

**ESTUDIO DE LA EVAPORACIÓN DE UN PERFUME APLICADO SOBRE LA  
PIEL EN FUNCIÓN DEL TIEMPO, EMPLEANDO HS-SPME/GC-MSD**

**ALIX JUDITH CUY PATIÑO  
SUSAN YANETH MERLO HERNÁNDEZ**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
BUCARAMANGA  
2004**

**ESTUDIO DE LA EVAPORACIÓN DE UN PERFUME APLICADO SOBRE LA  
PIEL EN FUNCIÓN DEL TIEMPO, EMPLEANDO HS-SPME/GC-MSD**

**ALIX JUDITH CUY PATIÑO  
SUSAN YANETH MERLO HERNÁNDEZ**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial  
para optar al Título de Químico**

**Directora del proyecto:  
ELENA E. STASHENKO  
Química, Ph.D.**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
BUCARAMANGA  
2004**

## **DEDICATORIA**

*A Georgina Hernández y Pedro Merlo, mis padres, a quienes amo con todo mi corazón, por su confianza, apoyo y amor; por darme la oportunidad de vivir, estudiar y ser feliz.*

*A mis hermanos, Octavio y Patricia, por el cariño, paciencia, comprensión y apoyo, por las alegrías y tristezas compartidas, porque más que hermanos hemos sido amigos y cómplices.*

*A mi familia, por estar a mi lado, porque los consejos y experiencias que hemos compartido han sido aportes valiosos al proyecto de mi vida.*

*Susan Yaneth*

*A mi mamá, Edilma Patiño, porque a pesar de las adversidades y los momentos difíciles que ha vivido, siempre tiene una sonrisa para expresarme su amor, confianza, comprensión y apoyo en cada instante de mi vida.*

*A mi abuelita, Edilma Lozano, por sus enseñanzas, amor, infinita generosidad y apoyo incondicional., Gracias por ser más que mi amiga, como una madre.*

*A Jorge, Lucho y Astrid, quienes a pesar de la distancia, siempre me han acompañado.*

*Alix Judith*

## **AGRADECIMIENTOS**

*A la Dra. Elena Stashenko, deseamos expresarle nuestra profunda admiración y gratitud por su constante interés y perseverancia en el crecimiento y continuo desarrollo del Laboratorio de Cromatografía, donde nos permitió no sólo realizar esta tesis de grado, sino adquirir experiencia y conocimientos valiosos en el campo profesional y humano.*

*Al Dr. Jairo René Martínez, por su colaboración y aportes realizados, que contribuyeron al desarrollo de este estudio.*

*A Natalia, Lina, Maryluz, Gloria, Lud Dary, Zulay y Libia, nuestras voluntarias.*

*A Javier Silva por su colaboración en la construcción de los dispositivos.*

*A nuestros compañeros del Laboratorio de Cromatografía, por los gratos momentos compartidos, especialmente a William Salgar, Deyanira, Geovanna, Beatríz, Amanda, Martha y nuestros tutores Amner y Mónica, por su colaboración y apoyo.*

*A los compañeros y amigos, que estuvieron a nuestro lado en los buenos y malos momentos, en especial a Martha Espinosa, Ciro, Maryluz, Fabio, Mechas y José Luis Molina.*

## TABLA DE CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	1
1. MARCO TEÓRICO	4
1.1 EL PERFUME	4
1.1.1. Definición	4
1.1.2 Historia del perfume	5
1.1.2.1 El perfume en la Antigüedad	5
1.1.2.2 El perfume en la Edad Moderna	7
1.1.3 Componentes de un perfume	8
1.1.4 Las notas de un perfume	10
1.1.4.1 Las notas de salida, altas o de cabeza	10
1.1.4.2 Las notas medias o de corazón	10
1.1.4.3 Las notas base, bajas o de fondo	10
1.1.5 Clasificación de los perfumes	10
1.1.5.1 Clasificación por genealogías	11
1.1.5.2 Clasificación H & R	11

1.1.6 Tipos de perfumes	16
1.2 LA PIEL	16
1.2.1 Composición de la piel	16
1.2.1.1 Epidermis	17
1.2.1.2 Dermis	18
1.2.1.3 Hipodermis	18
1.2.1.4 Pelo	18
1.2.1.5 Uñas	19
1.2.1.6 Glándulas sudoríparas	19
1.2.1.7 Glándulas sebáceas	19
1.2.2 Funciones de la piel	19
1.2.2.1 Función sudorípara	20
1.2.2.2 Función melánica	20
1.2.2.3 Función queratogénica	20
1.2.2.4 Función sebácea	20
1.2.2.5 Función de barrera de la piel	23
1.2.3 Absorción percutánea	23
1.2.3.1 Factores que afectan la absorción percutánea	27
1.2.4 Pigmentación de la piel	32
1.2.4.1 Síntesis de melanina	34
1.3 PERCEPCIÓN DEL OLOR: ESTRUCTURA Y MECANISMO	35
1.3.1 Teorías de la percepción del olor	36

1.3.2 Relación entre la estructura química de un compuesto y sus propiedades olfativas	39
1.4 EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DEL PERFUME APLICADO SOBRE LA PIEL	43
1.4.1 Microextracción en fase sólida	47
2. PARTE EXPERIMENTAL	51
2.1 EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS	51
2.2 CARACTERIZACIÓN DEL PERFUME POR INYECCIÓN DIRECTA	53
2.3 CARACTERIZACIÓN POR HS-SPME -GC/MS DE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DEL PERFUME	54
2.3.1 Selección del tipo de fibra para SPME	54
2.3.2 Selección del tiempo de exposición	55
2.3.3 Identificación de los compuestos volátiles del perfume	55
2.3.4 Identificación de las notas del perfume	55
2.4 EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DE LOS PERFUMES APLICADOS SOBRE LA PIEL	56
2.4.1 Diseño, construcción y evaluación de las condiciones de operación del equipo para monitorear volátiles de la piel.	56
2.4.2 Estudio del comportamiento de los compuestos volátiles del perfume aplicado sobre la piel.	57
2.5 DETERMINACIÓN DE TIEMPOS DE RETENCIÓN RELATIVOS ( $t_{RR}$ ) POR EL MÉTODO DE PATRÓN INTERNO, DE LOS COMPUESTOS DEL PERFUME.	58
3. ANÁLISIS DE RESULTADOS	60
3.1 CARACTERIZACIÓN DEL PERFUME POR INYECCIÓN DIRECTA	60

3.1.1 Estudio de la repetitividad de los $t_R$ , $t_{RR}$ y las cantidades de porcentajes relativos de los compuestos del perfume “Tendre Kiss” de Lalique	77
3.2 CARACTERIZACIÓN POR HS-SPME DE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DEL PERFUME	77
3.2.1 Selección del tipo de fibra para SPME	77
3.2.2 Selección del tiempo de exposición de la fibra PDMS/DVB	80
3.2.3 Estudio de la reproducibilidad de los $t_R$ , $t_{RR}$ y áreas cromatográficas relativas de los compuestos del perfume “Tendre Kiss” de Lalique extraídos por HS-SPME.	83
3.2.4 Identificación de los compuestos volátiles del perfume	84
3.2.5 Identificación de las notas del perfume	87
3.3 EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DE LOS PERFUMES APLICADOS SOBRE LA PIEL	91
3.3.1 Diseño, construcción y evaluación de las condiciones de operación del equipo para monitorear volátiles de la piel.	91
3.3.2 Estudio del comportamiento de los compuestos volátiles del perfume aplicado sobre la piel.	93
3.3.2.1 Comportamiento de la fracción volátil del perfume aplicado sobre la piel blanca	94
3.3.2.2 Comportamiento de la fracción volátil del perfume aplicado sobre la piel morena clara (trigueña)	98
3.3.2.3 Comportamiento de la fracción volátil del perfume aplicado sobre la piel morena	101
3.3.2.4 Comparación del comportamiento del perfume, aplicado sobre la piel blanca, morena clara y morena, en función del tiempo	104
3.4 ANÁLISIS DE LOS ESPECTROS DE MASAS DE ALGUNOS COMPUESTOS VOLÁTILES DEL PERFUME “TENDRE KISS” DE LALIQUE	109

4. CONCLUSIONES	118
5. RECOMENDACIONES	120
BIBLIOGRAFÍA	121
ANEXOS	130

## LISTA DE ABREVIATURAS

ATP	Adenosin trifosfato
BHA	Butilhidroxianisol
BHT	Butilhidroxitolueno
CV	Coeficiente de variación
$d_f$	Espesor de la fase estacionaria
D-HS	<i>Headspace</i> dinámico
D.I.	Diámetro interno
DOPA	Dihidroxifenilalanina
FID	Detector de ionización en llama
GC	Cromatografía de gases
GC-MS	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución

HRGC/MSD	Cromatografía de gases de alta resolución acoplada a un detector selectivo de masas
HS	<i>Headspace</i>
H & R	Haarman & Reimer
$I_K$	Índice de Kóvats
LC	Cromatografía líquida
MED	Minimal Erythema Dose (dosis mínima para producir un eritema)
MS	Espectrometría de masas
PA	Poliacrilato
PDMS	Poli(dimetilsiloxano)
PDMS/DVB	Poli(dimetilsiloxano)/Divinilbenceno
RDA	<i>Retro Diels-Alder</i>
S-HS	<i>Headspace</i> estático
SPME	Microextracción en fase sólida
TEWL	Transepidermal water loss (pérdida transepidérmica de agua)
$t_R$	Tiempo de retención

$t_{R\text{ istd}}$	Tiempo de retención del estándar interno
$t_{RR}$	Tiempo de retención relativo
VNO	Órgano vomeronasal

## LISTA DE FIGURAS

	pág.
<b>Figura 1.</b> Compuestos característicos que presentan: A. Olor cítrico general, B. Olor a mandarina, C. Olor a naranja, D. Olor a limón y E. Olor a bergamota.	12
<b>Figura 2.</b> Derivados de 3-oxo- $\alpha$ -ionol que evocan olor a tabaco rubio.	12
<b>Figura 3.</b> Compuestos que presentan olor floral.	13
<b>Figura 4.</b> Compuestos que presentan olor herbal y aromático.	14
<b>Figura 5.</b> Compuestos odoríferos del sándalo y el patchouli.	14
<b>Figura 6.</b> Compuestos que presentan olor amaderado.	15
<b>Figura 7.</b> Compuestos que presentan olor almizclado.	15
<b>Figura 8.</b> Capas y anexos de la piel: 1) Epidermis, 2) Dermis, 3) Hipodermis, 4) Folículo piloso, 5) Glándulas sebáceas, 6) Glándulas sudoríparas.	17
<b>Figura 9.</b> Síntesis de melanina.	35
<b>Figura 10.</b> Anatomía del sistema olfativo y localización del VNO.	37
<b>Figura 11.</b> Compuestos con olor a almizcle.	39
<b>Figura 12.</b> Intensidad del olor de los compuestos <i>orto</i> almizclados sustituidos con un grupo metilo.	40
<b>Figura 13.</b> Cambios en la calidad del olor de algunos compuestos.	40

<b>Figura 14.</b> Cambio en el olor de algunas $\gamma$ -lactonas con el tamaño del grupo alquilo sustituyente.	41
<b>Figura 15.</b> Cambio en el olor de acuerdo con algunas modificaciones en la molécula.	41
<b>Figura 16.</b> Cambios en el olor producidos por modificaciones en la estructura o en el grupo funcional de una molécula.	42
<b>Figura 17.</b> Dispositivo empleado para la microextracción en fase sólida (SPME).	48
<b>Figura 18.</b> Dispositivo empleado para el monitoreo de volátiles del perfume, aplicado sobre la piel del antebrazo.	57
<b>Figura 19.</b> Perfiles cromatográficos del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, obtenidos por HRGC/MSD, en la columna DB-1 (60 m). Para programación del horno: A. 45 °C (1 min) @ 5 °C/min hasta 250 °C (6 min) ; B. 40 °C (2 min) @ 2 °C/min hasta 200 °C (5 min) @ 10 °C/min hasta 270 °C (5 min).	61
<b>Figura 20.</b> Perfiles cromatográficos del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, obtenidos por HRGC/MSD, en la columna HP-5 (60 m). Para programación del horno: A. 50 °C (5 min) @ 5 °C/min hasta 270 °C (20 min) ; B. 50 °C (5 min) @ 1 °C/min hasta 200 °C (2 min) @ 3 °C/min hasta 250 °C (10 min).	62
<b>Figura 21.</b> Perfiles cromatográficos del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, obtenidos por SPME/HRGC/MSD, empleando diferentes fases estacionarias: A. PA ; B. PDMS y C. PDMS/DVB.	79
<b>Figura 22.</b> Perfiles cromatográficos del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, obtenidos por HS-SPME/HRGC/MSD, empleando diferentes tiempos de exposición: A. 15 min; B. 30 min; C. 60 min.	81
<b>Figura 23.</b> Perfil cromatográfico del <i>headspace</i> del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, obtenido por HS-SPME-GC/MSD, empleando la fibra de PDMS/DVB y 15 min de exposición.	85
<b>Figura 24.</b> Perfiles cromatográficos, obtenidos por HS-SPME-GC/FID, para la caracterización de las notas del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, empleando diferentes tiempos de evaporación: A. 3 min; B. 30 MIN y C. 120 min.	89

<b>Figura 25.</b> Dispositivo con sistema de flujo de aire, empleado para el estudio del comportamiento del perfume, aplicado sobre la piel del antebrazo.	91
<b>Figura 26.</b> Dispositivo sin corriente de aire, empleado para el estudio del comportamiento del perfume, aplicado sobre la piel del antebrazo.	92
<b>Figura 27.</b> Espectro de masas del $\alpha$ -terpineol y rutas de formación de sus iones fragmento característicos.	111
<b>Figura 28.</b> Espectro de masas del $\delta$ -cadineno y rutas de formación de sus iones fragmento característicos.	112
<b>Figura 29.</b> Espectro de masas del ftalato de dietilo y rutas de formación de sus iones fragmento característicos.	114
<b>Figura 30.</b> Espectro de masas del <i>cis</i> -dihidrojasmonato de metilo y rutas de formación de sus iones fragmento característicos.	115
<b>Figura 31.</b> Espectro de masas de la galaxolida y rutas de formación de sus iones fragmento característicos.	117

## LISTA DE TABLAS

	pág.
<b>Tabla 1.</b> Fototipos de la piel humana y su reactividad a la luz solar.	43
<b>Tabla 2.</b> Tiempos de evaporación para la evaluación de las notas del perfume.	56
<b>Tabla 3.</b> Identificación por HRGC/MSD de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique.	64
<b>Tabla 4.</b> Estructuras y características de olor de los principales componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique.	69
<b>Tabla 5.</b> Cantidades relativas promedio (%) de los compuestos volátiles del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, obtenidos por HS-SPME/GC/FID.	86
<b>Tabla 6.</b> Componentes principales de las notas del perfume “Tendre Kiss” de Lalique.	90
<b>Tabla 7.</b> Clasificación del color de piel de las voluntarias.	93

## LISTA DE GRÁFICAS

	pág.
<b>Gráfica 1.</b> Distribución por familias químicas de los compuestos del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, identificados por GC/MSD (inyección directa). A. Número de compuestos por familia (%). B. Cantidad relativa (%) por familia.	75
<b>Gráficas 2.</b> Distribución por familias de los hidrocarburos presentes en el perfume “Tendre Kiss” de Lalique, identificados por GC/MSD.	76
<b>Gráfica 3.</b> Comparación de las áreas cromatográficas de algunos compuestos extraídos con las fibras de PDMS, PDMS/DVB y PA, obtenidos por GC-FID, después de su exposición al <i>headspace</i> del perfume “Tendre Kiss” durante 30 min.	80
<b>Gráfica 4.</b> Comportamiento de algunos compuestos extraídos con la fibra de PDMS/DVB, en función del tiempo de su exposición a la fase vapor del perfume “Tendre Kiss” de Lalique.	82
<b>Gráfica 5.</b> Comportamiento de las áreas cromatográficas de algunos compuestos, en función del tiempo de la evaporación del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, aplicado sobre la piel blanca.	97
<b>Gráfica 6.</b> Comportamiento de las áreas cromatográficas de algunos compuestos en función del tiempo de la evaporación del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, aplicado sobre la piel trigueña.	100
<b>Gráfica 7.</b> Comportamiento de las áreas cromatográficas de algunos compuestos en función del tiempo de la evaporación del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, aplicado sobre la piel morena.	103
<b>Gráfica 8.</b> Comparación de las áreas promedio de algunos componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, aplicado sobre la piel blanca, morena clara y morena, en función del tiempo.	105

## LISTA DE ANEXOS

	pág.
<b>Anexo 1.</b> Formato de la encuesta realizada a las voluntarias para la clasificación de la piel.	131
<b>Anexo 2.</b> Identificación por HRGC/MSD (columna DB-1) de los compuestos presentes en el perfume “Tendre Kiss” de Lalique.	132
<b>Anexo 3.</b> Identificación por HRGC/MSD (columna HP-5) de los compuestos presentes en el perfume “Tendre Kiss” de Lalique.	134
<b>Anexo 4.</b> Estudio de la repetitividad de las cantidades relativas (%) de los compuestos presentes en el perfume “Tendre Kiss” de Lalique, por GC-FID.	137
<b>Anexo 5.</b> Estudio de la repetitividad de los $t_R$ y los $t_{RR}$ de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique.	141
<b>Anexo 6.</b> Estudio de la repetitividad de las áreas de los componentes volátiles del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, extraídos por HS-SPME de usando la fibra de PDMS/DVB (65 $\mu\text{m}$ ).	148
<b>Anexo 7.</b> Estudio de la repetitividad de las áreas de los componentes volátiles del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, extraídos por HS-SPME, usando la fibra de PDMS (100 $\mu\text{m}$ ).	150
<b>Anexo 8.</b> Estudio de la repetitividad de las áreas de los componentes volátiles del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, extraídos por HS-SPME, usando la fibra de PA (85 $\mu\text{m}$ ).	152

<b>Anexo 9.</b> Repetitividad de las áreas de algunos componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, extraídos por HS-SPME con la fibra de PDMS/DVB (65 µm), en función del tiempo.	154
<b>Anexo 10.</b> Estudio de la repetitividad de los $t_R$ y los $t_{RR}$ de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, aislados y analizados por HS-SPME/GC/FID.	156
<b>Anexo 11.</b> Estudio de la repetitividad de las cantidades relativas (%) de los compuestos presentes en el perfume “Tendre Kiss” de Lalique, por HS-SPME/GC/FID.	165
<b>Anexo 12.</b> . Áreas promedio de los componentes de las notas del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, extraídos por HS-SPME (PDMS/DVB, 65 µm).	170
<b>Anexo 13.</b> Gráficas de área cromatográfica (cantidad relativa) Vs tiempo de evaporación de algunos componentes de las notas de salida, extraídos por HS-SPME.	173
<b>Anexo 14.</b> Gráficas de área cromatográfica (cantidad relativa) Vs tiempo de evaporación de algunos componentes de las notas medias extraídos por HS-SPME.	174
<b>Anexo 15.</b> Gráficas de área cromatográfica (cantidad relativa) Vs tiempo de evaporación de algunos componentes de las notas de fondo extraídos por HS-SPME.	175
<b>Anexo 16.</b> Estudio de áreas y áreas promedio de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique aplicado sobre una lámina de vidrio.	176
<b>Anexo 17.</b> Estudio de áreas y áreas promedio de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique aplicado sobre el antebrazo de la voluntaria de piel blanca B1.	177
<b>Anexo 18.</b> Estudio de áreas y áreas promedio de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique aplicado sobre el antebrazo de la voluntaria de piel blanca B2.	178
<b>Anexo 19.</b> Estudio de áreas y áreas promedio de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique aplicado sobre el antebrazo de la voluntaria de piel trigueña T1.	179

<b>Anexo 20.</b> Estudio de áreas y áreas promedio de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique aplicado sobre el antebrazo de la voluntaria de piel trigueña T2.	180
<b>Anexo 21.</b> Estudio de áreas y áreas promedio de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique aplicado sobre el antebrazo de la voluntaria de piel morena M1.	181
<b>Anexo 22.</b> Estudio de áreas y áreas promedio de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique aplicado sobre el antebrazo de la voluntaria de piel morena M2.	182

**TITULO:** ESTUDIO DE LA DE EVAPORACIÓN DE UN PERFUME APLICADO SOBRE LA PIEL EN FUNCIÓN DEL TIEMPO, EMPLEANDO HS-SPME/GC -MSD\*.

**AUTORES:** ALIX JUDITH CUY PATIÑO Y SUSAN YANETH MERLO HERNÁNDEZ\*\*

**PALABRAS CLAVES:** Perfumes, *headspace*, Microextracción en fase sólida (SPME), Piel.

**RESUMEN:** Dependiendo del tipo de piel o de los tipos de componentes de la fragancia, varias pieles pueden tener o no un efecto significativo sobre la emisión de las moléculas odoríferas. Propiedades de la piel como pH, textura, color, composición de la película hidrolipídica, así como el género o raza del individuo, pueden afectar el proceso de evaporación y difusión de un perfume. En el presente trabajo se estudió la influencia del color de la piel sobre el perfil de evaporación de los componentes de un perfume (limoneno, nerol, *cis* y *trans*-dihidrojasmonato de metilo, acetato de nerilo, acetato de linalilo y  $\beta$ -metilionona, entre otros), aplicado sobre la parte interna del antebrazo. El método de extracción empleado para el monitoreo de los compuestos volátiles fue microextracción en fase sólida.

Con este trabajo se evaluó específicamente la influencia del color de la piel sobre el perfil de evaporación de los compuestos volátiles de un perfume aplicado sobre ésta, empleando un dispositivo construido especialmente para monitorear las sustancias difundidas en el *headspace* del perfume aplicado sobre la piel del antebrazo, en función del tiempo, utilizando SPME como técnica de extracción y concentración. La identificación de los compuestos se llevó a cabo por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), que constituye una de las técnicas analíticas más importantes en el análisis de perfumes, debido a su alta sensibilidad y capacidad de presentar una respuesta satisfactoria a las concentraciones, generalmente bajas, de los componentes más representativos y activos de las fragancias.

\*Tesis

\*\*Facultad de ciencias, Escuela de química, Elena Stashenko

**TITLE:** STUDY OF THE EVAPORATION OF A PERFUME APPLIED ONTO SKIN IN THE TIME FUNCTION, USING HS-SPME/GC-MSD\*.

**AUTORS:** ALIX JUDITH CUY PATIÑO Y SUSAN YANETH MERLO HERNÁNDEZ\*\*

**KEYWORDS:** Perfume, *headspace*, Solid Phase microextraction (SPME), Skin.

**ABSTRACT:** Depending of the type of skin or components of the fragrance, several skins can have or not a significant effect on the emission of odorants molecules. Properties of the skin like pH, texture, color, composition of the hydrolipidic film, as well as the gender or race of the individual, can affect the process of evaporation and diffusion of a perfume. In the present work was studied the influence of the color of the skin on the profile of evaporation of the components of a perfume (limonene, nerol, *cis* and *trans*-methylidihydrojasmonate, neryl acetate, linalyl acetate and  $\beta$ -methylionone, and others), applied onto internal part of the forearm. The extraction method used for the monitoring of volatile compounds was solid phase microextraction.

With this work the influence of the color of the skin was evaluated specifically on the profile of evaporation of volatile compounds of a perfume applied on this, using a device constructed specially to monitoring the substances spread in the headspace of the perfume applied onto skin of the forearm, in the time function, using SPME like technique extraction and concentration. The identification of compounds was made by GC-MS, it constitutes one of the more important analytical techniques in the perfume analysis, due to its high sensitivity and capacity to present a satisfactory answer to the concentrations, generally low, of the most representative and active components of the fragrances.

\*Tesis

\*\*Facultad de ciencias, Escuela de química, Elena Stashenko

## INTRODUCCIÓN

Los perfumes son mezclas complejas de sustancias odoríferas que desde la Antigüedad han desempeñado un papel muy importante en diferentes campos de la vida humana, donde han sido utilizados con fines religiosos, estéticos y sociales. También, es común su aplicación para mejorar la impresión estética y sensorial global, enmascarando olores desagradables de materias primas y productos industriales, como artículos de caucho y plástico.

