Compare_A.01.01.pdf

- Du, X., Y Zeisel, S. H. (2013). Spectral deconvolution for gas chromatography mass spectrometry-based metabolomics: Current status and future perspectives. En *Computational and Structural Biotechnology Journal* (Vol. 4, Número 5, p. e201301013). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.5936/csbj.201301013>
- SAP. 2023. ¿Qué es SAP?. Consultado el 20 de noviembre de 2023. <https://www.sap.com/latinamerica/about/what-is-sap.html>
- NIST. 2023. Libro del web de Química del NIST. Consultado el 20 de noviembre de 2023. <https://webbook.nist.gov/chemistry/index.html.es>
- The Good Scents Company. 2023. Consultado el 20 de noviembre de 2023. <http://www.thegoodscentscompany.com/>
- Mookherjee, B. D., Y Trenkle, R. W. (1989). *United States Patent (19). SCHIFF BASE REACTION PRODUCT OF ETHYL VANILLIN AND METHYL ANTHRANLATE AND ORGANOLEPTIC USES THEREOF.* <https://patents.google.com/patent/US5008437A/en>
- Rowe, D. (2009). Chemistry and Technology of Flavors and Fragrances. En *Chemistry and Technology of Flavours and Fragrances* (pp. 244–260). Wiley Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781444305517.ch10>
- European Commission. 2012. Perfume Allergies. Consultado el 25 de noviembre de 2023. https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/opinions_layman/perfume-allergies/en/index.htm
- FDA U.S. FOOD & DRUG Administration. 2022. Allergen in cosmetics. Consultado el 25 de noviembre de 2023. <https://www.fda.gov/cosmetics/cosmetic-ingredients/allergens-cosmetics>
- SEGOB, Diario oficial de la federación. 2022. NOM-259-SSA1-2022, Productos y servicios. Buenas prácticas de fabricación en productos cosméticos. Consultado el 30 de noviembre de 2023. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5657034&fecha=05/07/2022#gsc.tab=0
- SEGOB, Diario oficial de la federación. 2018. NOM-189-SSA1/SCFI-2018, Productos y servicios. Etiquetado y envasado para productos de aseo de uso doméstico. Consultado el 30 de noviembre de 2023. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5546442&fecha=13/12/2018#gsc.tab=0

SEGOB, Diario oficial de la federación. 2010. Acuerdo por el que se determinan las sustancias prohibidas y restringidas en la elaboración de productos de perfumería y belleza. Consultado el 30 de noviembre de 2023.
https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5143790&fecha=21/05/2010#gsc.tab=0

10. ABREVIATURAS

CG Cromatografía de Gases.

COFEPRIS Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios.

CG-EM Cromatografía de Gases Acoplada a Espectrometría de Masas.

DSM Detector Selectivo de Masas.

EM Espectrometría de Masas.

FID Detector de Ionización de Flama (Por sus siglas en ingles).

NIST Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (Por sus siglas en ingles).

READI Análisis Remoto e Interpretación de Datos (Por sus siglas en ingles).

SAP Análisis de Sistemas y Desarrollo de Programas (Por sus siglas en alemán).

SGE Sistemas de Gestión Empresarial.

TIC Tecnologías de la información y las comunicaciones

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Ejemplos de isoprenoides volátiles de plantas	10
Figura 2. Ejemplos de compuestos volátiles con nitrógeno y azufre	11
Figura 3. Inyector con y sin dilución	13
Figura 4. Estructura de una columna capilar.	14
Figura 5. A) Columna capilar B) Columna capilar montada en el horno del cromatógrafo de gases.	15
Figura 6. Tabla de polaridad de fases estacionarias	15
Figura 7. Relación de retención – polaridad.	16
Figura 8. Fases estacionarias de uso frecuente en cromatografía de gases	17
Figura 9: Polaridad de solutos	18
Figura 10. Detector de ionización de flama	19
Figura 11. Cromatograma típico	20
Figura 12. Diagrama de un espectrómetro de masas	23
Figura 13. Diagrama de un filtro cuadrupolo de masas	24
Figura 14. Estructura química del limoneno	25
Figura 15. Espectro de masas (m/z) de limoneno representado en gráfica de barras	25
Figura 16. Diagrama de bloques de un cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas	26
Figura 17. Fotografía de un Cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas modelo AGILENT 7890B/5977 ^a	27
Figura 18. Comparación de dos muestras vs referencia en MatchCompare	30
Figura 19. Descripción de los indicadores de diferencias entre muestra y referencia en MatchCompare	31
Figura 20. Fotografía de MatchCompare de una muestra compleja	32
Figura 21. Ejemplo de deconvolución	34
Figura 22. Proceso general de deconvolución.	36
Figura 23. Comparación de cromatogramas de una fragancia destinada para un desodorante	39
Figura 24. Metilcedrilcetona	39
Figura 25. Sobreposición de una muestra (a) y referencia (b) con el espectro del material puro Vertofix (c)	40
Figura 26. Impacto en el cromatograma de diferentes calidades de Vertofix	41
Figura 27. Exceso de un material en cromatografía de gases	42
Figura 28. Detección de un exceso de Oxido de difenilo mediante CG-EM	42
Figura 29. Propiedades fisicoquímicas del óxido de difenilo	43
Figura 30. Fragancia 1, contaminación cruzada	44
Figura 31. Fragancia 2, contaminación cruzada	44

Figura 32. Superposición de los cromatogramas de la muestra (a), referencia (b) y Galbanum oil (c)	45
Figura 33. Galbanum Oil contaminado comparado con una referencia aprobada	46
Figura 34. Espectros de masas encontrados en el análisis de Galbanum oil contaminado	46
Figura 35. Cromatograma de 2-Metildecanal degradado	48
Figura 36. Pico fuera de especificación al tiempo de retención 8.80min.	51
Figura 37. Espectro de masas de biclonoalactona	52
Figura 38. Espectro de masas del alcohol bencílico	52
Figura 39. Espectrometría de masas del pico de reacción entre biclonoalactona y alcohol bencílico	53
Figura 40. Tabla de sustancias alergénicas en humanos	55
Figura 41. Sustancias que deben identificarse en los productos	58
Figura 42. Sistema Shimadzu GC-MSD modelo GC2010	59
Figura 43. Vista general de la calibración de Alérgenos	60