En la actualidad, el perfume es un artículo que está presente en la vida de todas las personas gracias a su amplio campo de aplicaciones, constituyendo una industria más que multimillonaria en todo el mundo debido a que cosméticos, productos capilares, medicamentos, artículos de higiene y muchos otros productos manufacturados contienen compuestos odoríferos presentes en los perfumes.

Debido al creciente consumo de los productos mencionados, se hizo evidente la necesidad de desarrollar científicamente la industria de los perfumes para dar lugar a la producción de esencias sintéticas similares a las naturales que se encuentran en muy poca cantidad [1], así como la preparación y modificación de ésteres, nitrilos, aldehídos, hidrocarburos y acetales, entre otros, empleados en la elaboración de perfumes [2]. Lo anterior fue motivado por la disminución de los costos de fabricación y de los efectos dermatotóxicos causados por algunos productos presentes en los aceites esenciales [3].

Paralelamente, se presentó un rápido ritmo de innovación y desarrollo, acompañado de una continua investigación sobre composición, caracterización y control de calidad de perfumes y fragancias abarcando estudios de durabilidad,

evaporación, difusión en la piel, impacto ambiental, efectos dermatológicos, etc. [4-15].

En la búsqueda continua de un mejor comportamiento de los perfumes sobre la piel, los perfumistas y demás investigadores trabajan continuamente en la valoración de diferentes aspectos fisiológicos de la piel, de los componentes de los perfumes y sus reacciones con la piel, entre otros.

Una fragancia es realmente percibida por la difusión de sus compuestos al entorno. La difusión es una propiedad inherente a cada componente del perfume y está relacionada con la presión de vapor, las condiciones ambientales, como temperatura, humedad y flujo de aire, la concentración de la fragancia sobre la piel, la interacción de los compuestos con el vehículo en el que se encuentra y con la piel [16]. Dependiendo del tipo de piel o de los tipos de componentes de la fragancia, varias pieles pueden tener o no un efecto significativo sobre la emisión de las moléculas odoríferas [17].

Propiedades de la piel como pH, textura, color, composición de la película hidrolipídica, así como el género o raza del individuo, pueden afectar el proceso de evaporación y difusión de un perfume. Con este trabajo se desea evaluar específicamente la influencia del color de la piel sobre el comportamiento de los compuestos volátiles de un perfume aplicado sobre ésta, monitoreando las sustancias difundidas en el *headspace* en función del tiempo, con el fin de establecer los componentes odoríferos que perduran más sobre la piel después de la aplicación del perfume.

El monitoreo se realizó empleando microextracción en fase sólida (SPME) como técnica de extracción y concentración de los compuestos volátiles del perfume

aplicado sobre la piel, por ser una técnica conveniente para el análisis cualitativo y cuantitativo de compuestos fragantes [4], que permite la extracción de compuestos volátiles y semivolátiles, polares y no polares en varias matrices [18]. Se evaluaron diferentes tipos de fibra para SPME y se seleccionó la de PDMS/DVB, al presentar una mayor eficiencia de extracción de los compuestos volátiles, por exposición de ésta durante 15 min al *headspace* del perfume.

La determinación de los compuestos se llevó a cabo por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), que constituye una de las técnicas analíticas más importantes en el análisis de perfumes [19-20], debido a su alta sensibilidad y capacidad de presentar una respuesta satisfactoria a las concentraciones, generalmente bajas, de los componentes más representativos y activos de las fragancias. Gracias a esta técnica se identificaron 67 componentes en el perfume y 41 en su *headspace*.

Aunque el centro de la perfumería está en Europa, principalmente, los resultados obtenidos serán de interés y utilidad no sólo para los perfumistas y cosmetólogos a nivel internacional, también para los laboratorios cosméticos colombianos que satisfacen más del 80% de la demanda interna [21].

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1 EL PERFUME

#### 1.1.1 Definición

El perfume se define como una mezcla armónica de sustancias odoríferas (de 20 a 400 componentes) de origen natural (aceites esenciales) o sintético (productos orgánicos), que se utilizan para producir un olor agradable. El vocablo “perfume” proviene del Latín “per fumum” que significa “a través del humo”, pues los Egipcios creían que con el humo perfumado hacían llegar sus plegarias a los dioses durante sus rituales [22].

Las sustancias de origen natural, utilizadas para la elaboración de perfumes se clasifican de la siguiente manera:

- Animal: almizcle (cabra), castóreo (castor), civeta (gato) y ámbar (esperma de ballena).
- Vegetal: se encuentran en diversas partes de la planta, como flores (ylang-ylang), frutos (cáscara de naranja), semillas (anís), raíz (valeriana), entre otras.

Las sustancias de origen sintético suelen ser productos orgánicos: hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres alifáticos y aromáticos.

Los compuestos químicos responsables del carácter aromático de una fragancia pueden ser divididos en tres grandes categorías: terpenoides, alifáticos y bencenoides [23].

**Terpenoides.** Los primeros componentes aislados del aceite de terpentina se denominaron terpenos y sus derivados, incluyendo alcoholes, aldehídos y ésteres se llaman terpenoides. Su estructura molecular está basada en unidades de isopreno. Diferentes conformaciones y grupos sustituyentes producen compuestos terpenoides que poseen diferentes olores. Éstos incluyen, por ejemplo, *trans*- o *cis*-citral, el cual posee un olor parecido a limón; linalool, un componente primario de lavanda; mentol y alcanfor [23].

**Alifáticos.** Son compuestos orgánicos de cadena lineal, importantes porque generalmente comprenden la mayor parte de las fragancias. Entre ellos se encuentran los siguientes [23]:

- Aldehídos, principalmente entre 7 a 12 carbonos.
- Alcoholes, comúnmente con 6 a 12 carbonos.
- Ésteres, caracterizados por crear aromas frutales.
- Cetonas.
- Lactonas.

**Bencenoides.** Son procedentes del procesamiento de alquitrán de hulla. Algunos ejemplos importantes incluyen acetato de bencilo, componente primario de la fragancia de jazmín; acetato de feniletilo, posee olor semejante a rosas y el aldehído cinámico que provee el olor a canela [23].

## 1.1.2 Historia del perfume

### 1.1.2.1 El perfume en la Antigüedad

El perfume desempeñó un papel muy importante en la cultura de las civilizaciones antiguas y se han encontrado objetos destinados para su uso datados en el 3500 a.C. La historia del perfume tiene en Egipto su punto de partida. Los egipcios

tenían escasos conocimientos de las esencias florales y empleaban en su lugar azafrán, iris, aceite de cedro y mirra, por ejemplo [22].

Los perfumes se utilizaban principalmente en cultos religiosos y especialmente en la momificación. Los cadáveres se rellenaban con estopa impregnada en resina perfumada y en el ritual se quemaban incienso y otras sustancias aromáticas. El *kyphi*, por ejemplo, era el perfume sagrado que se quemaba en los templos egipcios [24]. El perfume era empleado también con fines estéticos o sociales. Para conservar los perfumes se usaban recipientes de plomo, plata, oro o alabastro; este último, el más indicado por su resistencia a la oxidación, resultaba muy caro y pronto se reemplazó por imitaciones de vidrio.

Los árabes fueron (entre los siglos VIII-X) los grandes maestros de la creación y fabricación de perfumes; desarrollaron avanzadas técnicas de destilación y mezclaron con gran éxito frutas, flores y hierbas con sustancias aromáticas animales como el almizcle, la civeta o el ámbar gris. El perfume promovió, a su vez, el comercio hacia Arabia, Persia, China y la India, de donde se importaban las principales materias primas, hierbas aromáticas y especias.

En Grecia el *status* social de los perfumistas era bastante alto y los griegos pronto se convirtieron en expertos en la elaboración del perfume. Utilizaban extractos de nardo, rosa, mejorana, iris, etc. y las propiedades olorosas de resinas y plantas eran muy valoradas. En Roma los perfumes empleados eran de tres tipos: en polvo, ungüentos de una sola fragancia y ungüentos líquidos a base de aceite de oliva. Los ingredientes más comunes eran las esencias de flores.

La India es la auténtica tierra prometida en lo que respecta a aromas y olores, se comercializaban aloe, sándalo, jazmín, mirra, lavanda y una amplia variedad de especias. El perfume estaba relacionado con los ritos religiosos y era utilizado para alejar los malos espíritus asociados con la enfermedad [22, 24-27].

### 1.1.2.2 El perfume en la Edad Moderna

El descubrimiento de América fue crucial para el desarrollo del perfume en Europa, al poner a disposición nuevas sustancias como la vainilla, el cacao y la canela. El aporte en el Renacimiento fue más intenso en Italia que en otros países, pero más tarde, en el siglo XVII, Francia tomó el relevo en el liderazgo de la perfumería sosteniéndolo hasta la actualidad.

El afán por individualizar la fragancia elevó al rango de “Secreto de Estado” la combinación de esencias que la convertía en única. En 1775 se abrió en París la que sería la primera tienda especializada del ramo, que exportaba productos al pujante mercado americano, sin embargo, la Revolución Francesa interrumpió la incesante demanda de perfumes y posteriormente se reactivó gracias a nuevos avances técnicos, como el vaporizador, que facilitaron posteriormente la vida a los grandes consumidores [22, 24-27].

Durante el periodo de Neoclasicismo surgieron las primeras imitaciones, los perfumes adoptaron nombres sugestivos que apuntaban hacia el desarrollo de las marcas y las esencias florales recuperaron su lugar de privilegio, el perfume constituía ya un importante negocio. La fabricación de perfumes se dividió entre los que satisfacían una demanda exquisita y reducida y los que centraban su actividad en la producción de aromas y jabones populares.

La segunda mitad del siglo XIX trajo consigo la obtención de las primeras esencias sintéticas, que revolucionaron el mundo del perfume. En 1882 se consiguió aislar y producir artificialmente el almizcle, en 1889 pudo sintetizarse la  $\alpha$ -ionona, característica del aroma de la violeta y se dieron los primeros pasos en el uso de los aldehídos que contribuyeron a reducir el costo total del perfume [22, 24-27].

A principios del siglo XX profesionales de otros países, como los Estados Unidos, empezaron su vinculación al restringido mundo de la elaboración de perfumes y a mediados de ese siglo ya formaban grandes empresas que se encargaron de poner a disposición del consumidor centenares de fragancias, aromas y perfumes a muy bajo precio. Esta masificación dio pie a otras variedades de esencias diluidas en alcohol. Otra práctica impulsada a principios del siglo XX fue la de ofrecer muestras en presentaciones diminutas [22, 24-27].

### **1.1.3 Componentes de un perfume**

Los perfumes comerciales usualmente están formados por tres componentes básicos: una mezcla de aceites esenciales, un solvente y un fijador [28-30].

- ✓ Los aceites esenciales son líquidos volátiles de composición química muy compleja que pueden localizarse en un determinado órgano vegetal, como flores (rosas, geranio), hojas (limonaria, eucalipto), frutos (cáscara de cítricos), raíces (sándalo, valeriana), corteza (canela, cedro), semillas (cardamomo, anís) o en toda la planta [31-35] y comunican a las partes de las plantas que los contienen olores particulares, generalmente agradables. Los aceites esenciales se obtienen como productos odoríferos cuando el material vegetal se somete a procesos físicos, tales como destilación, arrastre con vapor, extracción con solvente, entre otras. A diferencia de los aceites grasos, los aceites esenciales se evaporan o se volatilizan fácilmente y son de gran importancia en la industria de alimentos, en perfumería, cosméticos, farmacéutica, presentando un continuo crecimiento en el mercado mundial.
- ✓ El solvente más usado en la perfumería es el alcohol etílico. Su porcentaje determina si la fragancia es perfume o colonia: los perfumes contienen alcohol y 20-40% de aceite esencial; las colonias contienen 3-5% de aceite esencial, 80-90% de alcohol y agua [29].

- ✓ El fijador es un material que disminuye la velocidad de evaporación de los componentes más volátiles de un perfume [36] y, a su vez, retiene el olor o la nota predominante de la fragancia. Un fijador es una sustancia poco volátil, con buen poder de disolución, que disminuye la presión de vapor de las esencias e impide su rápida evaporación. Los fijadores se pueden clasificar en naturales y artificiales [22]:
  - Fijadores naturales: se encuentran sustancias de origen animal como almizcle, ámbar, argalia y castóreo y sustancias de origen vegetal agrupadas como bálsamos (bálsamo de copaiba, bálsamo de Perú, líquen de encina, olíbano, entre otros) y resinas (lirio, clavo, pachulí y vetiver).
  - Fijadores artificiales: también llamados “sintéticos” como indol, escatol, ftalato de dietilo, hexaltolida, entre otros.

Aparte de las esencias, el solvente y los fijadores, se utilizan muy pocos componentes en la formulación de los perfumes; adicionalmente, estos contienen agua, agentes quelantes, antioxidantes, colorantes y cuando el producto es en aerosol es necesario el propelente. El agua debe ser destilada o desmineralizada, debido a que contaminantes como el hierro y el cobre, pueden alterar catalíticamente las sustancias aromáticas. Los agentes quelantes como el ácido cítrico, el ácido glucónico o el edetato sódico, se emplean también para inhibir la acción de los metales presentes en trazas. Los antioxidantes usados comúnmente son el BHA (butilhidroxianisol) y el BHT (butilhidroxitolueno) en proporciones que van de 0,04 a 0,1 %. Para preservar los perfumes de la acción de los rayos UV sobre los colorantes artificiales, se utilizan sustancias derivadas de la benzofenona [30, 36-37].

#### **1.1.4 LAS NOTAS DE UN PERFUME**

Los perfumes presentan un olor o nota diferente en cada una de las distintas etapas de su evaporación. Los olores identificables se llaman “notas”. Existen tres tipos principales de notas [24].

**1.1.4.1 Las notas de salida, altas o de cabeza:** constituyen la primera impresión de un perfume, son volátiles y efímeras. Son las que se perciben al abrir un frasco de perfume y sólo duran unos min. En general, están formadas por aromas cítricos [23].

**1.1.4.2 Las notas medias o de corazón:** aportan al perfume el carácter que lo define. Son notas, a menudo florales, que armonizan el conjunto y determinan el carácter del perfume; aparecen después de varios min de su aplicación y permanecen por cierto tiempo.

**1.1.4.3 Las notas base, bajas o de fondo:** son las más persistentes y constituyen la base aromática de un perfume; son las llamadas fijadoras del perfume. Entre ellas se encuentran la vainilla y los olores almizclados. Es el aroma que permanece en la piel durante horas y se percibe a lo largo del día.

#### **1.1.5 CLASIFICACIÓN DE LOS PERFUMES**

Existen diversas formas de clasificar los perfumes, especialmente, de acuerdo con la naturaleza química de los compuestos odoríferos que lo constituyen y con base en el olor percibido. Esta clasificación permite asociar cada familia de fragancias a un género y una ocasión. Tradicionalmente la industria perfumera ha reservado para los hombres los olores más secos y fuertes, mientras que para las mujeres notas florales. Actualmente existen múltiples combinaciones, tanto de

ingredientes naturales como sintéticos y semisintéticos que conforman un gran número de familias y subfamilias olfativas [24, 28].

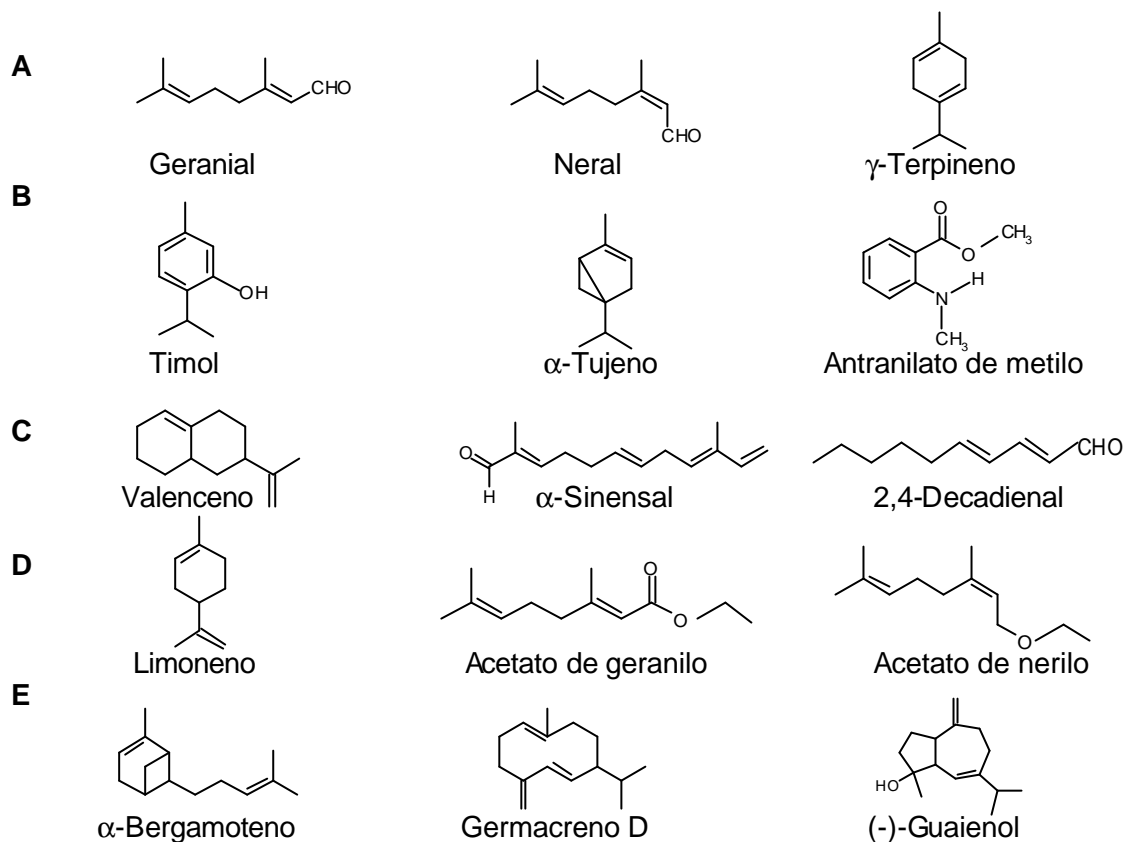
#### **1.1.5.1 Clasificación por genealogías**

Se basa en las relaciones de parentesco entre los diversos perfumes a partir de aromas fundamentales de su composición. Hasta la llegada de la cromatografía de gases, esta clasificación no había podido ser muy rigurosa, ya que la fórmula exacta de cada perfume es un secreto celosamente guardado. Hoy día los métodos modernos de análisis proporcionan información sobre la estructura principal de un aroma y la mayoría de sus componentes, tanto naturales como sintéticos, por lo que la clasificación por genealogías es especialmente interesante desde el punto de vista técnico y como método de estudio.

#### **1.1.5.2 Clasificación H & R**

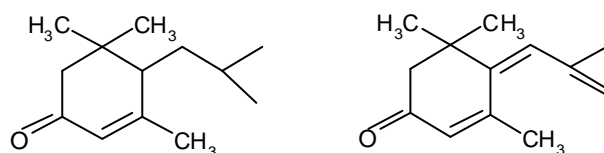
Propuesta por los fabricantes de fragancias Haarman & Reimer, esta clasificación incluye siete familias: hespéride, floral, fougere, chipre, madera, ámbar y cuero. Cada familia tiene un número variable de subfamilias. La clasificación no es rígida, sino que se adapta a las fragancias que van saliendo al mercado [24].

- ✓ **Hespéride.** Designa una familia que también se denomina **verdes** o **cítricos**. Es uno de los aromas más antiguos en perfumería. Se basan en los aceites esenciales del limón, bergamota, naranja, lima o mandarina, a menudo combinados con flor de azahar. En la **Figura 1** se muestran algunas estructuras de compuestos presentes en los aceites esenciales empleados para la elaboración de fragancias pertenecientes a esta familia [2, 38, 39].



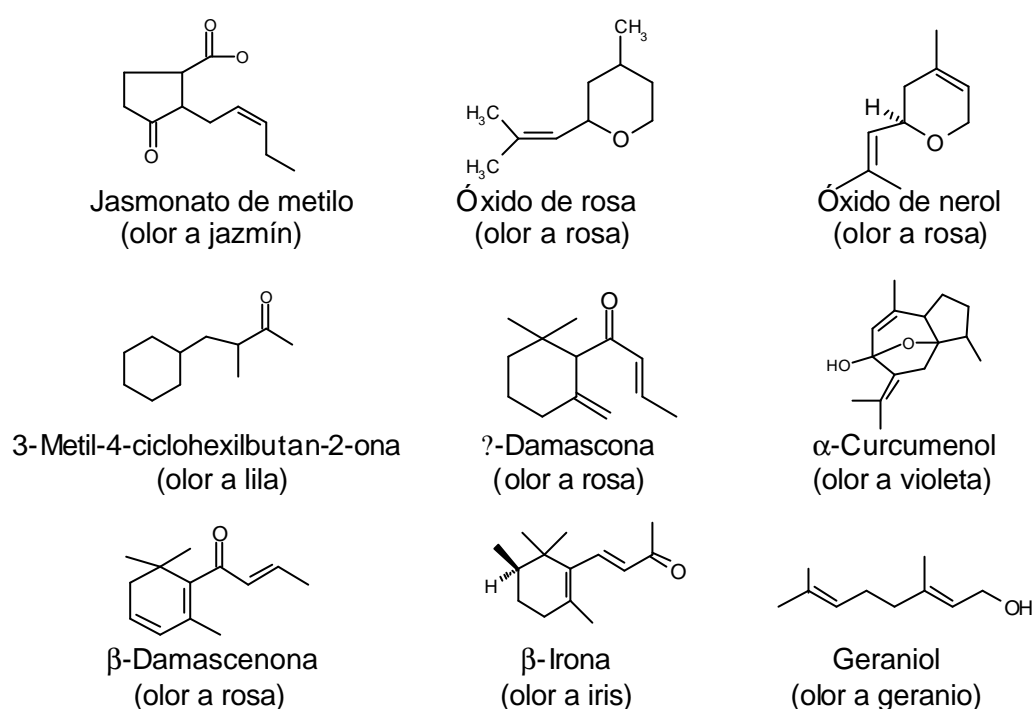
**Figura 1.** Compuestos característicos que presentan: A. Olor cítrico general, B. Olor a mandarina, C. Olor a naranja, D. Olor a limón y E. Olor a bergamota.

- ✓ **Cuero.** Esta familia se basa en notas secas que evocan el olor del cuero, con notas ahumadas, amaderadas y de tabaco rubio. Algunos compuestos que exhiben olor a tabaco rubio empleados para la fabricación de perfumes se muestran en la **Figura 2** [2, 38, 39].



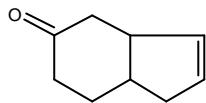
**Figura 2.** Derivados de 3-oxo- $\alpha$ -ionol que evocan olor a tabaco rubio.

- ✓ **Floral.** Esta familia ocupa un lugar destacado en la percepción de los olores naturales; extraer y analizar las esencias florales para reproducir su aroma por medio de materiales sintéticos, es uno de los problemas a los que más tiempo se han dedicado los perfumistas. Algunos ejemplos de compuestos que poseen un marcado aroma floral se muestran en la **Figura 3** [2, 38, 39].

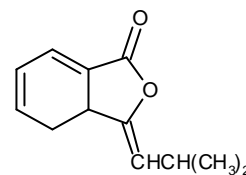


**Figura 3.** Compuestos que presentan olor floral.

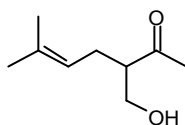
- ✓ **Fougere.** Predominan las notas de musgo, con unos toques de madera, combinadas con lavanda, hierbas aromáticas y flores. Algunos ejemplos de compuestos que exhiben estos aromas se presentan en la **Figura 4** [2, 38, 39].



6-Oxo-3a,4,5,6,7,7a-hexahidro-4,7-metanoindeno  
(olor a hierbas aromáticas)



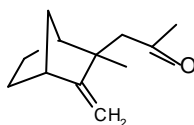
3-Isobutiliden-3 $\alpha$ ,4-dihidroftalida  
(olor a hierbas aromáticas)



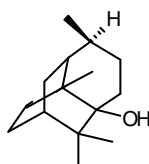
Lavandulol  
(olor a lavanda)

**Figura 4.** Compuestos que presentan olor herbal y aromático.

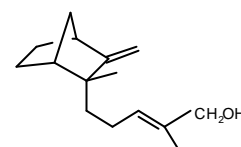
- ✓ **Chipre.** Esta familia se basa en un fondo de sándalo y pachulí, la frescura de la bergamota y la intensidad del musgo. En la **Figura 5** aparecen las estructuras de algunos compuestos que exhiben aromas que se emplean como base para los perfumes de esta familia [2, 38, 39].



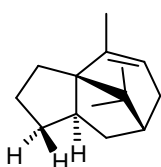
exo-Norbicicloecasantal  
(olor a patchouli)



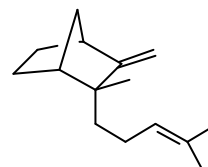
Patchulol  
(olor a patchouli)



epi- $\beta$ -Santalol  
(olor a sándalo)



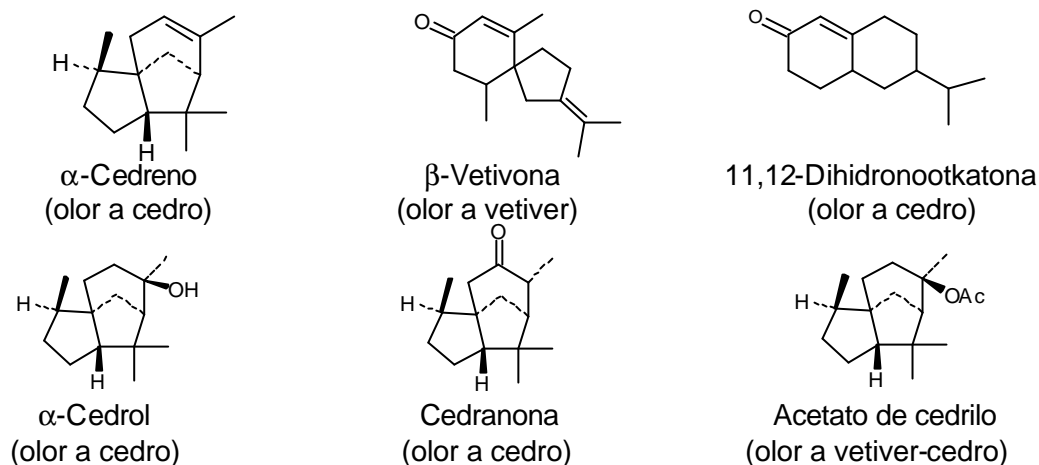
$\alpha$ -Patchuleno  
(olor a patchouli)



$\beta$ -Santaleno  
(olor a sándalo)

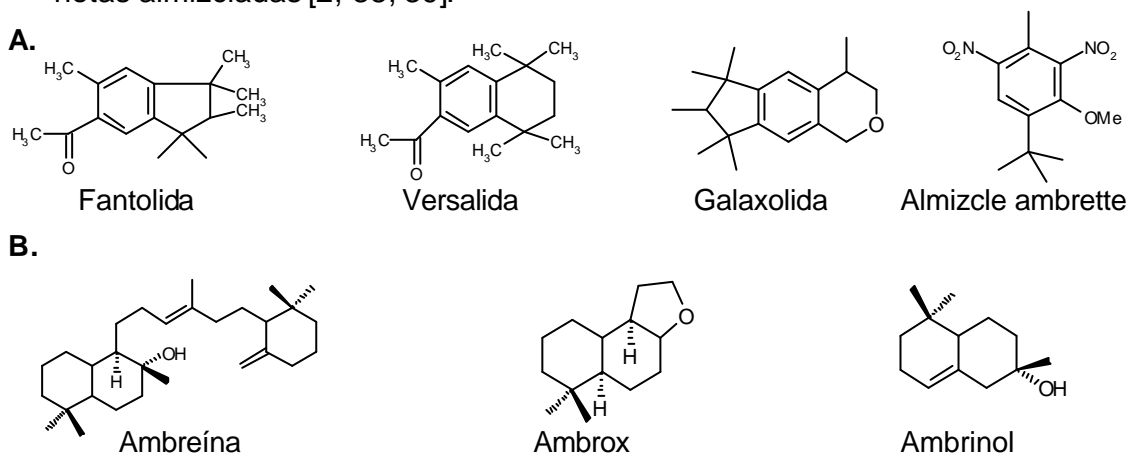
**Figura 5.** Compuestos odoríferos del sándalo y el patchouli.

- ✓ **Madera.** El sándalo junto con el cedro, el pino o el ciprés forman parte de la base de los perfumes amaderados, asociados casi siempre al pachulí y al vetiver. Las notas de cedro y vetiver son frescas y las de pachulí y sándalo aportan calidez. Algunos compuestos que se relacionan con estas notas, se citan en la **Figura 6** [2, 38, 39].



**Figura 6.** Compuestos que presentan olor amaderado.

- ✓ **Ámbar u oriental.** Se incluyen todos aquellos basados en vainillas, resinoides, esencias balsámicas y notas animales, relacionados con aromas de los países orientales. En la **Figura 7** se presentan compuestos característicos de las notas almizcladas [2, 38, 39].



**Figura 7.** Compuestos que presentan olor: A. Almizclado B. Ámbar

### 1.1.6 TIPOS DE PERFUMES

- ✓ **Esencia o extracto:** Es el perfume en su concentración más alta, el porcentaje varía, según las marcas, del 15 al 30 %. Es el tipo de perfume más costoso.
- ✓ **L'eau de parfum:** es la presentación que se utiliza comúnmente; es perfume en una concentración de esencia menor, entre 10 al 15 %, diluida en alcohol etílico de 90°.
- ✓ **L'eau de toilette:** presenta una concentración de esencia que puede variar del 5 al 10 %, diluida habitualmente en alcohol de 85°. Su aplicación es usualmente con vaporizador.
- ✓ **Agua de Colonia:** Es una fragancia con un contenido de esencias que varía del 3 al 5 % y tiene un grado alcohólico entre 70 y 80°.
- ✓ **L'eau fraîche:** Es un agua refrescante, perfumada casi siempre con poca esencia cítrica (limón o mandarina). Tiene un porcentaje de esencia bastante bajo (1 a 3 %), diluida en alcohol de 70 u 80° [24].

## 1.2 LA PIEL

La ciencia médica define la piel como el tegumento (del latín "tegumentum", o "lo que cubre"), que recubre el organismo, y que tiene como límite los orificios naturales, en donde se prolonga con las diferentes mucosas. La piel es el órgano más grande del cuerpo, constituye cerca del 10% del peso corporal y cubre una superficie de 1.5 a 2 m<sup>2</sup>. La piel se encarga de proteger los tejidos internos [24, 40].

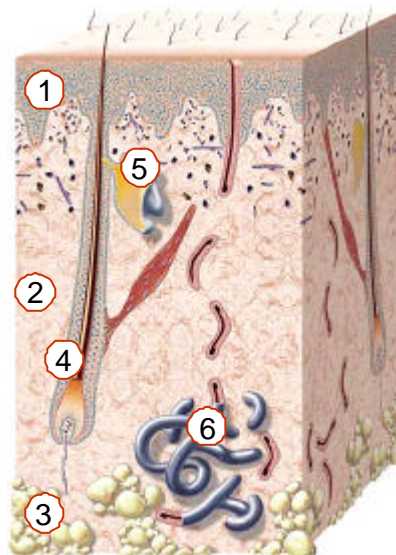
### 1.2.1 Composición de la piel

La piel presenta tres capas fundamentales y funcionales: epidermis, dermis e hipodermis (ver **Figura 8**) [36, 41-43].

**1.2.1.1 Epidermis:** se compone, en general, de una parte superficial o córnea, y es la "fachada de revestimiento", y otra subyacente de gran valor biológico, ya que esta capa interviene en la formación de elementos nuevos y en la determinación del color de la piel. La epidermis se subdivide, a su vez, en cinco capas: córnea, lúcida, granulosa, espinosa y basal [43].

La epidermis se renueva cada 28 días mediante una continua reproducción, cornificación y descamación (un adulto pierde 10 g/día de escamas córneas, aproximadamente). Durante la llamada cornificación las células basales cilíndricas vivas se transforman en células córneas planas sin núcleo.

La epidermis impide la penetración de determinadas sustancias, microbios, irritantes químicos y alérgenos, además de minimizar la pérdida transepidérmica de agua [44-45]. Entre las células córneas se encuentran los lípidos epidérmicos que juegan un papel importante en la permeabilidad de la piel y en la regulación del contenido de agua y humedad. En su composición predominan las ceramidas (40%), los ácidos grasos (25%), el colesterol (25%) y los sulfatos de colesterol.



**Figura 8.** Capas y anexos de la piel: 1) Epidermis, 2) Dermis, 3) Hipodermis, 4) Folículo piloso, 5) Glándulas sebáceas, 6) Glándulas sudoríparas.

**1.2.1.2 Dermis:** también llamada el armazón o sustento de la piel. Presenta igualmente dos capas, el cuerpo papilar y el corion o dermis propiamente dicha. El estrato papilar constituye la frontera abrupta con la epidermis. El corion, como todo tejido de sostenimiento, tiene una estructura resistente, formada por haces y fibrillas entrecruzadas. En este entramado se encuentran elementos tan importantes como el colágeno y la elastina que constituyen el tejido de sostén de la piel. En esta capa se encuentran los receptores del frío y el calor, al igual que los órganos del sentido del tacto [46].

**1.2.1.3 Hipodermis:** es la capa más interior, bajo la dermis. Separa y aísla los tegumentos de las partes subyacentes. Su estructura es tupida y presenta unos alvéolos llenos de grasa. La hipodermis tiene un papel de vía de paso a los vasos sanguíneos y nervios que se dirigen hacia la epidermis. Entre las funciones del tejido adiposo subcutáneo se encuentran, además del almacenamiento de energía, el aislamiento del cuerpo frente al frío y la amortiguación de los golpes [47].

En estas tres capas, se implantan los elementos que constituyen parte de la piel, conformándola como un todo. Formando parte del órgano de la piel se encuentran también los anexos cutáneos: uñas, pelos y glándulas (ver **Figura 8**) [48, 49].

**1.2.1.4 Pelo:** constan de una parte profunda, la papila o bulbo; una intermedia o raíz y una externa o tallo. El tallo o pelo propiamente dicho, que es la parte externa o visible, está compuesto por varias capas que rodean o envuelven a la médula, que se origina por queratinización de células situadas en el bulbo piloso, transformándose en tallo al ser empujada hacia la superficie. La papila, el bulbo y la raíz están constituidos por células vivas y el tallo por células muertas cornificadas [48,50].

**1.2.1.5 Uñas:** Son láminas córneas semitransparentes y proceden del endurecimiento de la capa superficial de la epidermis [48,50].

**1.2.1.6 Glándulas sudoríparas:** están extendidas por toda la superficie corporal, siendo más abundantes en la palma de las manos, las plantas de los pies y las axilas. La parte más significativa, la que segrega el sudor, queda alojada en la dermis y se denomina glomérulo; su tubo secretor atraviesa la piel, abriéndose paso hasta el orificio externo que son los poros. Estas glándulas se encargan de la producción del sudor por medio del cual se eliminan algunas sustancias, entre ellas, el cloruro de sodio y ciertos metales como el cobre, el zinc, el hierro, el plomo, el cadmio y el níquel [48-51].

**1.2.1.7 Glándulas sebáceas:** Mientras que las glándulas sudoríparas son subdérmicas, las sebáceas se alojan en la parte superior de la dermis y su tamaño es proporcionalmente inverso al pelo con el que se anexa. Su misión consiste en segregar grasa o sebo, de modo que lubrica la piel e impide que ésta se reseque [48-51].

## **1.2.2 Funciones de la piel**

La piel protege el organismo de influencias mecánicas, químicas, microbianas y físicas. Entre sus funciones se encuentran las siguientes [52]:

- Protección frente a: el frío, el calor, las radiaciones, la presión, la tracción, la acción de agentes químicos, la pérdida de agua y la penetración de gérmenes y microorganismos.
- Absorción de determinados compuestos activos presentes en fármacos.
- Secreción de sudor.
- Termorregulación.
- Órgano sensorial de la presión, el tacto, el dolor y los cambios de temperatura.

**1.2.2.1 Función sudorípara.** Contribuye a regular la temperatura y mantener el balance hídrico y electrolítico. Los estímulos físicos excitan las glándulas ecrinas; los emocionales las apocrinas. La cantidad de sudor eliminado es de un litro en término medio, pudiendo llegar a 4 litros con temperatura ambiente muy elevada y baja humedad. Los principales elementos y compuestos que se encuentran en el sudor son el cloro, el sodio, el ácido láctico y la úrea [50, 51]. La transpiración también permite eliminar ácido láctico generado durante la actividad muscular y previene la resequedad y pérdida de elasticidad de la piel [52].

**1.2.2.2 Función melánica.** El papel de la melanina es el de proteger el estrato papilar de la acción de la luz. Los melanocitos o melanoblastos que se encuentran entre las células de la capa germinativa son las células que sintetizan el pigmento. La melanina se elimina con las células córneas o es transportada a la dermis y de allí por vía linfática a los ganglios [50].

**1.2.2.3 Función queratogénica.** La capa córnea, dura y relativamente impermeable constituye un manto de protección; sus células poco hidrófilas, son resistentes a los álcalis, ácidos y enzimas. La queratina es elaborada por las células epidérmicas transformando la cisteína, aminoácido azufrado reductor, en cistina [50].

**1.2.2.4 Función sebácea.** Las glándulas sebáceas transforman los lípidos sanguíneos en sebo (adipogénesis). La cantidad de sebo eliminado varía entre 2 y 15 g por día y es emulsionado por el sudor [50].

La importancia fisiológica del sebo no está bien definida, sin embargo, algunas de las funciones asignadas a esta capa lipídica son [50]:

- Barrera de protección;
- Regulación de la penetración percutánea;

- Emulsificación;
- Actividad antimicrobial;
- Precursor de la vitamina D.

**Naturaleza y composición del sebo.** La película lípida de la superficie de la piel es una mezcla compleja de triglicéridos, mono- y diglicéridos, ácidos grasos, ceras, escualeno, esteroides y sus ésteres y ésteres de dioles. Son derivados de dos fuentes principales: el producto de la secreción de las glándulas sebáceas y de los lípidos de la queratinización. La mayoría de lípidos de esta capa provienen de las glándulas sebáceas. Cuantitativamente, los principales constituyentes son los glicéridos, en especial, triglicéridos, ceras, escualeno y ácidos grasos. Los ácidos grasos no están presentes en el sebo fresco, pero se forman por lipólisis de los glicéridos foliculares, presumiblemente, por acción de lipasas bacteriales. Ellos tienen longitudes de cadena que varían de  $C_3$  a  $C_{32}$ , predominando los ácidos grasos de  $C_{14}$  a  $C_{18}$ . Consisten en ácidos saturados e insaturados, de cadenas lineales o ramificadas [53-57].

**Película hidrolípida.** La superficie cutánea se encuentra recubierta por la llamada película hidrolípida, una emulsión de agua y grasas. Su función principal como barrera exterior es la defensa frente a bacterias y hongos; adicionalmente mantiene flexible la superficie de la piel. La película hidrolípida varía en cantidad y composición dependiendo, entre otros, de la zona corporal y de factores endógenos como la temperatura, la humedad ambiental, el estrés, la alimentación o ciertas enfermedades; esta película se forma a partir de las sustancias procedentes de las glándulas sudoríparas y sebáceas, sustancias derivadas del proceso de cornificación y agua transepidermica.

Gracias a su contenido en componentes ligeramente ácidos como el ácido láctico, aminoácidos, ácidos grasos libres y ácido pirrolidón-carbónico, la parte acuosa de la película hidrolípida presenta un manto ácido protector. La superficie de la piel

sana presenta un rango de pH que oscila entre 5 y 6 y de 6,5 en las cavidades fisiológicas, mientras que el entorno interno mantiene un pH cerca del neutro, su rango es 7,35-7,46 [58, 59].

El pH de la capa córnea juega un papel esencial en la formación y estructuración de los lípidos epidérmicos. El medio ácido es importante para la activación de las enzimas para la síntesis de los lípidos epidérmicos y para la normalización de la barrera de la capa córnea tras agresiones mecánicas o químicas [59, 60].

Al parecer el pH se relaciona con la raza y aspectos genéticos de fondo. No existen diferencias relacionadas con el sexo. El pH de la superficie de la piel permanece constante desde la niñez hasta aproximadamente una edad de 80 años, edad a partir de la cual hay un leve incremento en el valor de pH [58].

La transpiración comprende principalmente agua, es una solución diluida de compuestos que contienen sales, compuestos no volátiles y cantidades pequeñas de componentes volátiles. El análisis por cromatografía líquida / espectrometría de masas (LC/MS) ha detectado la presencia de ácido láctico (el lactato es un subproducto del ejercicio), urea y varios aminoácidos (fenilalanina, leucina, valina y alanina) [61]. Entre los principales elementos y compuestos que se encuentran en el sudor están el cloruro, el sodio, el lactato y la urea. Otros componentes, presentes en menor proporción son el calcio, fósforo, hierro y proteínas [50, 51].

El pH determinado en las gotas de agua colocadas entre la piel y el electrodo de vidrio, depende de la concentración de los componentes de la piel eluidos, a menos que la piel contenga un sistema amortiguador que resiste los cambios en la determinación del pH en el rango de dilución. Se presume que algunas sustancias están disueltas y que el llamado pH de la piel es en realidad una medida del pH de las sales que al parecer son elaboradas durante la maduración del estrato córneo [59, 62].

### **1.2.2.5 Función de barrera de la piel**

Uno de los papeles principales de la piel es actuar como barrera limitando el transporte del agua al exterior y el movimiento hacia el interior de sustancias aplicadas sobre su superficie. La acción de barrera de la piel impide la pérdida de agua a través del estrato córneo, sin embargo, se presentan pérdidas mínimas de agua en el sudor y la queratinización.

La entrada y salida de sustancias a través de la epidermis varía según la zona que participa. En términos generales, la función de barrera es menor en las regiones rugosas y húmedas de piel delgada, y mayor en las palmas de las manos y plantas de los pies. Las barreras normales contra la penetración de todas las sustancias se modifican en gran medida y puede desaparecer por completo en algunas enfermedades de la piel, con el daño de la epidermis [63].

### **1.2.3 ABSORCIÓN PERCUTÁNEA**

La piel presenta permeabilidad selectiva, debido a que está formada, como ya se mencionó anteriormente, por varias capas, algunas de ellas muy gruesas y con escasa irrigación sanguínea. Se ha comprobado por medio de la utilización de isótopos radiactivos que, en general, las sustancias volátiles, los gases, con excepción del monóxido de carbono y las sustancias hidrosolubles que, a su vez, son liposolubles, pueden penetrar por la superficie de la piel; por otro lado, las sustancias muy ionizadas, electrolitos y no electrolitos hidrosolubles, las grasas, los hidrocarburos sólidos y el agua lo hacen excepcionalmente [63]. Las diferencias en la capacidad de absorción se deben fundamentalmente a las distintas solubilidades. Las sustancias que son a la vez hidrófilas y lipófilas y las no ionizadas atraviesan más fácilmente la barrera cutánea que las sustancias orgánicas o inorgánicas disociadas y que son únicamente liposolubles o

solamente hidrosolubles [64, 65]. La permeabilidad del agua, por ejemplo, es alrededor de  $0.5 \text{ mg/cm}^2\text{h}$  a  $30^\circ\text{C}$ , ya sea medido *in vivo* o *in vitro* [66].

Se ha demostrado la resistencia a la penetración de agentes químicos por parte de la piel. Compuestos tales como el ácido nicotínico y el nitrobenzono comprueban la efectividad de las propiedades de barrera de la piel; por otro lado, compuestos como el dinitroclorobenceno, la cafeína y el ácido benzoico penetran extensivamente [67].

Para que una sustancia se absorba por la piel debe difundirse a través del estrato córneo y las demás capas de la epidermis, antes de contactar los vasos capilares sanguíneos y linfáticos de la dermis y pasar al torrente sanguíneo. El transporte a través de la piel es por difusión simple ya que este órgano no cuenta con mecanismos de transporte activo [42, 68]. Un proceso de difusión pasiva implica que el flujo de soluto es linealmente dependiente del gradiente de concentración del soluto; de otro lado, el proceso de transporte activo involucra un mecanismo saturable, que requiere energía para llevarse a cabo. Se ha demostrado que el flujo percutáneo es directamente proporcional al gradiente de concentración, se concluye entonces que el transporte a través de la piel ocurre principalmente por difusión pasiva [69]. Sin embargo, en la mayoría de los experimentos de permeabilidad la membrana no es un simplemente un material estructural inerte, sino presenta cierta afinidad por los solutos aplicados [66].

Para las moléculas liposolubles se observa una mejor distribución del soluto en el estrato córneo incrementando la permeabilidad global. Las capas de la piel son barreras más significativas a la penetración de moléculas polares que a moléculas apolares. El factor determinante en el incremento de la permeabilidad de la piel para moléculas liposolubles es la constante de distribución para el soluto entre el solvente y el estrato córneo. En todos los casos, a menos que el solvente dañe el tejido, el estrato córneo es la principal barrera limitante de la velocidad de difusión,

determinando la velocidad de penetración, especialmente para moléculas solubles en agua. Entre más grande y polares las moléculas, la importancia del estrato córneo incrementa, porque usualmente éstas presentan constantes de difusión más pequeñas [69].

En la epidermis existen diversos anexos, entre los que destacan los folículos pilosos, las glándulas sebáceas y las sudoríparas. Se ha demostrado que el paso de sustancias químicas se produce tanto a través de la epidermis como también a través de dichos anexos.

La penetración de sustancias a través de la piel se produce por varios mecanismos y la difusión de las moléculas puede tomar las siguientes vías:

1. Vía transcelular: las moléculas se transfieren secuencial y repetidamente a través de la barrera.
2. Vía intercelular: a través de los lípidos que rodean las células.
3. Vía anexos: a través de los folículos pilosos, glándulas sudoríparas, etc.

De estas vías, la más importante es la transcelular, donde la absorción se produce por difusión pasiva a través de las células epidérmicas [68, 70].

Algunos estudios han demostrado que los folículos pilosos y las glándulas sudoríparas y sebáceas juegan un papel secundario como vía de absorción y que el transporte a través de estos anexos hace una pobre contribución al flujo percutáneo global a través de la piel, sin embargo, es una ruta que ha mostrado ser significativa durante el período inicial de la penetración percutánea, sólo durante un breve período después de la aplicación (aproximadamente 5 min después de la aplicación) la absorción a través de los anexos es mayor que en el estrato córneo. La absorción por los apéndices ocurre por difusión e involucra sustancias solubles en agua principalmente. Después de la fase inicial, la mayoría

de la absorción percutánea tiene lugar a través del estrato córneo, el cual tiene un área de superficie mayor [69, 71].

Para la vía de permeación se propone la coexistencia de rutas polares y no polares y se proponen los lípidos intercelulares como un factor determinante de la velocidad de penetración. Se ha demostrado que la variación en la permeabilidad de la piel está relacionada con diferencias cuantitativas en el contenido de lípidos y no en el espesor del estrato córneo o número de corneocitos. Se ha propuesto que las proteínas filamentosas actúan como la vía polar y los lípidos constituyen la vía no polar [51, 69].

La velocidad de absorción depende de varios factores, entre los cuales se tienen [70]:

- La concentración del analito;
- La magnitud y localización en el cuerpo del área expuesta;
- La condición de la piel. La hidratación, quemaduras y ciertas enfermedades, que incrementan la permeabilidad;
- La velocidad del flujo sanguíneo;
- La temperatura y la humedad ambiental;
- La interacción con otras sustancias que puedan modificar la permeabilidad de la piel.

La mayoría de biomembranas tiene como función intercambiar material, por el contrario, el estrato córneo previene o controla estrictamente el transporte de moléculas. La absorción percutánea involucra la siguiente secuencia de eventos [69, 71]:

1. Repartición de la molécula entre la fase del vehículo y el estrato córneo;
2. Difusión a través del estrato córneo;
3. Repartición del estrato córneo a la epidermis;

4. Difusión a través de la epidermis y la dermis;
5. Capilaridad.

La penetración a través de la piel ocurre cuando una sustancia se mueve a través de la epidermis o de los folículos, hasta la dermis, donde pasa a la vía microvascular [69]. Los principales factores que influyen en este fenómeno pueden ser clasificados dentro de cuatro grupos [72]:

1. Sustancia: propiedades fisicoquímicas tales como la carga, la concentración, el tamaño molecular, la volatilidad y la solubilidad en los vehículos determinan la velocidad de absorción.
2. Condición de la piel: la capa córnea actúa como una barrera frente a la penetración de sustancias. La especie, edad, región del cuerpo, circulación local, temperatura de la piel, contenido de agua de la capa córnea y la existencia de daños o enfermedades disminuyen o incrementan la velocidad de absorción.
3. Ambiente: La humedad, la temperatura y la inmersión en agua alteran la penetración.
4. Exposición: El número de aplicaciones y la duración del contacto.

#### **1.2.3.1 Factores que afectan la absorción percutánea**

Los principales factores que afectan la penetración percutánea pueden ser clasificados dentro de dos categorías: biológicos y fisicoquímicos [69].

##### **1.2.3.1.1 Factores biológicos**

- Edad de la piel. Se ha demostrado que la pérdida transepidérmica de agua es independiente de la edad, sin embargo, la capacidad de retención sí es dependiente. Con la edad la piel disminuye la permeabilidad a moléculas

relativamente polares. Para moléculas lipofílicas no se encuentran diferencias relacionadas con este parámetro [69].

- Condición de la piel. La penetración percutánea a través de la piel afectada o enferma es considerablemente diferente a la que se da en el tejido intacto. Las alteraciones en el estrato córneo usualmente incrementan la permeabilidad [69].

- Ubicación. El coeficiente de permeabilidad de determinada molécula a través del estrato córneo es inversamente proporcional al espesor de la membrana. Sin embargo, la permeabilidad se relaciona en mayor grado con el tamaño de los corneocitos y la composición lipídica del estrato córneo.

- Metabolismo de la piel. La piel posee la capacidad de metabolizar ciertos permeantes y su transporte es considerablemente más rápido gracias a la actividad enzimática. La epidermis convierte las moléculas lipofílicas en compuestos más polares (más solubles en agua) para promover su penetración a través de la piel y facilitar su eliminación por medio de la pérdida transepidérmica de agua [69].

- Circulación. Los cambios en el flujo de la sangre a través de la dermis puede afectar la absorción percutánea. Sólo si el transporte a través del estrato córneo es muy rápido, la velocidad de flujo de la sangre puede controlar la penetración. Otros factores, tales como el sexo y la raza, han sido sugeridos como influyentes en la extensión de la penetración, sin embargo, esto no se ha demostrado [69]. Algunos estudios reportan que las diferencias entre el grado de afcción de la barrera de permeabilidad de la piel y la velocidad de recuperación del tejido para pieles con un grado similar de pigmentación, pero diferente raza y género, no son significativas. Se encontró que el tipo de piel es más relevante en la función de la barrera que la raza o el sexo. Las pieles más oscuras presentan menor permeabilidad que las pieles más claras. Algunos estudios morfológicos demuestran que a pesar que el espesor del estrato córneo es igual para blancos y

negros, este último presenta más capas de células, así un estrato córneo más denso puede explicar las diferencias de permeabilidad; adicionalmente, presentan una reconstitución más rápida del estrato córneo debido a una mayor producción de lípidos en respuesta al daño del tejido. El mayor contenido de lípidos es una predicción más importante acerca de la función de barrera que el espesor o el número de queratocitos [73].

#### **1.2.3.1.2 Factores fisicoquímicos**

- Hidratación. La hidratación del estrato córneo promueve la absorción percutánea de algunos compuestos químicos a través de la piel.
- Afinidad. La unión de varias moléculas a algunos componentes de la piel retarda la absorción percutánea. Si los compuestos presentan una fuerte afinidad por el estrato córneo, el paso al torrente sanguíneo puede verse impedido, sin embargo, esta situación es generalmente reversible [69].
- Temperatura. La temperatura del estrato córneo se encuentra en el rango de 30 a 32 °C. Los gradientes de temperatura tienen efectos despreciables en las propiedades de transporte de la piel. Cambios normales de la temperatura, alrededor de unos pocos grados centígrados tienen un efecto pobre sobre la permeabilidad. Un cambio de 10°C en la temperatura duplica la permeabilidad *in vitro*. La hidratación incrementa la constante de permeabilidad, pero este incremento es pequeño comparado con el incremento debido a la temperatura [69].

En resumen, la absorción percutánea es un proceso afectado por múltiples factores. El estrato córneo es la capa menos permeable de la piel y sus propiedades determinan las velocidades de transporte de las moléculas hacia la epidermis, la dermis y el sistema circulatorio. El estrato córneo es principalmente una barrera lipofílica, que previene la pérdida excesiva de agua y protege al

organismo frente al contacto tópico de agentes químicos. Su composición única de corneocitos y lípidos determina su baja permeabilidad [69, 74].

Los estudios *in vivo* sobre penetración en la piel son usualmente realizados en animales o en humanos, aplicando el compuesto a probar sobre un área de piel definida. El porcentaje excretado de la dosis del compuesto aplicado tópicamente es determinado en la orina o en las heces, esta cantidad es dividida en la fracción recuperada en la orina o en las heces, de una dosis inyectada del compuesto, para corregir las pérdidas ocasionadas por otros medios de excreción [16].

Idealmente las pruebas de las formulaciones tópicas en general deberían llevarse a cabo *in vivo* sobre humanos, pero ésto es imposible, especialmente en las etapas de desarrollo de fármacos donde la toxicidad o irritación causada por nuevas drogas se desconocen. Los cortes de la piel humana se utilizan para realizar estudios *in vitro* debido a la alta correlación existente entre los resultados obtenidos *in vitro* e *in vivo* [58].

El uso de preparaciones *in vitro* de la piel humana para estudiar la absorción percutánea es ampliamente utilizado y parece ser una buena aproximación para los sistemas vivos. Al evaluarse la permeabilidad de algunos compuestos orgánicos como el ácido acetilsalicílico, el ácido benzoico, la cafeína, el fenol, la úrea y el dinitroclorobenceno, entre otros, por los métodos *in vitro* y compararse con los *in vivo*, se encontró concordancia cualitativa entre los dos métodos y una excelente correlación entre la cinética de absorción de los dos procesos. Cuantitativamente, no se observa una relación tan estrecha, aunque se distinguen adecuadamente los compuestos de alta permeabilidad y los de baja y se clasifican aproximadamente en el mismo orden encontrado en las pruebas *in vivo* [75, 76].

## **Efecto del tipo de vehículo sobre la penetración en la piel**

El contacto con numerosos solventes orgánicos disminuye la capacidad de barrera de la piel, la magnitud de este decrecimiento depende del tipo de solvente y el tiempo de contacto con éste [77].

Algunos de los factores que determinan la velocidad de penetración de un compuesto neutro en y a través de la piel normal son [78]:

- a. Concentración del compuesto en el vehículo;
- b. Tamaño de la molécula penetrante;
- c. Solubilidad característica del compuesto;
- d. Características del vehículo como solvente;
- e. Temperatura.

Se ha estudiado la influencia de algunos vehículos empleados en la industria de cosméticos, como son el etanol, mezclas de etanol-agua, emulsiones, lociones y ungüentos, sobre la penetración de alcohol bencílico, eugenol e isoeugenol, a través de la piel humana. Todos los vehículos evaluados favorecieron la absorción de los compuestos en la piel. La penetración de cada compuesto mostró una tendencia a incrementar en relación directa a la proporción de agua a etanol, lo que sugiere que el aumento en la cantidad de agua en los vehículos aumenta la hidratación del estrato córneo, facilitando el movimiento de las moléculas a través de la barrera. Adicionalmente, la menor solubilidad de cada compuesto en agua que en etanol, conduce a un decrecimiento de la solubilidad del compuesto directamente proporcional a la relación de agua a etanol. La menor afinidad del vehículo por el compuesto favorece la interacción entre este último y la piel [79]. Por ejemplo, los alcoholes polares (como etanol y propanol) penetran más rápidamente desde vehículos no polares (isopropil palmitato, aceite de oliva y aceite mineral) que desde vehículos polares (salinos) [78, 80].

Para ciertas aplicaciones, como las drogas tópicas se desea que los vehículos promuevan la absorción de los compuestos activos, sin embargo en los cosméticos, desde un punto de vista de la seguridad de la piel, es más conveniente el uso de vehículos que disminuyan la absorción de ingredientes tales como las fragancias [79].

### **Penetración de compuestos fragantes**

Debido al potencial para inducir dermatitis alérgica de contacto, los perfumes son cuidadosamente ensayados para determinar la seguridad dérmica previo a la incorporación en los productos cosméticos [81].

Se ha evaluado la penetración a través de la piel de algunos compuestos de tipo fenólico, salicilatos, cinámico y bencilos, comúnmente empleados en los productos cosméticos. Compuestos como el alcohol bencílico penetran más rápidamente la piel humana, seguido por eugenol, dihidroeugenol y acetato de bencilo. La penetración de los compuestos cinámicos (aldehído  $\alpha$ -amil y  $\alpha$ -hexil cinámico, alcohol  $\alpha$ -amílico y  $\alpha$ -hexil cinámico), benzoato de bencilo, bencilo e isoamilo salicilato fueron mínimas. Se observó también que, para este caso, los compuestos con mayor solubilidad en agua penetraron la epidermis en mayor grado que aquellos menos solubles [82].

### **1.2.4 PIGMENTACIÓN DE LA PIEL**

El color de la piel está determinado por varios factores: a). La presencia de carotenos: b). La cantidad de sangre de los vasos sanguíneos, cuyo color depende, a su vez, del estado de oxidación o de reducción de la hemoglobina: c). La cantidad de melanina de la epidermis.

En la capa basal de la epidermis existen aproximadamente dos billones de glándulas especiales, denominadas melanocitos, que secretan un pigmento amorfo (melanina), el cual es responsable de las diferencias de color que se presentan en la piel, cabellos y ojos en el ser humano. Este pigmento, además de impartir el color de la piel, tiene como función protegerla de la acción de los rayos solares [30].

Los melanocitos están situados a lo largo del plano de unión de la epidermis con la dermis y en la papila pilosa, en la cual son responsables del color del cabello. En el citoplasma celular se desarrolla una agrupación enzimática, con la cual se forma un gránulo intracelular llamado melanosoma, en donde se sintetiza el pigmento, que posteriormente es asimilado, por las células corticales del cabello o por la epidermis [30]. La pigmentación debida a la melanina involucra su elaboración y distribución por parte de los melanosomas. Los melanocitos son los únicos productores de melanina en la epidermis, las células epidérmicas son el vehículo de distribución de la melanina [83].

Se ha demostrado que la intensidad de la pigmentación total de la piel depende más de la actividad de los melanocitos y de la concentración total de melanina formada, que del número total de melanocitos presentes en las diferentes razas o de su distribución en diferentes áreas. La intensidad es controlada principalmente por factores genéticos que gobiernan el color, tanto de la piel como del cabello y los ojos; o por estimulaciones externas como el calor, rayos X, inflamación y luz solar. La piel de una persona morena contiene una cantidad intermedia de melanina, mientras que una persona de piel negra está profundamente pigmentada, con un contenido de melanina mayor [30, 83]. La amplia variación racial existe debido al contenido de melanina de la piel. Incluso en personas de la misma raza, la cantidad de pigmentación depende de la estación, el grado de exposición al sol y la capacidad individual de formar el pigmento después de exponerse al sol [83].

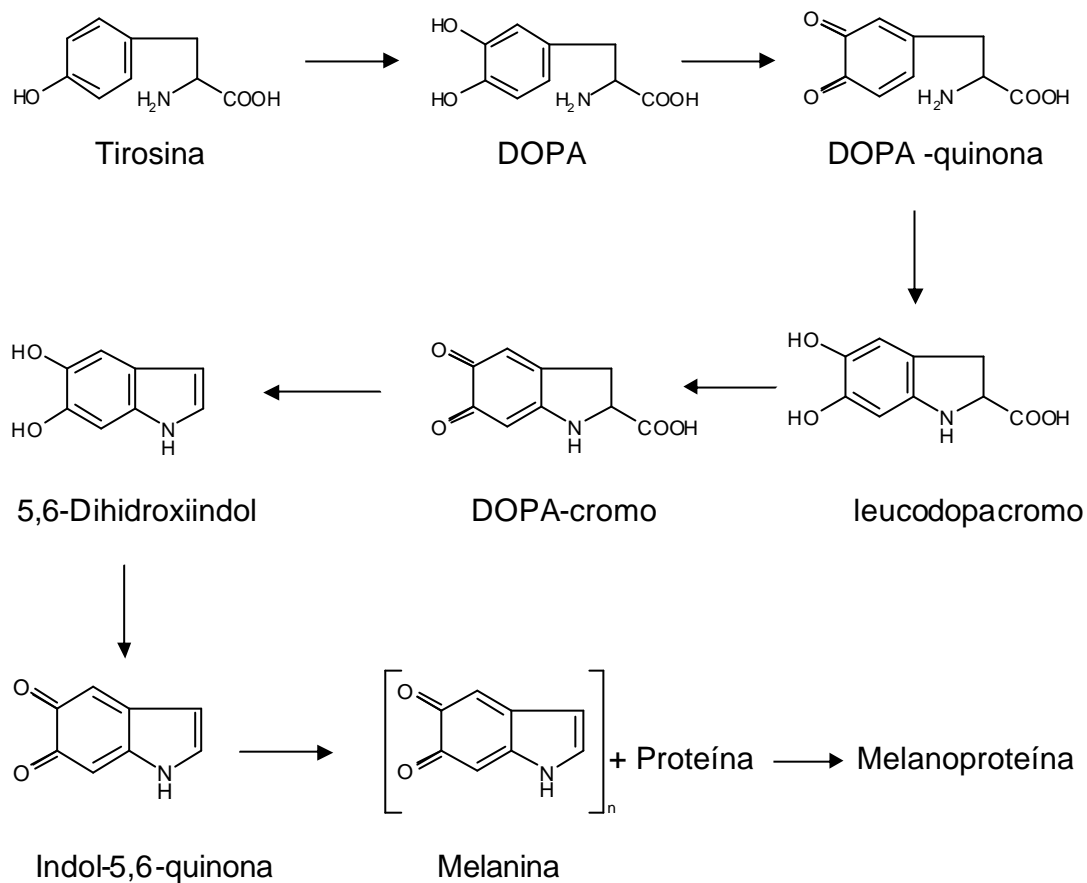
La contribución al color de la piel hecha por los vasos sanguíneos, se debe principalmente a las ramificaciones venosas superficiales, que corren paralelas a la superficie de la piel. El matiz de la piel depende de la apariencia rojiza o azulosa producida por la proporción variable de hemoglobina oxidada o reducida en los vasos de la piel y esta proporción, en su turno, depende de la velocidad de flujo de la sangre a través de la piel. A una velocidad de flujo más rápido, más hemoglobina oxidada proveniente de las arterias llega a las venas, entonces, la apariencia de la piel es rojiza. La profundidad de la coloración depende del calibre y del estado de engrosamiento de las venas superficiales [83].

#### **1.2.4.1 Síntesis de melanina**

En la **Figura 9**, se presenta un esquema de la síntesis de la melanina, formada por la polimerización de derivados oxidados de la tirosina.

La tirosina, un cromógeno incoloro, sufre una hidroxilación en presencia de oxígeno y de la enzima tirosinasa, formando el compuesto denominado DOPA (dihidroxifenilalanina); este último es deshidrogenado bajo las mismas condiciones anteriores, formando DOPA-quinona. La DOPA-quinona es inestable y sufre un reordenamiento a la forma del compuesto indol, leucodopacromo, el cual por deshidrogenación forma dopacromo, un pigmento rojo que presenta una absorción máxima a 305 y 475 nm.

Posteriormente, ocurre la descarboxilación y reordenamiento a 5,6-dihidroxiindol, que sufre la oxidación a indol-5,6-quinona. Este último es el monómero que se polimeriza formando tirosina-melanina y, finalmente, melanina [52, 83].



**Figura 9.** Síntesis de melanina.

### 1.3 PERCEPCIÓN DEL OLOR: ESTRUCTURA Y MECANISMO

Se ha observado que la interacción de las moléculas odoríferas con los receptores del olor es uno de los factores determinantes en la percepción de una fragancia, es decir, la importancia de los componentes de un perfume no radica en la concentración en la que se encuentran en éste, puesto que la mayoría de los compuestos que le brindan el carácter a una fragancia, se encuentran en muy bajas concentraciones y aunque en la actualidad existen métodos de análisis que presentan alta sensibilidad, dichas concentraciones no alcanzan a ser detectadas.

Si bien, el propósito de este trabajo no es determinar la relación de los compuestos del perfume con la percepción de su olor, es de interés conocer algunas generalidades del tema enunciadas a continuación.

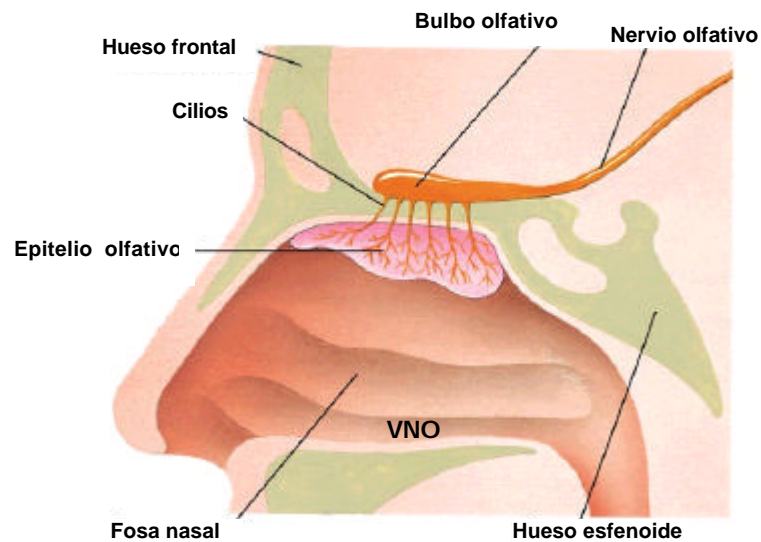
### 1.3.1 Teorías de la percepción del olor

El término olor se refiere a los efectos biológicos, físicos y psicológicos, causados por la interacción entre estimulantes químicos (aromas y fragancias) y el sistema olfativo de los seres vivos [3].

Entre 1950 y 1965 surgieron varias teorías que proporcionan una conexión entre las propiedades de las moléculas odoríferas y la estimulación olfativa. A continuación se presenta un breve resumen de las principales teorías del olor, dentro de las cuales las teorías de John Amoore y Robert Wright, fueron de importancia [84].

- R. W. Moncrieff, entre 1949-1961 propuso su teoría en la cual sugería que el sistema olfatorio se disponía de varios tipos de receptores, cada uno de los cuales corresponde a un olor básico [84].
- John Amoore en los años 50 propuso su **Teoría estereoquímica** donde postula que los receptores de los olores tienen una configuración que puede alojar una forma específica, de manera que cuando llega una molécula con la forma y el tamaño apropiados, ésta ocupa el lugar en el receptor y envía una respuesta olfativa.
- Robert Wright entre los años 50 y 60 propuso su **Teoría vibracional** en la cual sugiere que las moléculas absorben y emiten vibraciones, las cuales afectan a su vez las terminales de los nervios olfatorios y finalmente emiten un impulso al bulbo olfativo [84].

Estas teorías funcionaron bien sólo con algunas moléculas odoríferas pero fallaron con otras. Las investigaciones continuaron durante muchos años y permitieron establecer que el mecanismo por el cual se percibe una fragancia u otros estímulos externos transportados por el aire, está asociado al sistema olfativo y a un órgano sensorial identificado como órgano vomeronasal (VNO). Este último, al parecer podría mediar en la comunicación de la información olfativa (o feromonal) relacionada con la personalidad, el género y el estado reproductivo [85-89]. La anatomía del sistema olfativo y la localización del VNO se muestran en la **Figura 10**.



**Figura 10.** Anatomía del sistema olfativo y localización del VNO.

En 1991, se publicó un avance en la investigación olfativa, con base en un trabajo realizado en la Universidad de Columbia. Se identificó la proteína receptora del olor y se planteó un mecanismo por el cual se percibe una fragancia u otro olor [86, 87].

Las moléculas odoríferas primero encuentran un gran número de neuronas especializadas en el epitelio olfativo, ubicado en la parte superior de la cavidad nasal. Estas neuronas olfativas están bañadas en una sustancia mucosa (membrana lipídica) y poseen cilios especiales para extenderse en la mucosa y

recibir las moléculas odoríferas. Los cilios de las neuronas olfativas contienen gran cantidad de receptores del olor finamente entubados.

En el bulbo olfativo, la información llega al glomérulo y el patrón de respuesta establecido es transportado al cerebro para su decodificación. La señal es procesada en medio del cerebro, en el área conocida como sistema límbico. Dos órganos en este sistema han sido identificados como receptores de la información olfativa: la amígdala y el hipocampo. La amígdala es un centro emocional que también responde al miedo y otros sentimientos fundamentales, mientras que el hipocampo es un centro de la memoria, de aquí la capacidad de que un estímulo olfativo afecte las emociones y la memoria.

Hay aproximadamente 1000 receptores de los olores y se estima que 10000 olores pueden ser distinguidos; la explicación a esto es que un solo receptor puede reconocer varias moléculas odoríferas, una molécula odorífera es reconocida por varios receptores y diferentes moléculas odoríferas son reconocidas por diferentes combinaciones de receptores. El patrón de reconocimiento permanente en el glomérulo es crucial para la memoria de los olores porque las células olfatorias tienen tiempos de vida cortos. Diferentes sustancias odoríferas activan diferentes combinaciones de glomérulo. Un incremento en la concentración de la sustancia odorífera incrementa el número de glomérulos que dan respuesta al estímulo.

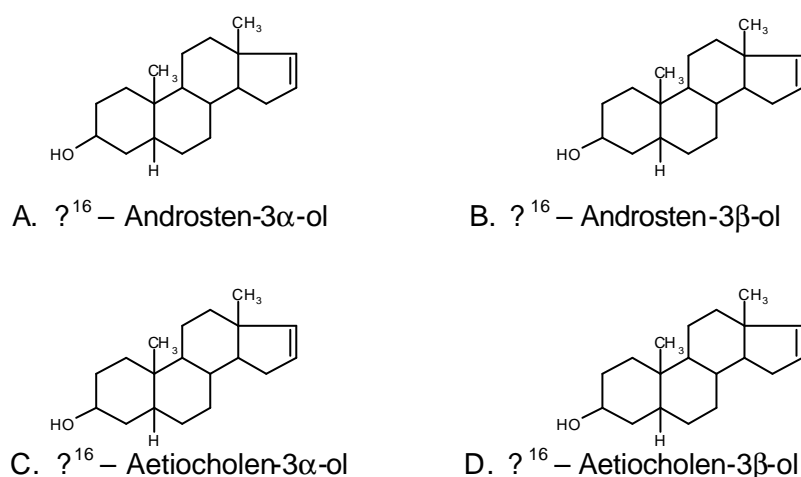
Una propiedad fundamental de la percepción olfativa es que la calidad y la intensidad del olor, con frecuencia no presentan una relación lineal con la concentración del olor, además, a concentraciones muy altas de una sustancia odorífera podría activar receptores adicionales y cambiar la calidad del olor percibido [85-90].

### 1.3.2 Relación entre la estructura química de un compuesto y sus propiedades olfativas

Desde hace más de 50 años la búsqueda de una relación entre la estructura molecular de un compuesto y su olor, ha sido más que un reto al cual se han enfrentado numerosos investigadores. El trabajo químico cuidadoso acompañado de diversas pruebas sensoriales, ha permitido establecer algunos resultados interesantes [91, 92].

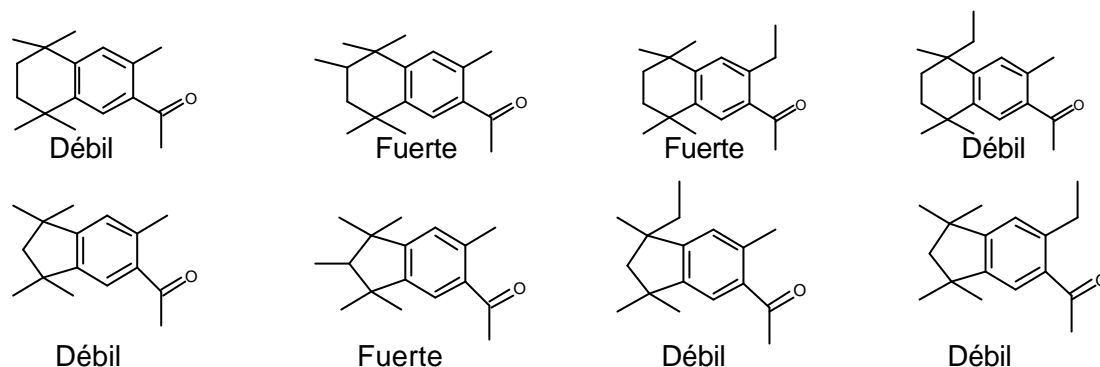
- Cambios en la potencia: se ha observado que algunos compuestos con olores específicos (por ejemplo, almizcle y ámbar) presentan cambios en la potencia del olor pero no en la calidad de éste, cuando se realiza una pequeña modificación en su estructura:

En la **Figura 11** el compuesto (A) presenta un fuerte olor parecido al almizcle, mientras que su epímero (B) presenta levemente el mismo olor. Los compuestos (C) y (D) apenas poseen el olor almizclado.



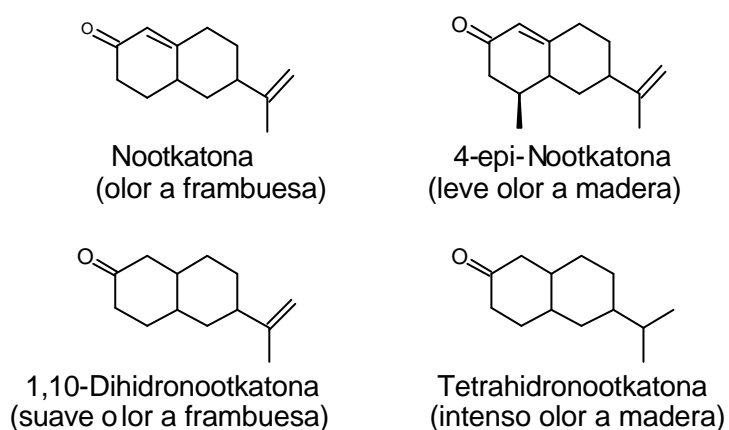
**Figura 11.** Compuestos con olor a almizcle .

La adición de grupos metilo a compuestos de la serie *orto* almizclado altera la intensidad del olor sin cambiar la calidad del mismo (ver **Figura 12**) [91].



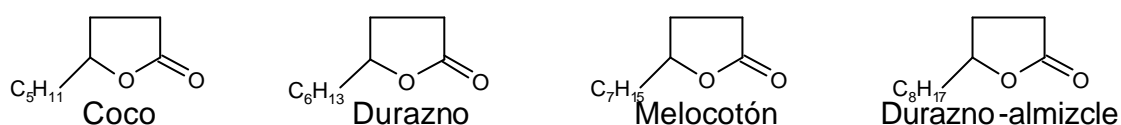
**Figura 12.** Intensidad del olor de los compuestos *orto* almizclados sustituidos con un grupo metilo.

Cambios en la calidad: en algunos casos se determinó que enantiómeros, epímeros y otros compuestos hidrogenados presentan diferencias en la calidad del olor, pero su potencia presenta modificaciones poco significativas (ver **Figura 13**).



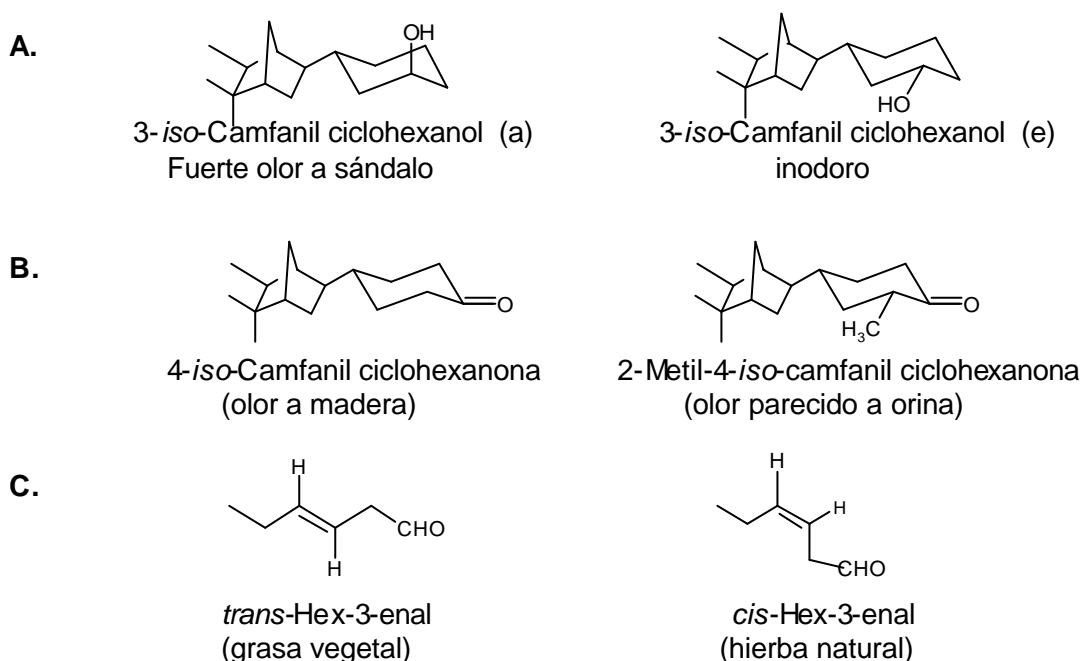
**Figura 13.** Cambios en la calidad del olor de algunos compuestos.

Cambios en la potencia y la calidad: existen series de compuestos (por ejemplo, algunas lactonas) que presentan olores e intensidades diferentes al realizar la sustitución de diferentes grupos alquilo (ver **Figura 14**).



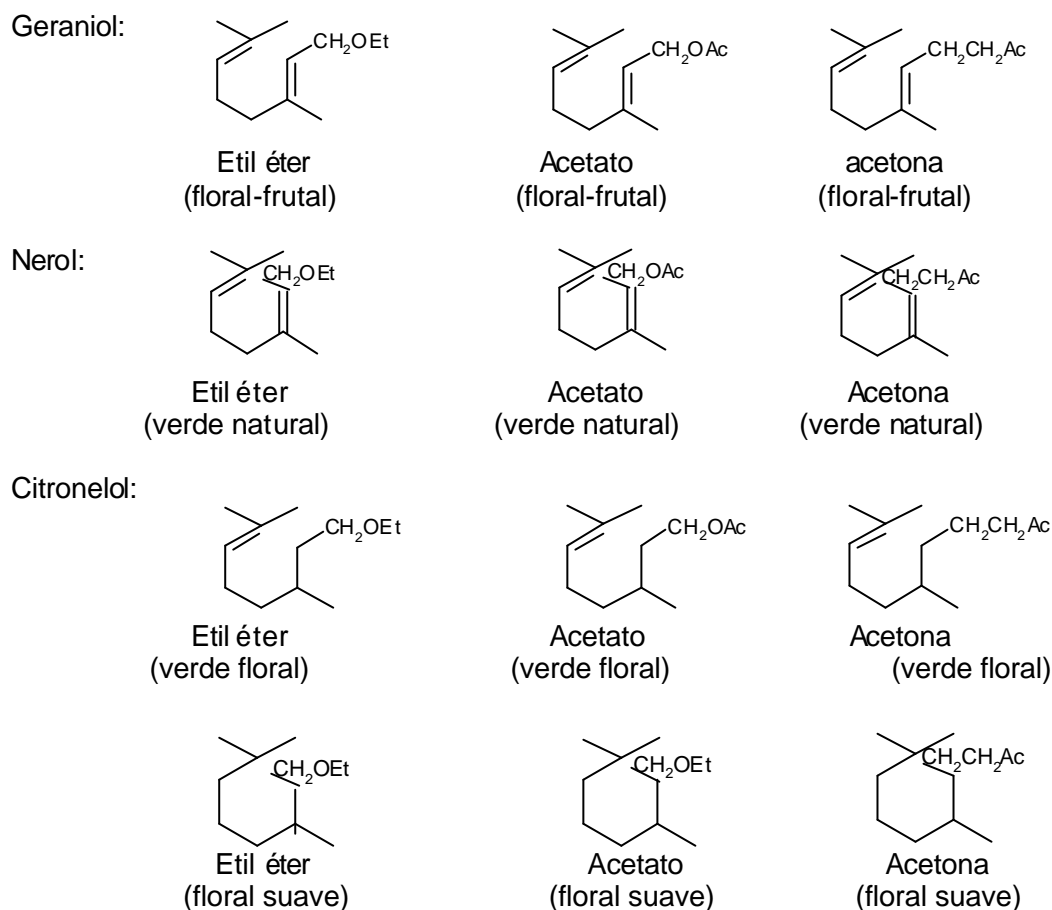
**Figura 14.** Cambio en el olor de algunas  $\gamma$ -lactonas con el tamaño del grupo alquilo sustituyente.

Pequeñas variaciones realizadas sobre algunas estructuras de moléculas, como ruptura de cadenas carbonadas, introducción de insaturaciones, cambio de posición de enlaces dobles o triples, formación de isómeros geométricos *cis/trans*, epímeros axial y ecuatorial, pueden causar una notable diferencia en el tipo de olor (ver **Figura 15**).



**Figura 15.** Cambio en el olor de acuerdo con algunas modificaciones en la molécula. A. Formación de epímeros axial-ecuatorial B. Metilación C. Formación de isómeros *cis*-y *trans*-.

Se ha observado competencia entre los cambios en la estructura molecular y los cambios en el grupo funcional. Con frecuencia un cambio en la estructura de una molécula tiene más influencia sobre el tipo de olor, que un cambio en el grupo funcional:



**Figura 16.** Cambios en el olor producidos por modificaciones en la estructura o en el grupo funcional de una molécula.

## 1.4 EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DEL PERFUME APLICADO SOBRE LA PIEL

Dependiendo de la propiedad de la piel que estará bajo estudio, se realiza la caracterización de ésta, determinando el contenido de grasa, humedad, textura, color o pérdida transepidérmica de agua (TEWL), según el caso [93].

En la actualidad, uno de los métodos más empleados para la clasificación de la piel es el de Fitzpatrick, según el cual el color de la piel se clasifica dentro de seis fototipos de acuerdo con la cantidad mínima de  $\text{mJ}/\text{cm}^2$  requeridos para producir un eritema (MED) en la superficie de la piel expuesta [94]. Opcionalmente, el historial del comportamiento de la piel bajo la acción de la radiación solar también permite determinar el color de ésta cuando no es fundamental realizar una clasificación rigurosa o no se dispone de los equipos necesarios. En la **Tabla 1** se presentan los rangos mínimos necesarios para producir un eritema y las consideraciones acerca de la sensibilidad a la radiación UV, que se tienen en cuenta para la asignación de los diferentes fototipos asociados al color de la piel.

**Tabla 1.** Fototipos de la piel humana y su reactividad a la luz solar.

Fototipo	Color de la piel	Rango MED ( $\text{mJ}/\text{cm}^2$ )	Sensibilidad a la radiación UV
I	Blanca	15-30	Siempre se quema fácilmente, no presenta oscurecimiento o pigmentación inmediata, nunca se broncea.
II	Blanca	25-40	Siempre se quema fácilmente, muestra trazas de oscurecimiento o pigmentación, bronceado mínimo y con dificultad.
III	Blanca	30-50	Se quema poco, leve oscurecimiento o pigmentación, bronceado gradual y uniforme.
IV	Morena clara	40-60	Se quema poco, mediano oscurecimiento o pigmentación, siempre se broncea bien.
V	Morena	60-90	Raramente se quema, pigmentación moderada, bronceado profundo.
VI	Negra	90-150	Nunca se quema, intensa pigmentación, bronceado muy profundo.

Se ha demostrado [93, 95] que algunas propiedades de la piel como la cantidad de grasa, textura y color, entre otras, afectan el proceso de evaporación de las fragancias aplicadas sobre ésta, dando como resultado una percepción diferente del aroma del perfume antes y después de su aplicación. Por esta razón, existe un gran interés en evaluar los factores de la piel que influyen en el comportamiento de diferentes moléculas fragantes.

La sustentividad, que se refiere a cuánto perdura un perfume sobre la piel y la difusividad, que se relaciona con el perfil del olor del perfume a diferentes distancias de la piel, definen el desempeño de un perfume [93]. Cuando una gota de fragancia se aplica sobre la piel, muchas moléculas desde el más bajo punto de ebullición hasta el más alto, indiferente de su peso molecular, el punto de ebullición y la presión de vapor, forman un “aura” que eventualmente llega a la nariz y da la impresión de una fragancia. La composición de esta aura depende de la propiedad inherente a cada molécula fragante conocida como difusividad.

Un estudio realizado por Baydar y col. encontró que el pH de la piel, aparentemente no afecta la sustentividad o la difusividad de las fragancias aplicadas sobre la piel [93]. También se encontró que la cantidad de fragancia en el *headspace* de la piel seca es más intensa que en el *headspace* de la piel grasa. Se observó que las fragancias se distribuyen más sobre la piel seca (áspera) comparada con la piel grasa (más suave), debido posiblemente a que los surcos de la piel seca son más abiertos y planos, lo que facilita la evaporación de las moléculas fragantes [93]. También se ha determinado que el sexo y la raza no afectan significativamente la emisión de la fragancia [95].

La piel es una barrera biológica que permite la absorción de sustancias por difusión pasiva. El estrato córneo es el mayor impedimento para la absorción transepidérmica y es el componente limitante en el proceso de difusión [17]. La

piel y sus anexos representan un importante órgano excretor que juega un papel vital en el proceso de destoxificación y el mantenimiento del balance homeostático. Las sustancias que no atraviesan la barrera son estructuralmente largas o grandes, como microorganismos, proteínas y polímeros de más de 5000 Da, o compuestos polares, tales como azúcares. El proceso de absorción se aplica claramente a compuestos químicos fragantes porque son compuestos de tamaño y polaridad intermedios, por lo tanto, la interacción entre la piel y éstos es considerable e influencia el proceso de evaporación de la fragancia, el estado de la piel, entre otros [17].

Los ingredientes fragantes de perfumes y cosméticos son la mayor causa de dermatitis alérgica de contacto [96]. Se evaluó la reacción alérgica de una mezcla de perfumes en una población de 3580 personas, y se encontró una respuesta positiva en el 13,5% de la población; el geraniol, el eugenol, el isoeugenol, el hidroxicitronelol y los derivados cinámicos se plantearon como posibles responsables hasta del 86% de los casos de alergia desarrollados [97]. Los almizcles nitrados son una serie de compuestos estructuralmente similares, nitrosustituidos, usados como agentes fijadores en productos cosméticos y de cuidado personal. Dentro de ellos, el almizcle ambrette fue reportado como un fotosensibilizador y neurotóxico, mientras que el almizcle xilol parece ser carcinogénico [4].

Son varios los factores que inciden sobre la perduración de una fragancia sobre la piel. Se ha observado, que la grasa de la piel ayuda a extender y retener las moléculas aromáticas de una fragancia, por lo tanto, cuanto más grasosa es la piel, más tiempo perdura la fragancia.

Se ha determinado que algunos compuestos, tales como ftalatos, siliconas, etc., cuando forman parte de la composición de un perfume, incrementan su

perduración y se ha reportado que su uso en cantidades prudentes tiene un pequeño efecto sobre la intensidad del perfume [97]. Por otra parte, se estableció que la jasmona y los jasmonatos proveen larga duración a los perfumes, así como, notas finales agradables a jazmín [98].

La interacción química entre los componentes de un perfume, la adsorción, difusión y la velocidad de evaporación sobre la piel, contribuyen a brindarle a éste su carácter especial. Una fragancia debe tener una buena difusión durante su uso, es decir, debe ser percibida con intensidad después de aplicar el producto [95]. La difusión de una fragancia en la piel está determinada por parámetros, tales como la temperatura, la concentración de la fragancia sobre la piel y la intensidad de ventilación [6].

El potencial de evaporación de un compuesto aplicado sobre la piel, está relacionado con la presión de vapor, las condiciones ambientales (temperatura, humedad y flujo de aire), la interacción del compuesto con el vehículo en el que se encuentra y con la superficie de la piel (como penetración, unión o reacción química) [16]. En general, se ha demostrado que las pérdidas por evaporación son más grandes bajo flujos de aire mayores, excepto para compuestos con presión de vapor muy pequeñas; por otra parte, el aumento de la temperatura contribuye al aumento en la penetración cutánea. El incremento de la humedad relativa muestra un aumento en la permeabilidad de los compuestos hidrofílicos, siendo indiferente para aquellos lipofílicos [16].

Una molécula es realmente percibida por la difusión de sus moléculas. La difusión es una propiedad inherente a cada componente y es independiente de su peso molecular, su punto de ebullición y su umbral de olor. Dependiendo de la piel o del tipo de moléculas fragantes puede presentarse o no un efecto significativo sobre la emisión de éstas [95].

#### 1.4.1 Microextracción en fase sólida

El desarrollo y aplicación de metodologías para la determinación de la composición química de aromas y mezclas similares es una tarea desafiante; esto es consecuencia de algunas propiedades generales inherentes de dichas mezclas, a saber [3]:

- La concentración de algunos analitos en las fragancias puede ser extremadamente baja;
- Muchos aromas son mezclas demasiado complejas de sustancias de diversa polaridad y volatilidad;
- Algunas sustancias odoríferas tienen estabilidad química limitada, como resultado, presentan reacciones de fotólisis, oxidación y otras.

Dentro de las técnicas empleadas para la caracterización química de fragancias y para evaluar su perfil de evaporación después de ser aplicadas sobre la piel, se encuentran los métodos *headspace* (HS): HS estático (S-HS) y HS dinámico (D-HS). Este último, a pesar de permitir la concentración de compuestos volátiles, es un método costoso y poco práctico. Por otra parte, aunque el S-HS es un método sencillo, su sensibilidad no es suficiente para el análisis de los compuestos volátiles presentes en concentraciones bajas [100].

Microextracción en fase sólida es una técnica relativamente nueva reportada por Arthur y Pawliszyn en 1990 [100]. Fue introducida como una técnica de preparación de muestras libre de solventes para análisis de compuestos volátiles y semivolátiles, en muestras sólidas, líquidas y gaseosas para el análisis mediante GC, GC-MS o HPLC.

La unidad de SPME consta de una fibra de sílice fundida recubierta con una fase estacionaria; la fibra está unida a un soporte de acero inoxidable y es acoplada a un dispositivo especial semejante a una jeringa (ver **Figura 17**). Durante el proceso de SPME la fibra es expuesta a la muestra o su *headspace*, donde ocurre la repartición de los analitos entre la fase estacionaria y la matriz, es decir, los analitos son absorbidos o adsorbidos por la fase estacionaria, dependiendo de la naturaleza del recubrimiento (poli(dimetisiloxano), PDMS; poliacrilato, PA; entre otras) hasta que se alcanza el equilibrio en el sistema [101]. La cantidad de un analito extraído en el equilibrio es determinada por la magnitud de la constante de distribución del analito entre la matriz y la fase estacionaria [6, 100, 102].



**Figura 17.** Dispositivo empleado para la microextracción en fase sólida (SPME).

Después de la extracción y concentración de los analitos, éstos son introducidos al cromatógrafo de gases, colocando la fibra en el puerto de inyección donde ocurre la desorción térmica de los analitos. El mango del dispositivo (*holder*) está equipado con una escala para medir la profundidad de exposición de la fibra, lo que hace posible el control de la repetitividad de las inyecciones [6, 100, 102].

El tiempo necesario para lograr la adsorción (o absorción según el tipo de fibra) durante el muestreo por SPME, depende de las propiedades de la matriz y del analito. Es posible realizar el análisis cuantitativo antes de alcanzar el equilibrio en la distribución de analitos entre la matriz y la fase estacionaria, una vez las condiciones y el tiempo de muestreo se mantienen constantes [103, 104].

El muestreo puede ser efectuado en tres modos básicos:

- Extracción directa: el recubrimiento de la fibra es insertado dentro de la muestra y los analitos son transportados directamente desde la matriz hasta la fase estacionaria; para aumentar la velocidad de la extracción, ésta puede acompañarse de agitación para transportar los analitos desde el volumen de la muestra hasta la vecindad de la fibra.
- Extracción en el modo *headspace*: los analitos son extraídos de la fase gaseosa, que se encuentran en equilibrio con la matriz; de este modo, se protege la fibra de los efectos adversos causados por la adsorción de los componentes no volátiles, sustancias de alto peso molecular presentes en la matriz (por ejemplo, ácidos húmicos o proteínas). En el modo *headspace* también es posible realizar algunas modificaciones, incluyendo ajuste de pH de la matriz, sin afectar la fibra.
- Extracción con membrana de protección: la fibra es separada de la muestra por una membrana selectiva que permite a los analitos atravesarla, bloqueando las interferencias, esto se hace con el fin de proteger la fibra de cualquier efecto adverso causado por los componentes de alto peso molecular y muy polares, presentes en muestras complejas y/o muy contaminadas. Mientras la extracción en el modo *headspace* tiene el mismo propósito, la protección de la fibra con una membrana hace posible el análisis de compuestos menos volátiles [100, 102].

Para realizar la extracción más eficiente de los analitos se tienen en cuenta la polaridad, volatilidad y tamaño del analito; también existen parámetros experimentales que afectan la eficiencia: la concentración de la sal y el pH de la muestra pueden aumentar la eficiencia de extracción, el incremento en la temperatura permite promover los analitos al *headspace*, para una extracción más rápida. Sin embargo, el aumento de la temperatura debe ser moderado porque, de lo contrario, puede ocurrir el efecto inverso [100, 102, 105, 106].

La SPME tiene notables ventajas en el análisis químico del *headspace* sobre las técnicas convencionales, tales como *headspace* estático y dinámico, en términos de facilidad de uso y reproducibilidad muy alta [99]. Es un método de preparación de muestra para el análisis de compuestos volátiles y semivolátiles, polares y no polares en varias matrices; es una técnica de extracción libre de solvente, rápida, sensible, apta tanto para GC, como para HPLC, relativamente económica y el dispositivo es reutilizable [18, 107].

La microextracción en fase sólida (SPME) ha ganado creciente popularidad en el análisis de fragancias y aromas. Es especialmente conveniente para el análisis cualitativo y cuantitativo de compuestos fragantes [6, 20, 107-109]. El campo de aplicaciones de la SPME comprende además, el análisis de aromas en alimentos, la caracterización de compuestos orgánicos volátiles en diferentes matrices (aire, agua, suelo, empaques, etc.) y en muestras desconocidas; análisis de contaminantes, drogas, explosivos, residuos de incendios y muchos otros [3, 99, 107, 108].

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

### 2.1 EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

#### Equipos:

- ✓ Equipos analíticos

#### Sistema cromatográfico I.

- Cromatógrafo de gases *Agilent Technologies GC 6890 Plus* (Palo Alto, California, EE.UU.), acoplado a un detector selectivo de masas *Agilent Technologies 5973* (MSD; EI, 70 eV) con un sistema de datos *HP MSChemStation*, Versión 1.05, un puerto de inyección *split/splitless (split 1:30)*.
- Columna cromatográfica capilar de sílice fundida con fase estacionaria apolar de poli(metilsiloxano), DB-1 (*J&W Scientific*, Folsom, CA, EE.UU.) de 60 m x 0,25 mm D.I. x 0,25 µm d<sub>f</sub>.

#### Sistema cromatográfico II.

- Cromatógrafo de gases *HP 5890 Series II* (*Hewlett-Packard*, Palo Alto, California, EE.UU.), acoplado a un detector selectivo de masas (MSD) *HP 5972* con un sistema de datos *HP MSChemStation*, Versión 1.05, un puerto de inyección *split/splitless (split 1:30)*.
- Columna cromatográfica capilar de sílica fundida con fase estacionaria medianamente polar de 5%-fenil poli(metilsiloxano) *HP-5* (*Hewlett-Packard*, Palo Alto, California, EE.UU.) de 60 m x 0,25 mm D.I. x 0,25 µm d<sub>f</sub>.

### Sistema cromatográfico GC-FID

- Cromatógrafo de gases HP 5890 Series II (*Hewlett-Packard*, Palo Alto, California, EE.UU.), dotado con un detector de ionización en llama (FID), un puerto de inyección *split/splitless* (*split* 1:30).
- Columna cromatográfica capilar de sílica fundida con fase estacionaria medianamente polar de 5%-fenil poli(metilsiloxano) HP-5 (*Hewlett-Packard*, Palo Alto, California, EE.UU.) de 30 m x 0,25 mm D.I. x 0,25  $\mu\text{m}$  d<sub>f</sub>.
- ✓ Equipo empleado para monitorear compuestos volátiles del perfume aplicado sobre la piel del antebrazo.

### Materiales

- ✓ Fibras de PDMS/DVB *StableFlex* (65  $\mu\text{m}$ ), PA (85  $\mu\text{m}$ ) y PDMS (100  $\mu\text{m}$ ), (*Supelco*, Bellefonte, PA, EE.UU.).
- ✓ Material de vidrio: *viales* ámbar de 4 mL con tapas; *viales* de 2 mL con tapas; vaso de precipitados de 150 mL; placas de vidrio de 76 x 26 mm.
- ✓ Micropipeta de 25-125  $\mu\text{L}$  (*Brand*, Wertheim, Alemania)
- ✓ Puntas desechables para pipeteadores de 25-125  $\mu\text{L}$  (*Axygen Scientific*, California, EE.UU.).
- ✓ Tubos cónicos (*Brand*, Wertheim, Alemania).
- ✓ Termómetro de 100 °C (*Brand*, Wertheim, Alemania).
- ✓ Placa de calentamiento.

### Reactivos y otros

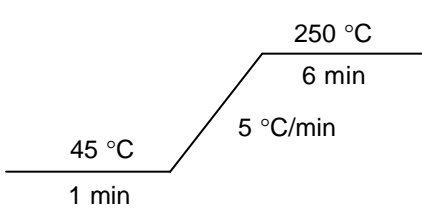
- ✓ Perfume “Tendre Kiss” de Lalique (Paris, Francia)
- ✓ Diclorometano: 99,9 % de pureza, grado analítico, marca registrada *Fluka* (Buchs, Suiza).

- ✓ Patrón de 16 hidrocarburos lineales (C<sub>10</sub>-C<sub>25</sub>), 2,0 mg/mL en diclorometano, grado analítico, marca *AccuStandard* (New Haven, EE.UU.), lote N° B1050115.
- ✓ Estándar interno de *n*-tetradecano (C<sub>14</sub>H<sub>30</sub>) de 99,5 % de pureza, grado analítico, marca *Merck* (Darmstadt, Alemania), lote N° K17363008.

## 2.2 CARACTERIZACIÓN DEL PERFUME POR INYECCIÓN DIRECTA

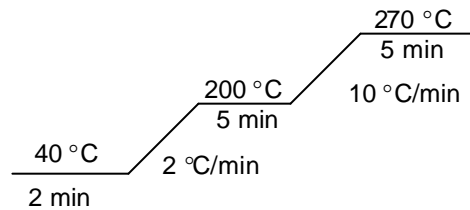
Se preparó una solución de perfume ("Tendre Kiss") en diclorometano, en relación 10:1 y se inyectó a los sistemas cromatográficos I y II (temperatura del inyector: 250 °C, relación *split*30:1). Se emplearon dos programaciones de la temperatura para cada una de las columnas:

- Columna DB-1



Tiempo total: 48 min

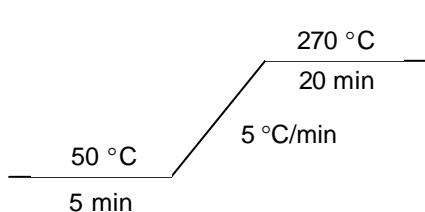
**Programación 1**



Tiempo total: 99 min

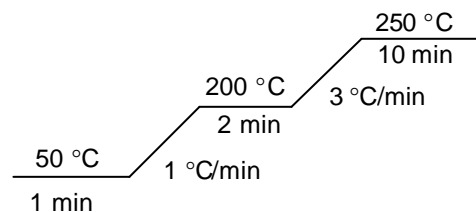
**Programación 2**

- Columna HP-5



Tiempo total: 69 min

**Programación 3**



Tiempo total: 179 min

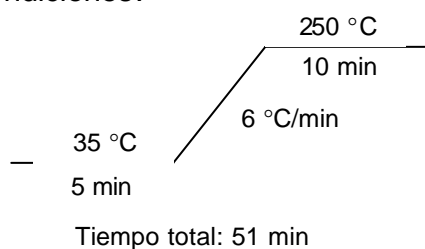
**Programación 4**

Para calcular los índices de Kóvats de los componentes del perfume, se inyectó un patrón de hidrocarburos (C<sub>10</sub>-C<sub>25</sub>) en las columnas DB-1 y HP-5, bajo las programaciones, descritas anteriormente para el análisis del perfume. La identificación de los componentes de la mezcla se realizó con base en los espectros de masas de cada componente, por ionización electrónica (70 eV), y usando los índices de Kóvats, calculados para cada una de las columnas empleadas (DB-1 y HP-5) y las bases de datos NBS75K, Wiley 138 y NIST98.

## 2.3 CARACTERIZACIÓN POR HS-SPME-GC/MS DE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DEL PERFUME

### 2.3.1 Selección del tipo de fibra para SPME

Se evaluó la eficiencia de extracción de tres tipos de fibra, a saber: PDMS, PDMS/DVB, PA, para lo cual se adicionó un volumen de 100 µL de perfume en un *vial*, se llevó a una temperatura de 37 °C (temperatura corporal promedio) y se expuso cada fibra durante 30 min a los vapores, para llevar a cabo la extracción, después de haber mantenido el *vial* durante 10 min para alcanzar el equilibrio térmico. La desorción de los componentes se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases equipado con un inyector *split/splitless* (temperatura del inyector: 250 °C, operado en el modo *splitless*, con el fin de detectar los componentes que se encuentran en bajas concentraciones en el *headspace* del perfume) y un detector de ionización en llama (GC-FID), con flujos de aire e hidrógeno de 300 y 30 mL/min, respectivamente, y nitrógeno, como gas auxiliar, con una velocidad de flujo de 30 mL/min. Se empleó una columna HP-5 (30 m x 0,32 mm x 0,24 µm) bajo las siguientes condiciones:



El anterior procedimiento se realizó por triplicado.

### **2.3.2 Selección del tiempo de exposición**

La fibra seleccionada (PDMS/DVB) se expuso a un *vial* precalentado a 37 °C, que contenía 100 µL de perfume. La exposición de la fibra se llevó a cabo durante diferentes intervalos de tiempo (5, 10, 15, 30, 60 y 120 min) y se determinó el tiempo de exposición durante el cual se extrae el mayor número de componentes y en su mayor cantidad, con base en el análisis de los perfiles cromatográficos obtenidos por GC-FID y la determinación del área total de los picos.

### **2.3.3 Identificación de los compuestos volátiles del perfume**

Después de mantener el *vial* con perfume durante 10 min a 37 °C, se realizó la exposición de la fibra de PDMS/DVB durante 15 min al *headspace* del perfume “Tendre Kiss” de Lalique (100 µL). La desorción de compuestos se llevó a cabo en el sistema cromatográfico II (GC-MSD). Se obtuvieron corrientes iónicas totales en un rango de masas  $m/z$  30-300, y espectros de masas (EI, 70 eV), con base en los cuales se hizo la identificación de los componentes.

### **2.3.4 Identificación de las notas del perfume**

Para caracterizar las diferentes notas del perfume sintético “Tendre Kiss”, se adicionaron 100 µL del perfume a un *vial* ámbar de 4 mL, precalentado a 37°C. El perfume se evaporó durante diferentes intervalos de tiempo (ver **Tabla 2**), para los cuales se expuso la fibra de PDMS/DVB a los volátiles durante el tiempo de exposición seleccionado (i.e. 15 min) en el Numeral anterior. La desorción de compuestos y su análisis se llevaron a cabo por GC-FID.

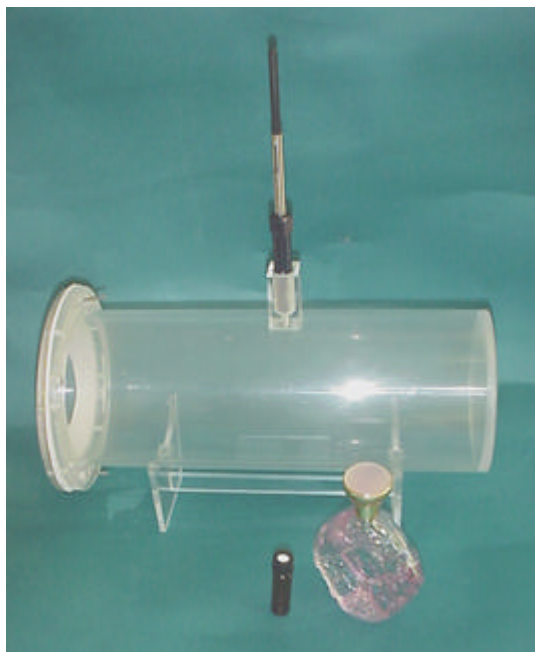
**Tabla 2.** Tiempos de evaporación para la evaluación de las notas del perfume.

NOTAS	TIEMPO
Salida	5 seg
	3 min
Medias	10 min
	30 min
	60 min
Fondo	2 h
	12 h

## 2.4 EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DE LOS PERFUMES APLICADOS SOBRE LA PIEL

### 2.4.1 Diseño, construcción y evaluación de las condiciones de operación del equipo para monitorear volátiles de la piel.

Se diseñó un dispositivo para monitorear los compuestos volátiles del perfume, aplicado sobre la parte interna del antebrazo (ver **Figura 18**). El equipo fue fabricado en material acrílico, de forma cilíndrica, con un diámetro de 18 cm, para mantener una distancia aproximada de 2 cm entre la parte interna del antebrazo y la fibra. Su longitud es en promedio el largo del antebrazo (34 cm) y posee una adaptación especial para la inserción del soporte metálico que contiene la fibra de microextracción. Adicionalmente, se colocó una lámina de un polímero de silicona flexible que se adapta al brazo y brinda hermeticidad en el momento de la introducción del antebrazo, para el monitoreo de volátiles. Para cada voluntario se empleó una lámina diferente de silicona, para evitar inconvenientes de contaminación cruzada.



**Figura 18.** Dispositivo empleado para el monitoreo de volátiles del perfume, aplicado sobre la piel del antebrazo.

Se realizó el monitoreo tanto de los compuestos volátiles del propio dispositivo (blanco del dispositivo), como con perfume (100  $\mu$ L), aplicado sobre una lámina de vidrio, a diferentes tiempos de evaporación (0, 30, 60, 90 y 120 min), introduciendo la fibra de SPME (PDMS/DVB) en el aparato y exponiéndola durante 15 min. El análisis se llevó a cabo por GC-FID y la identificación de los componentes volátiles por GC-MS. Los datos obtenidos se emplearon como patrón de comparación entre el proceso de evaporación del perfume desde una superficie relativamente inerte (lámina de vidrio) y de una superficie bioquímicamente activa (piel).

#### **2.4.2 Estudio del comportamiento de los compuestos volátiles del perfume, aplicado sobre la piel.**

Se analizó el comportamiento de la fracción volátil del perfume aplicado sobre tres tipos de piel con diferentes grados de pigmentación, a saber: blanca, morena clara

(trigueña) y morena; denominadas en este estudio como B, T y M. El estudio se realizó con seis voluntarias (dos para cada tipo de piel) de sexo femenino, en un rango de edad entre 20 y 24 años.

Para la determinación de los tipos de piel de las voluntarias se empleó la clasificación según Fitzpatrick [94]. Debido a la carencia de la tecnología necesaria para realizar el procedimiento establecido por este autor, se recurrió a una encuesta (ver **Anexo 1**), basada en el principio de clasificación de la piel, propuesto por Fitzpatrick, que permite obtener la información necesaria para realizar una clasificación general de la piel de las voluntarias.

Previo al análisis, se efectuó la limpieza del área de aplicación del perfume con un jabón relativamente inodoro, se enjuagó con abundante agua y se secó al ambiente durante 30 min. Se realizaron los blancos de la fibra, dispositivo y del antebrazo sin aplicar perfume.

Se aplicaron 100  $\mu\text{L}$  de perfume "Tendre Kiss" sobre la parte interna del antebrazo, que se dejó evaporar durante los tiempos predeterminados (0, 30, 60, 90 y 120 min) en un cuarto a una temperatura de  $23 \pm 1$  °C. Después de cada uno de estos intervalos, se introdujo el antebrazo al equipo para el monitoreo y se expuso la fibra de PDMS/DVB durante 15 min. La desorción de analitos y su análisis se llevaron a cabo por GC-FID y GC-MS.

## **2.5 DETERMINACIÓN DE TIEMPOS DE RETENCIÓN RELATIVOS ( $t_{RR}$ ) POR EL MÉTODO DE PATRÓN INTERNO, DE LOS COMPUESTOS DEL PERFUME.**

Se utilizó *n*-tetradecano (sustancia de referencia para cromatografía de gases, MERCK, Darmstad, Alemania) como patrón interno para determinar, con respecto a él, los  $t_{RR}$  para cada uno de los componentes del perfume.

*Inyección directa.* Se adicionó *n*-tetradecano (1 µL) a diclorometano (1 mL) en un vial de 2 mL y, posteriormente, se adicionaron 100 µL de perfume. Esta solución se inyectó por triplicado al sistema GC-FID y al sistema cromatográfico II.

*HS-SPME.* Se adicionaron *n*-tetradecano (1 µL) y perfume (100 µL) a un vial ámbar de 4 mL, que se calentó a 37 °C. La fibra de PDMS/DVB se expuso durante 15 min a los vapores del perfume. La desorción de compuestos adsorbidos se llevó a cabo en el puerto de inyección del sistema GC-FID; este procedimiento se realizó cinco veces para evaluar la repetitividad de los tiempos de retención de los compuestos volátiles del perfume. Para la identificación de los componentes, la fibra se introdujo al sistema cromatográfico II.

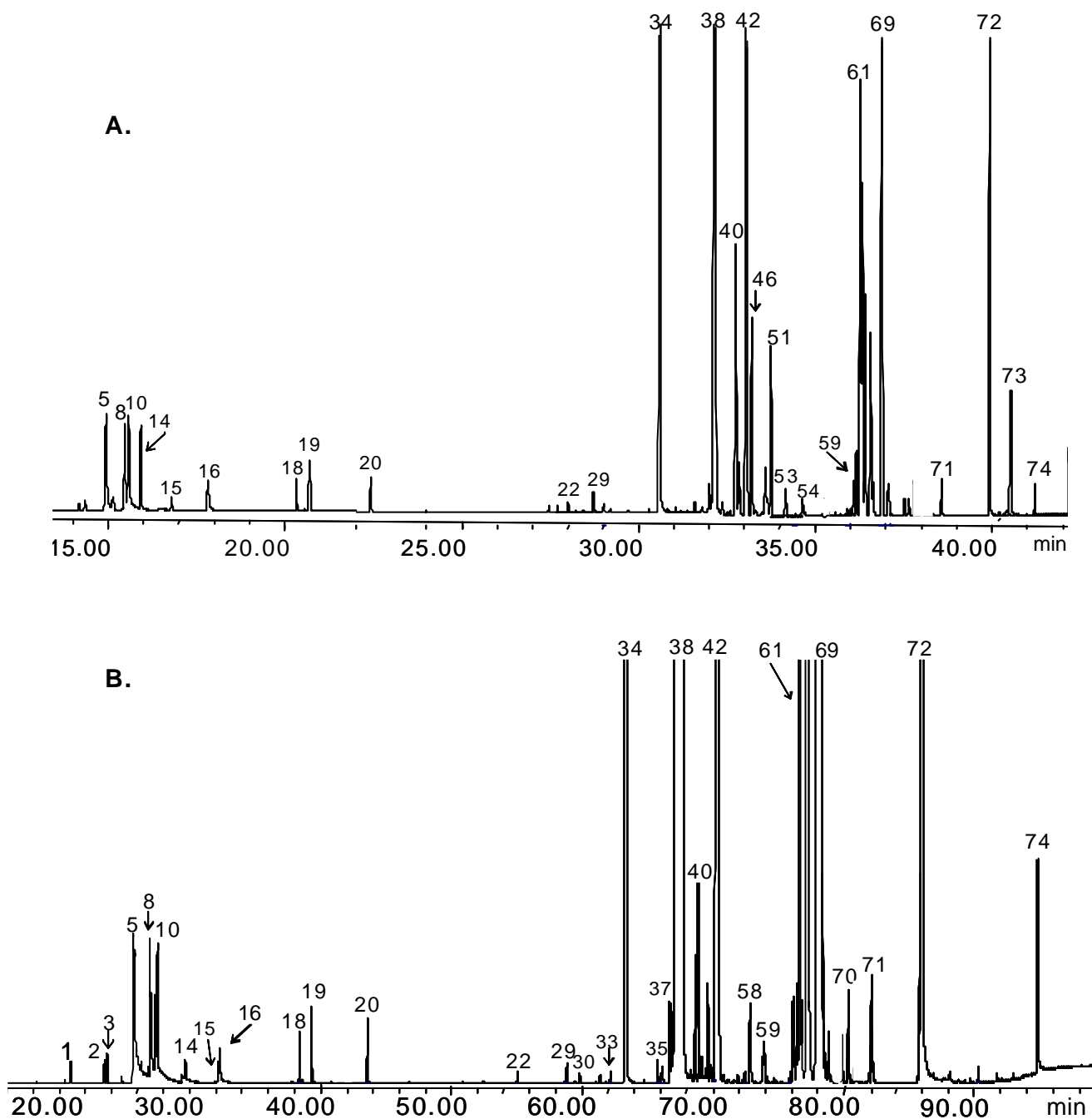
### 3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En general, se ha establecido que el género, la raza y el pH de la piel, no “afectan” significativamente la emisión de sustancias fragantes o su absorción, al ser aplicadas sobre la piel [93, 110]. Por otra parte, se ha demostrado la influencia del tipo de piel sobre la velocidad de absorción y evaporación de estos compuestos, y este comportamiento se relaciona directamente con la textura, contenido de grasa y color de la piel, entre otros [9, 23, 73, 82, 93, 110]. De los anteriores, se estudió la influencia del color de la piel sobre el perfil de evaporación de los compuestos volátiles de un perfume aplicado sobre ésta; para este monitoreo se escogió el perfume femenino “Tendre Kiss” de Lalique por su disponibilidad, al encontrarse a nuestro alcance, además, es un perfume auténtico, recientemente desarrollado (2002) por una marca francesa reconocida [111, 112]. Pertenece a la familia floral, muy amplia e investigada, debido a que sus notas son empleadas como base o complemento en la mayoría de perfumes, que se comercializan. Se empleó para este estudio una novedosa técnica HS-SPME, usando un dispositivo especial construido (*home-made*) para el monitoreo de volátiles emanados por la piel.

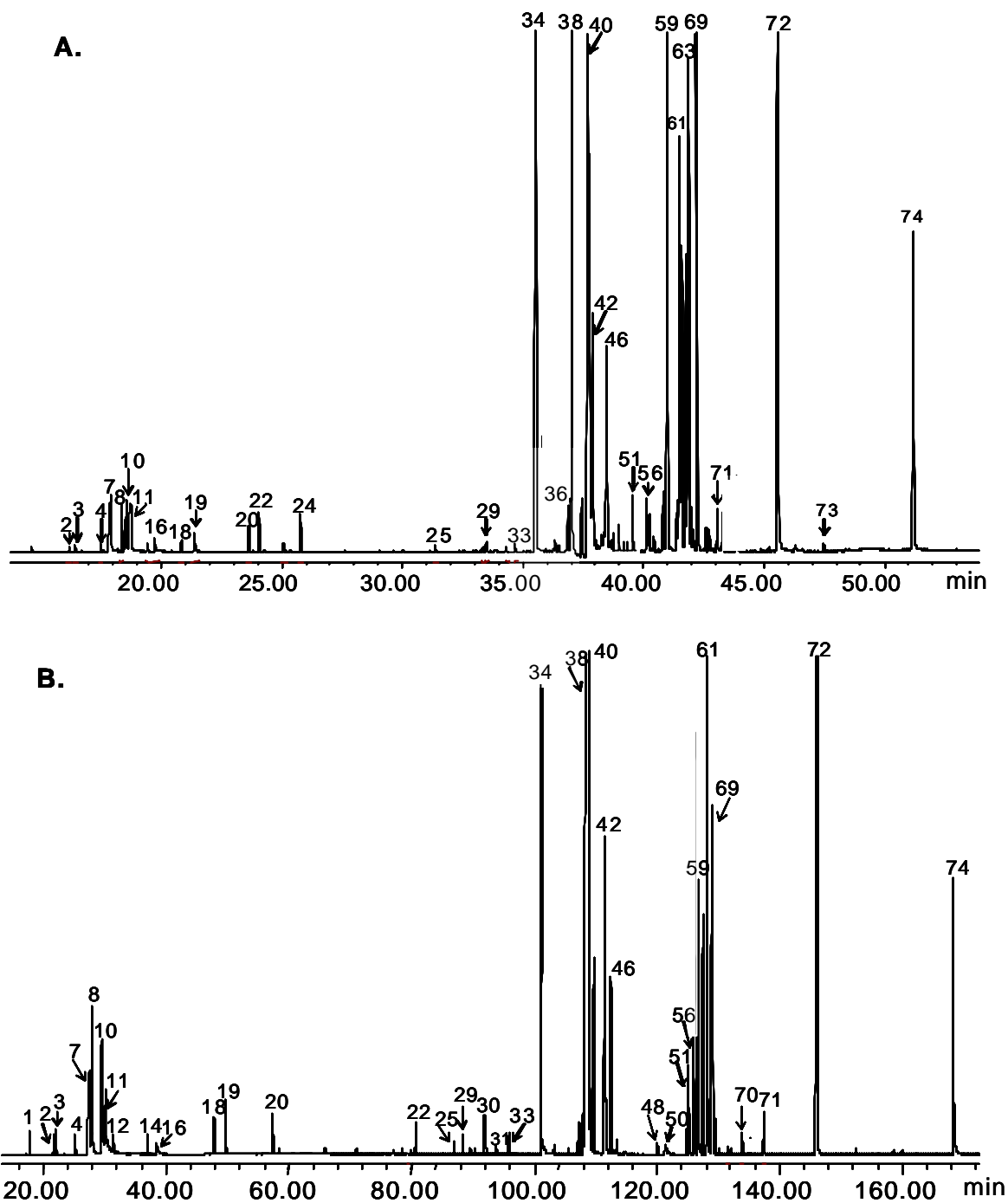
#### 3.1 CARACTERIZACIÓN DEL PERFUME POR INYECCIÓN DIRECTA

Los cromatogramas obtenidos para la muestra del perfume “Tendre Kiss” en cada uno de los sistemas cromatográficos, *i.e.* I y II, bajo las condiciones descritas en el Numeral 2.2, se presentan en las **Figuras 19 y 20**.

En estas figuras se puede apreciar que las condiciones, bajo las cuales se obtuvieron los respectivos cromatogramas “B” (programaciones 2 y 4, véase pág. 53), permitieron separar y detectar un número mayor de componentes, sin embargo, el análisis de los cromatogramas “A” (programaciones 1 y 3, véase pág.



**Figura 19.** Perfiles cromatográficos del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, obtenidos por HRGC/MSD, en la columna DB-1 (60 m). Para programación del horno: A. 45 °C (1 min), @ 5 °C/min hasta 250 °C (6 min) ; B. 40 °C (2 min), @ 2 °C/min hasta 200 °C (5 min), @ 10 °C/min hasta 270 °C (5 min). La identificación de los componentes aparece en la **Tabla 3**.



**Figura 20.** Perfiles cromatográficos del perfume “Tendre Kiss” de Laliqne, obtenidos por HRGC/MSD, en la columna HP-5 (60 m). Para programación del horno: A. 50 °C (5 min) @ 5 °C/min hasta 270 °C (20 min) ; B. 50 °C (5 min). @ 1 °C/min hasta 200 °C (2 min). @ 3 °C/min hasta 250 °C (10 min). La identificación de los componentes aparece en la **Tabla 3**.

53), fue decisivo para realizar una caracterización más completa del perfume, al permitir identificar más confiablemente algunos compuestos. Se identificó un número mayor de componentes, cuando se empleó la columna capilar HP-5.

En los **Anexos 2 y 3** se reportan los compuestos presentes en el perfume “Tendre Kiss”, identificados por GC-MS, empleando las columnas DB-1 y HP-5, respectivamente. La identificación se realizó con base en los espectros de masas obtenidos, por comparación con los de las bases de datos NBS75K, Wiley 138 y NIST98, usando los índices de Kóvats experimentales y los reportados en la literatura [113-115]. Aunque para cada sistema cromatográfico se presentó la coelución de varios componentes, dificultando su identificación y cuantificación, fue posible determinar la presencia de 74 compuestos, reportados en la **Tabla 3**.

En la **Tabla 3**, se puede observar, que los componentes mayoritarios del perfume “Tendre Kiss” (>1%) son el *cis*-dihidrojasmonato de metilo, el brasilato de etileno, el ftalato de dietilo, la galaxolida, el miristato de isopropilo, el *trans*-dihidrojasmonato de metilo, el acetato de tetradecenilo, la muscolactona, el 4-metoxicinnamato de 2-etilhexilo, la tonalida, el 3-(4-metoxifenil)-2-etilhexil-2-propanoato, un derivado del p-cimen-7-ol y el benzoato de bencilo.

Se identificaron también otros compuestos en cantidades menores (> 0,01 %) que juegan un papel importante para proporcionar el aroma único del perfume, tales como el nerol, el linalool, el limoneno, el santalol, el ambrox, el farnesol, el alcohol  $\beta$ -feniletílico, el  $\alpha$ -terpineol, la  $\gamma$ -metil ionona, los  $\alpha$ - y  $\beta$ -pinenos, entre otros. Cada uno de los componentes posee características específicas y presenta una función determinada (aromatizante, antioxidante, fijador, etc) en el perfume, así como se resume en la **Tabla 4**.

**Tabla 3.** Identificación por HRGC/MSD de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique.

Nº	Identificación	Cantidad relativa (%)	HP-5		DB-1	
			$I_K$ literatura	$I_K$ experimental	$I_K$ literatura	$I_K$ experimental
1	$\alpha$ -Pino	0,16	939	-	942	-
2	Sabineno	0,04	976	-	976	-
3	$\beta$ -Pino	0,16	980	-	981	-
4	$\alpha$ -Felandreno	0,06	1005	1000	- /1002	-
5	Gliceroltrimetil éter*	0,86**	-	-	-	-
6	$\Delta^3$ -Careno	0,04**	1011	1006	1013	1019
7	Metoxi trietilenglicol	0,05	-	1022	-	-
8	Dipropilenglicol	1,39	-	1023	-	1011
9	Etilal	0,18**	-	-	-	1017
10	Limoneno	0,74	1031	1026	1024	1019
11	Dibutilenglicol	0,14	-	1044	-	-
12	$\gamma$ -Terpino	0,08	1062	1054	1056	1047
13	Linalool	0,21	1098	1099	-	-
14	Alcohol $\beta$ -feniletílico	0,30	1110	1110	-	1081
15	Óxido de linalool	0,14**	-	-	1082	1084
16	<i>trans</i> - $\beta$ -Terpineol	0,22	1163	1179	-	-

Continuación **Tabla 3.**

17	$\alpha$ -Terpineol	<0,01	1189	1192	-	-
18	Nerol	0,34	1228	1227	1097	1166
19	Acetato de linalilo	0,33	1257	1248	1218	1179
20	Aminobenzoato de linalilo	0,23	-	1254	-	-
21	$\alpha$ -Copaeno	<0,01	1376	1372	1369	-
22	<i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno	0,08	1418	1412	1240	1240
23	$\alpha$ -Santaleno	<0,01	1420	1416	1412	-
24	2,3-Dihidro-5,6-dimetoxi-3-metil-1-H-inden-1-ona	0,08**	-	-	1417	1412
25	Dehidroaromadendreno	0,06	1459	1438	-	-
26	Butil metoxidibenzoilmetano	<0,01	-	1453	-	-
27	$\gamma$ -(E)-6-Metilionona	0,03**	1479	1488	-	1592
28	Germacreno D	<0,01	1480	1489	1468	-
29	Hidroxitolueno butilado (antioxidante)	0,06	1512	1509	-	1474
30	Elemol	0,05	1549	1539	1540	1530
31	Elemicin	0,04	1554	1515	-	1530
32	$\delta$ -Cadineno	0,04**	1559	1547	1524	1530
33	Longipinanol	0,09	1561	1562	-	-

Continuación **Tabla 3.**

34	Ftalato de dietilo	9,11	-	1583	-	1550
35	N.I.	0,14	-	1621	-	-
36	9-Dodeciltetradecahidro antraceno*	0,12	-	1643	-	1597
37	N.I.	0,13**	-	-	-	1607
38	<i>cis</i> -Dihidrojasmonato de metilo	22,85	1654	1649	-	1619
39	N.I.	0,19	-	1652	-	1635
40	Salicilato de hexilo	0,45**	1675	1673	-	-
41	$\alpha$ -Santalol*	0,36	1678	1674	1660	1712
42	<i>trans</i> -Dihidrojasmonato de metilo	6,94	1680	1679	-	1642
43	N.I.	0,09**	-	-	-	1655
44	N.I.	0,09**	-	-	-	1664
45	2,2,8-Trimetil-biciclo[4,2,0]oct-1(6)-eno-1-penteno*	0,08**	-	-	-	1669
46	Derivado de p-cimen-7-ol*	1,62	-	1682	-	-
47	Isocurcumenol	0,10**	-	-	-	1675
48	Farnesol	0,33	1713	1689	-	-
49	Curcufenol*	<0,01	1715	1714	-	-
50	Ambrox	0,31	1756	1753	-	-
51	Benzoato de bencilo	1,39	1762	1786	-	1719
52	Derivado de la carvona*	0,18**	-	-	-	1739
53	N.I.	0,26**	-	-	-	1781

Continuación **Tabla 3**.



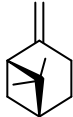
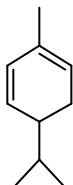
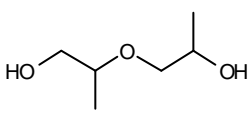
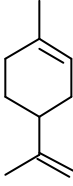
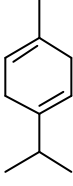
54	2-Ciclohexilciclohexanona	0,39	-	1790	-	-
55	6,7-Dietil-1, 1, 4, 4-tetrametiltetralina*	0,19	-	1793	-	1787
56	Salicilato de 2-etilhexilo	0,50	-	1796	-	1783
57	Benzoil indol*	0,16	-	1798	-	1738
58	1,11,13-Hexadecatrieno*	0,52	-	1805	-	1791
59	Muscolactona	4,32	1828	1810	-	1806
60	Acetato de (E)-4-tetradecenilo	4,62	-	1817	-	1796
61	Miristato de isopropilo	7,75	-	1806	-	1813
62	3-Metil-4-ciclopentadecenona	0,35**	-	-	-	1814
63	Tonalida*	3,49	-	1831	-	-
64	Acetato de farnesilo + N.I.*	0,32	1843	1836	-	-
65	6-Metoxi 8,8-dimetil-2H, 8H- benzo[1, 2-b:3, 4-b']dipiran-2-ona	0,32	-	1856	-	1864
66	7-Acetil-6-etil-1, 1, 4, 4-tetrametiltetralina*	0,09	-	1878	-	1824
67	4, 4-Dimetoxi difenilamina	0,09**	-	-	-	1835
68	Derivado de la tetralina*	0,12**	-	-	-	1850
69	Galaxolida	8,67	1893	1890	-	1855

Continuación **Tabla 3**.

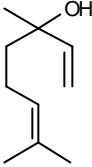
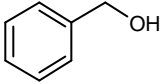
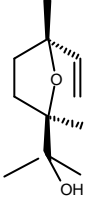
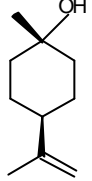
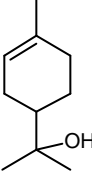
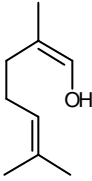
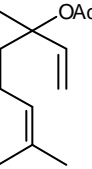
70	Ftalato	0,38	-	1912	-	-
71	Oxacicloheptadec-8-en-ona	0,74	-	1966	-	1971
72	Brasilato de etileno	13,23	2060	1999	-	2076
73	N.I. + 4-Metoxicinnamato de 2-etilhexilo	2,80**	-	-	-	2278
74	4-Metoxicinnamato de 2-etilhexilo	4,19	-	2313	-	-

\*Compuestos identificados tentativamente

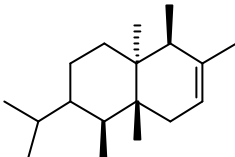
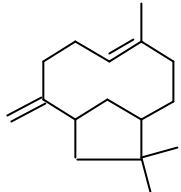
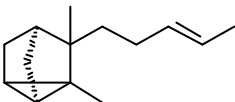
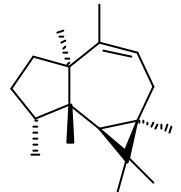
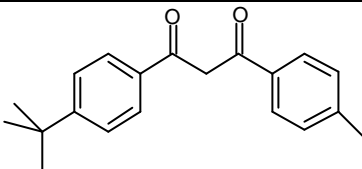
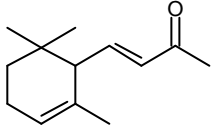
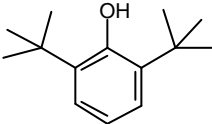
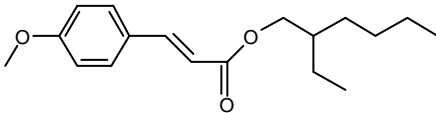
**Tabla 4.** Estructuras y características de olor de los principales componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique.

Compuesto	Estructura	Característica*
$\alpha$ -Pino		Olor a menta y notas coníferas
Sabineno		Olor cítrico
$\beta$ -Pino		Notas verdes, amaderadas y herbales
$\alpha$ -Felandreno		Notas cítricas, de eneldo y eucalipto, especias, pimienta
Dipropilenglicol		Solvente para galaxolida
Limoneno		Notas cítricas, frescas (limón y naranja)
$\gamma$ -Terpineno		Notas cítricas

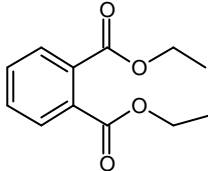
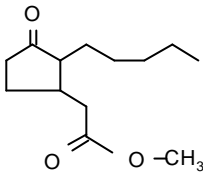
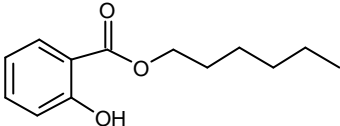
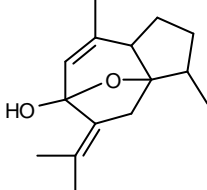
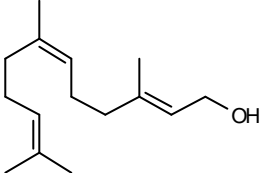
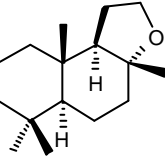
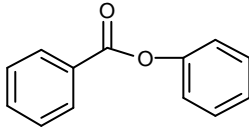
Continuación **Tabla 4.**

Linalool		Notas florales (rosa, lavanda), dulces, aromáticas y herbales
Alcohol $\beta$ -feniletílico		Notas florales (rosa)
Óxido de linalool		Notas florales, dulces
<i>trans</i> - $\beta$ -Terpineol		Notas amaderadas
$\alpha$ -Terpineol		Fuertemente floral (lila)
Nerol		Verde floral (geranio)
Acetato de linalilo		Notas cítricas, frescas

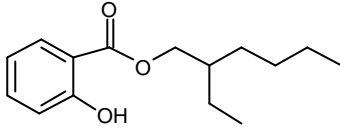
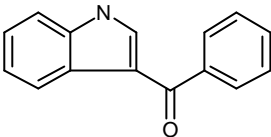
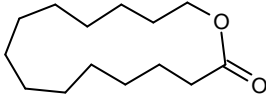
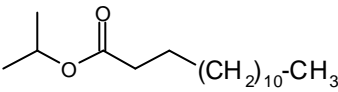
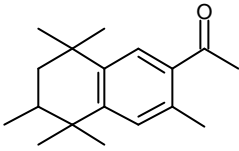
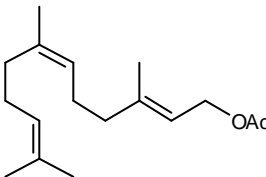
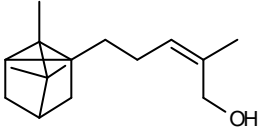
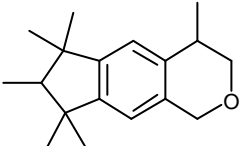
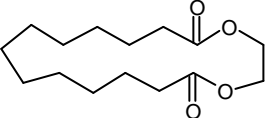
Continuación **Tabla 4.**

Copaeno		Notas especiadas, balsámicas
<i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno		Notas amaderadas
$\alpha$ -Santaleno		Notas de sándalo
Dehidroaromadendrano		Notas especiadas, ámbar, cuero y floral
Butil metoxidibenzoil- metano		Protector UV (sin olor)
$\gamma$ -(E)-6-Metilionona		Notas de violeta, lirio y amaderadas
Butilhidroxitolueno (BHT)		Antioxidante (sin olor)
4-Metoxi-cinnamato de 2-etilhexilo		Solvente para el protector UV

Continuación **Tabla 4.**

Ftalato de dietilo		Fijador
<i>cis-</i> y <i>trans-</i> Dihidrojasmonatos de metilo		Notas de jazmín, dulces, herbáceas
Salicilato de hexilo		Notas balsámicas
Isocurcumenol		Notas florales (violeta)
Farnesol		Notas florales, frescas, dulces
Ambrox		Notas ámbar y de cuero. Fijador
Benzoato de bencilo		Notas de jazmín. Fijador

Continuación **Tabla 4.**

Salicilato de 2-etilhexilo		Solvente para el protector UV Notas florales
Benzoil indol		Notas almizcladas. Fijador
Muscolactona		Notas almizcladas
Miristato de isopropilo		Vehículo de compuestos liposolubles, disolvente, emulsificante
Tonalida		Olor frutal y dulce
Acetato de farnesilo		Notas florales, verdes
$\alpha$ -Santalol*		Notas de sándalo
Galaxolida		Notas almizcladas, dulces, amaderadas
Brasilato de etileno		Notas almizcladas

\*Fuente: [96, 119-124].

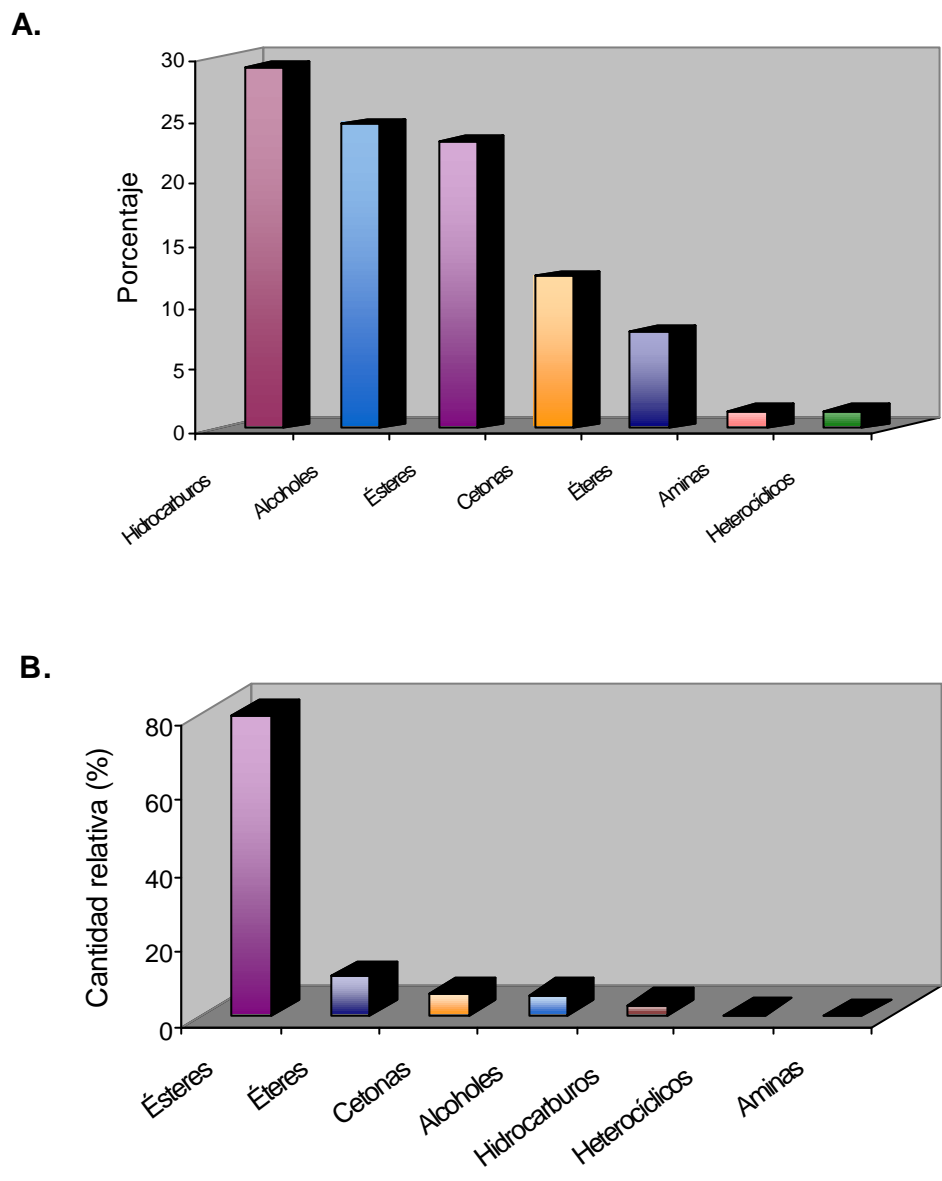
En la **Tabla 4** se observa, que la mayoría de componentes poseen características odoríferas florales, cítricas, almizcladas, ámbar y herbales, que le confieren al perfume su carácter floral-verde. Estos resultados concuerdan con la descripción del perfume realizada por los fabricantes, quienes lo clasifican dentro de la familia de fragancias floral-verde, y es el resultado de la combinación de notas de rosas, peonías, jazmín, pimienta, ylang-ylang, especias, sándalo, vainilla, almizcle y ámbar, entre otros [111, 122].

El perfume está constituido por compuestos pertenecientes a las familias de los hidrocarburos, los alcoholes, los ésteres, los éteres, las cetonas, las aminas y los compuestos heterocíclicos. De los 67 compuestos identificados, los hidrocarburos son los que se encuentran en mayor proporción (29,2%), seguidos por los alcoholes (24,6%), los ésteres (23,1%), las cetonas (12,3%), los éteres (7,8%), las aminas (1,5%) y los compuestos heterocíclicos (1,5%).

Las cantidades relativas de las familias químicas mencionadas anteriormente, no presentan una distribución similar, encontrándose los ésteres en mayor proporción (79,0%); seguidos de los éteres (10,2%), las cetonas (5,7%), los alcoholes (5,3%), los hidrocarburos (2,9%), los compuestos heterocíclicos (0,2 %) y las aminas (0,1%).

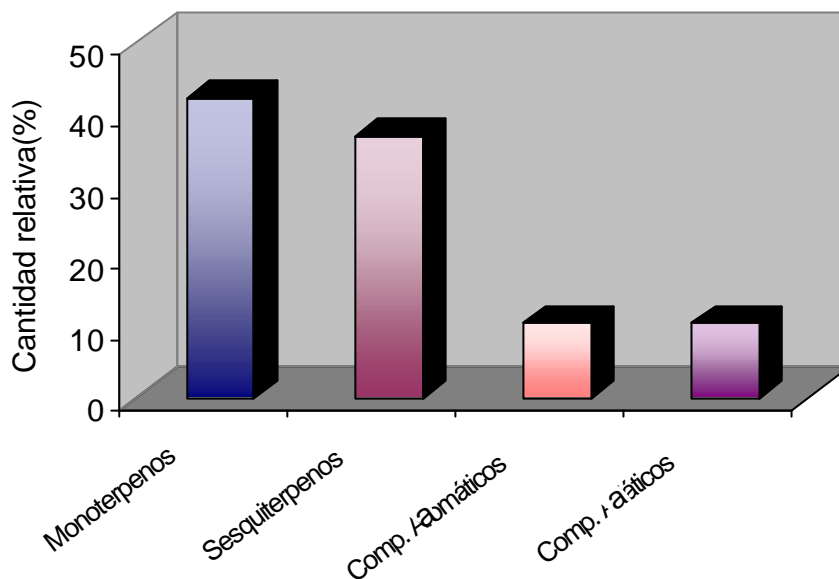
La **Gráfica 1** muestra la distribución por familias de los compuestos identificados por HRGC/MSD, cuando se realizó la inyección directa de una solución del perfume "Tendre Kiss" de Lalique, de acuerdo con el número y la cantidad relativa de éstos.

La familia de los hidrocarburos está formada por monoterpenos (42,1%), sesquiterpenos (36,8%), compuestos alifáticos (10,5%) y aromáticos (10,58%), su distribución se observa en la **Gráfica 2**. Los monoterpenos, familia predominante en el grupo de los hidrocarburos, se encuentran, a su vez, conformados por



**Gráfica 1.** Distribución por familias químicas de los compuestos del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, identificados por GC/MSD (inyección directa). A. Número de compuestos por familia (%). B. Cantidad relativa (%) por familia.

compuestos monocíclicos y bicíclicos, con un porcentaje de 82,5 y 12,5%, respectivamente. Los sesquiterpenos se encuentran constituidos por hidrocarburos mono-, bi- y tricíclicos, con porcentajes relativos de 28,8, 42,5, y 28,8%, respectivamente.



**Gráfica 2.** Distribución por familias de los hidrocarburos presentes en el perfume “Tendre Kiss” de Lalique identificados por GC/MSD

Los ésteres, cetonas, éteres y alcoholes, grupos que presentan mayor cantidad relativa, están constituidas principalmente por monoterpenos y sesquiterpenos oxigenados.

En general, el perfume está compuesto por terpenoides, que en conjunto, son los responsables del aroma de éste, sin embargo, teniendo en cuenta las cantidades relativas, predominan los compuestos que sirven como vehículos, disolventes, preservativos y fijadores de los componentes odoríferos.

### **3.1.1 Repetitividad de los $t_R$ , $t_{RR}$ y porcentajes relativos de los compuestos del perfume “Tendre Kiss” de Lalique (inyección directa)**

Para determinar la repetitividad de porcentajes relativos de los componentes del perfume se realizó la inyección por triplicado de una solución de perfume al cromatógrafo de gases con detector de ionización en llama (GC-FID). En el **Anexo 4** se reportan los datos obtenidos.

En general, se observa que los coeficientes de variación (CV, %) se encuentran en el rango de 0,2-13%, reflejando una buena repetitividad de las áreas cromatográficas normalizadas de los compuestos del perfume identificados. Los valores superiores al rango mencionado corresponden a compuestos que coeluyen y otros, que se encuentran a nivel de trazas (<0,1%), generando picos cromatográficos poco definidos.

En el **Anexo 4**, al evaluar la repetitividad (CV, %) de los tiempos de retención y tiempos de retención relativos, parámetros empleados para la identificación tentativa de los componentes del perfume por GC-FID, se observa, que éstos no superan el 1%, cumpliendo con los valores establecidos por las Buenas Prácticas de Laboratorio para inyección automática [123].

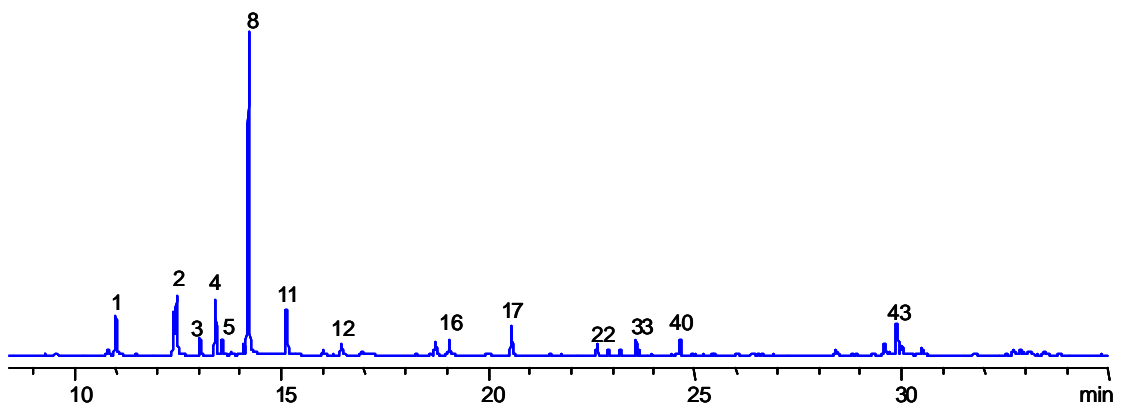
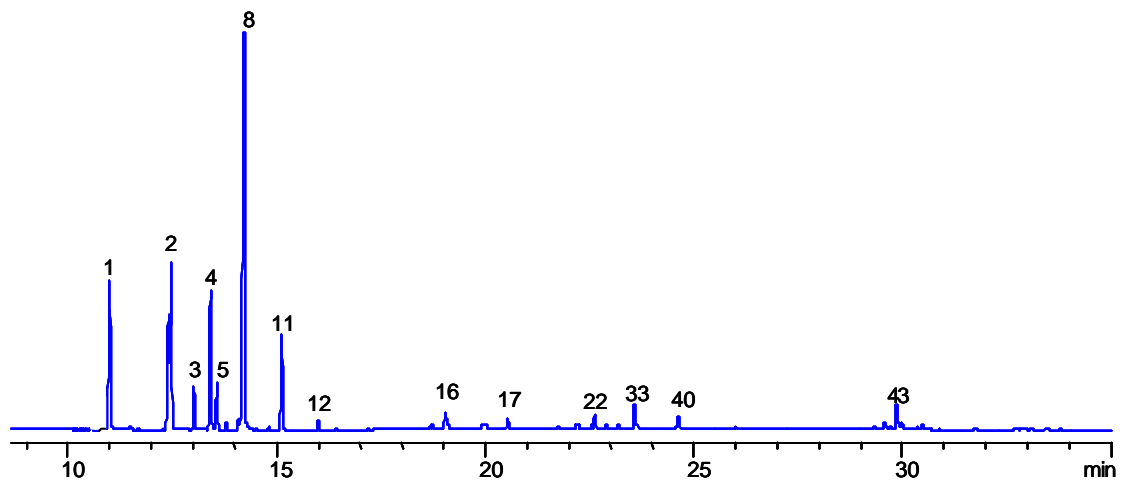
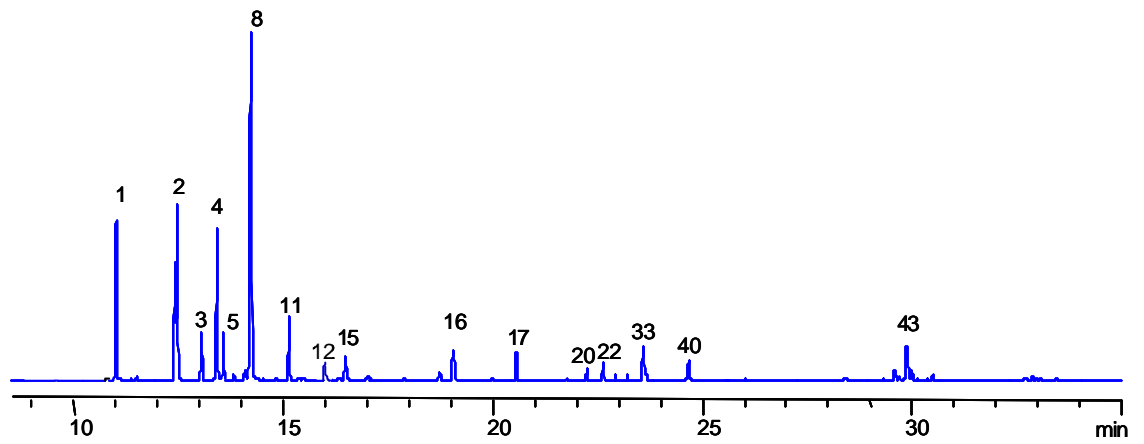
## **3.2 CARACTERIZACIÓN POR HS-SPME DE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DEL PERFUME**

### **3.2.1 Selección del tipo de fibra para SPME**

Los cromatogramas de los volátiles, obtenidos al exponer las fibras de PDMS (100  $\mu\text{m}$ ), PDMS/DVB (65  $\mu\text{m}$ ) y PA (85  $\mu\text{m}$ ) al *headspace* del perfume, así como se describió en el Numeral 2.3.1, se muestran en la **Figura 21**. Se observa, que los

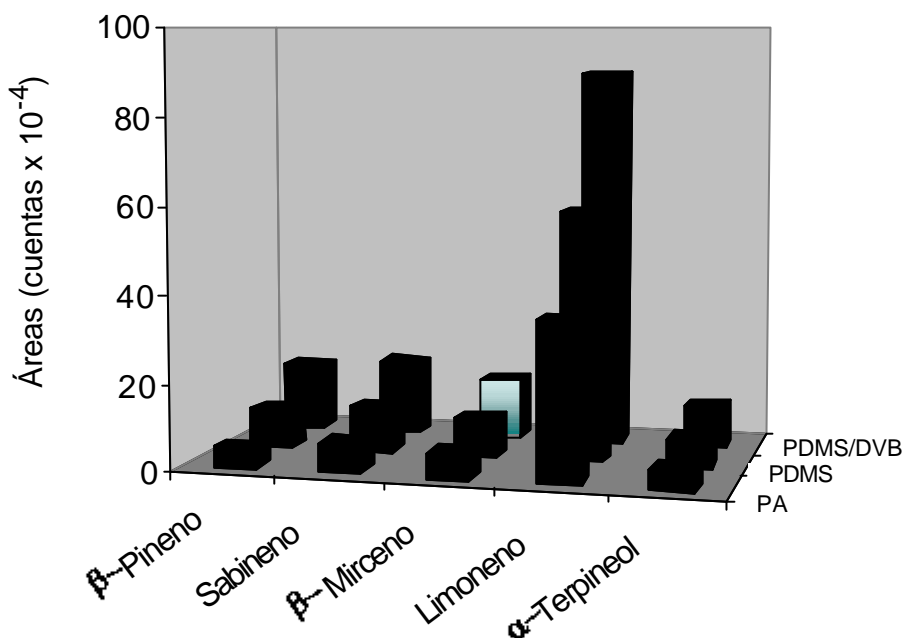
tres tipos de fibras empleadas extraen prácticamente el mismo número de compuestos, pero no en la misma cantidad. Las fibras con fases estacionarias apolares y medianamente polares, *i.e.* PDMS y PDMS/DVB, respectivamente, presentaron eficiencia de extracción más alta de los compuestos volátiles del perfume.

Las fibras de PDMS y PDMS/DVB exhibieron un comportamiento similar en la extracción de los compuestos del perfume. Sin embargo, las áreas de los picos cromatográficos de la mayoría de los compuestos fueron más grandes, cuando se empleó para la extracción la fibra de polaridad media, *i.e.* PDMS/DVB (ver **Anexos 5, 6 y 7**), indicando una mejor extracción por parte de esta fibra. Adicionalmente, se observó la extracción de un número de compuestos volátiles del perfume más alto, por parte de esta fibra.



**Figura 21.** Perfiles cromatográficos del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, obtenidos por SPME/HRGC/MSD, empleando diferentes fases estacionarias: A. PDMS/DVB ; B. PDMS y C. PA.

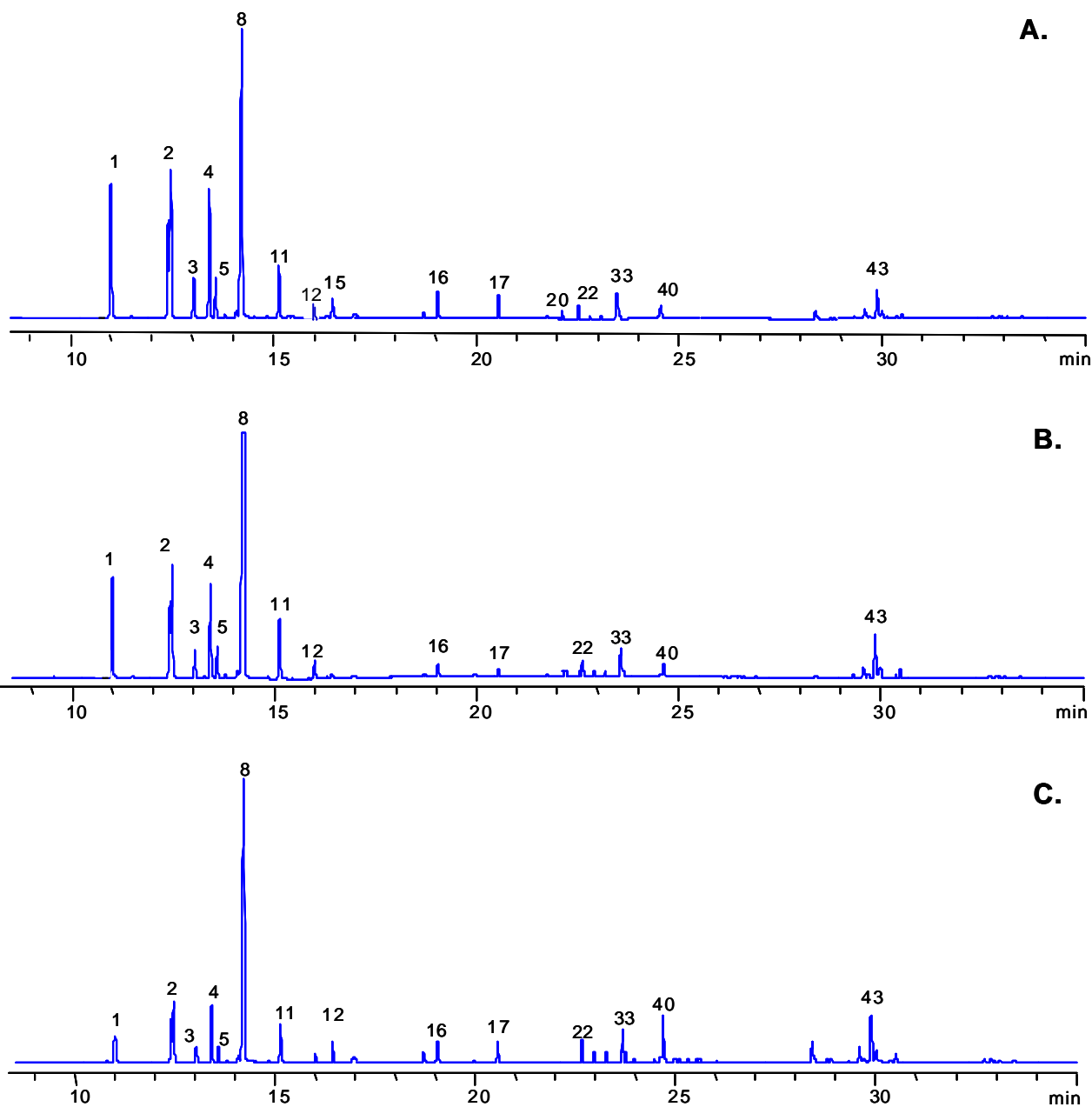
En la **Gráfica 3** se comparan las áreas cromatográficas de algunos compuestos del perfume, extraídos con las tres fibras de SPME, bajo las condiciones mencionadas en el Numeral 2.3.1; se observa, que la fibra de PDMS/DVB en todos los casos presentó la extracción más exhaustiva. Este comportamiento en el *headspace* del perfume es similar para la mayoría de sus componentes. Teniendo en cuenta, que el uso de esta fibra favoreció la extracción tanto de los compuestos, que se encuentran en el *headspace* en concentración más alta, así como en trazas, se supuso, que permitía una mejor caracterización de la fracción volátil del perfume, por lo tanto la fibra de PDMS/DVB se escogió para realizar este estudio.



**Gráfica 3.** Comparación de las áreas cromatográficas de algunos compuestos extraídos con las fibras de PDMS, PDMS/DVB y PA, obtenidos por GC-FID, después de su exposición al *headspace* del perfume “Tendre Kiss” durante 30 min.

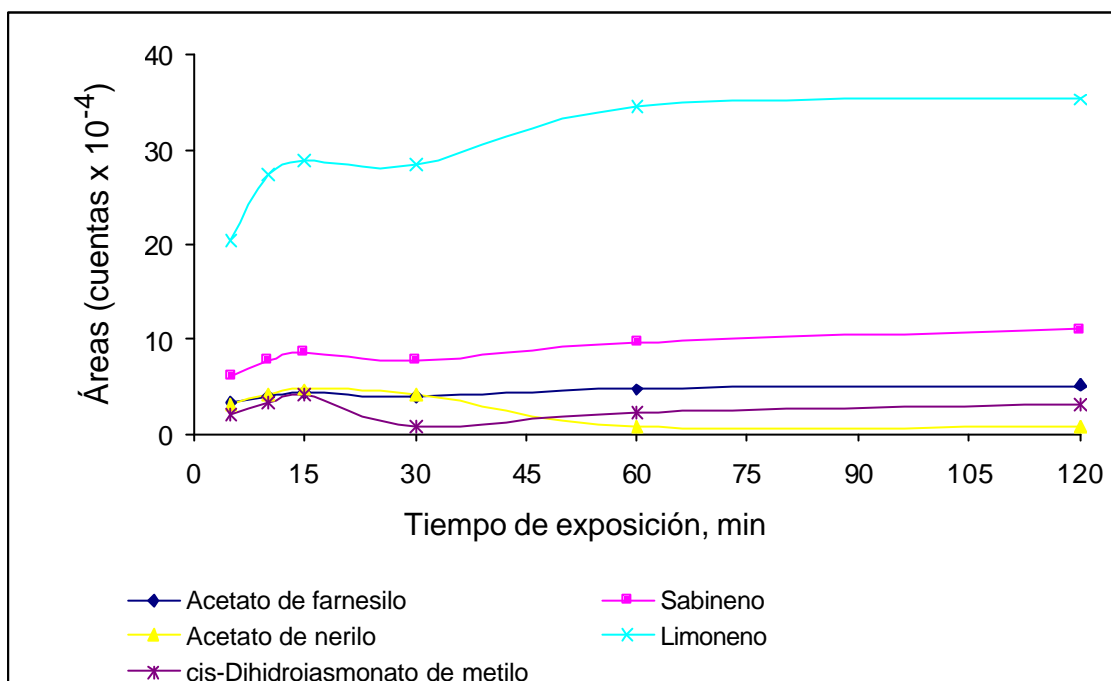
### 3.2.2 Selección del tiempo de exposición de la fibra PDMS/DVB

En la **Figura 22** se presentan bs cromatogramas obtenidos del *headspace* del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, por exposición de la fibra (PDMS/DVB) durante 15, 30 y 60 min.



**Figura 22.** Perfiles cromatográficos del perfume "Tendre Kiss" de Lalique, obtenidos por HS-SPME/HRGC/MSD, empleando diferentes tiempos de exposición: A. 15 min; B. 30 min; C. 60 min.

En la **Gráfica 4** se observa el comportamiento general de los compuestos del perfume, aislados por la fibra de PDMS/DVB, en función de su tiempo de exposición.



**Gráfica 4.** Comportamiento de algunos compuestos extraídos con la fibra de PDMS/DVB, en función del tiempo de su exposición a la fase vapor del perfume “Tendre Kiss” de Lalique .

Se puede observar en la **Figura 22** y en la **Gráfica 4**, que la cantidad de los compuestos extraídos aumenta en forma directa con el tiempo de exposición de la fibra, con excepción de una ligera inflexión que se presenta alrededor de 30 min para algunos componentes, debido posiblemente a la competencia que existe entre ellos por los sitios activos del recubrimiento de la fibra, de acuerdo con su grado de afinidad.

A determinada temperatura, cada uno de los compuestos de una mezcla alcanza el equilibrio a un tiempo diferente, característico del compuesto; por esta razón, no se busca un tiempo de exposición, que permita alcanzar el equilibrio para cada sustancia, sino un tiempo, al cual se logre la extracción de todos los compuestos en la mayor cantidad posible; además, que el tiempo de monitoreo sea razonable para llevar a cabo el análisis en el tiempo más corto posible. Por lo tanto, aunque tiempos de exposición de 120 min y superiores permiten aumentar la cantidad de compuestos aislados, sin alcanzar aún la saturación de la fibra, los tiempos de exposición prolongados no favorecen la extracción de todos los compuestos, debido a su competencia por la fase estacionaria y el desplazamiento de algunos de éstos, se determinó como el mejor tiempo, 15 min, para la exposición de la fibra.

### **3.2.3 Reproducibilidad de los $t_R$ , $t_{RR}$ y áreas cromatográficas relativas de los compuestos del perfume “Tendre Kiss” de Laliq, extraídos por HS-SPME.**

La exposición durante 15 min de la fibra de PDMS/DVB a 100  $\mu$ L de perfume, que contenía 1  $\mu$ L de *n*-tetradecano como patrón interno, se realizó por quintuplicado. Se determinó la reproducibilidad de los tiempos de retención, tiempos de retención relativos y las áreas cromatográficas relativas de los componentes del perfume; el análisis se llevó a cabo por cromatografía de gases con detector de ionización en llama (GC-FID) y los resultados obtenidos se reportan en el **Anexo 10**. Los análisis se realizaron en días diferentes para evaluar la reproducibilidad de los tiempos de retención y las cantidades relativas de los componentes, así como se hace el estudio con un intervalo de tiempo considerable entre cada análisis.

Se observa, que los coeficientes de variación (CV, %) se encuentran entre 0 y 1,21%, reflejando una buena reproducibilidad de los tiempos de retención y tiempos de retención relativos de los compuestos del perfume, extraídos por HS-SPME. Lo anterior permite asegurar, que la variación en los tiempos de retención es poco significativa, es decir, aunque los análisis se realicen con varios días de

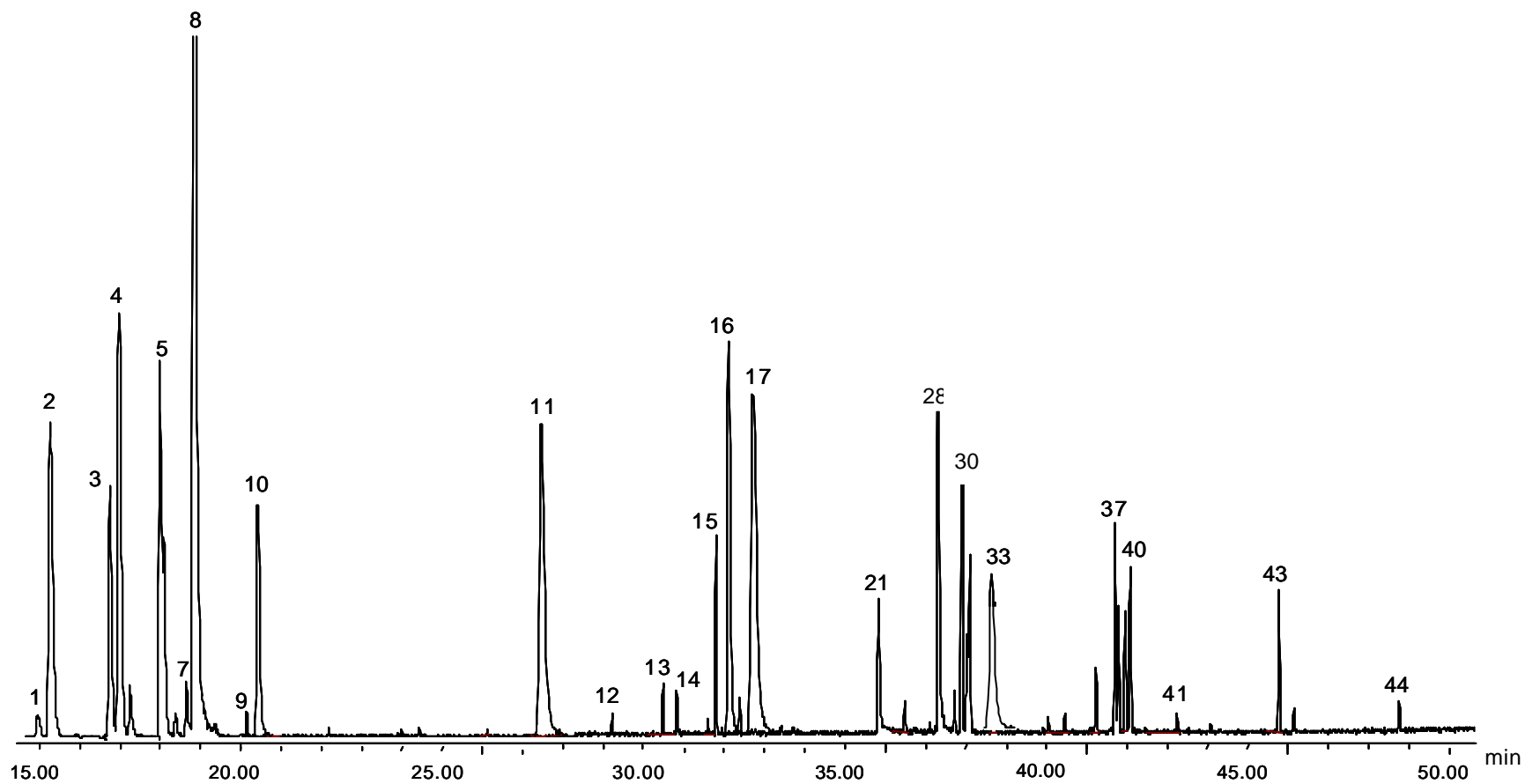
diferencia entre sí, los tiempos de retención característicos de cada compuesto cambian en un rango muy pequeño, lo que permite realizar una identificación confiable. Con base en lo anterior, y teniendo en cuenta el costo del análisis y el hecho, que este estudio no es con el propósito de cuantificación exacta (absoluta), la caracterización de las notas y el monitoreo de la fracción volátil del perfume, aplicado sobre la piel, no se realizó por triplicado. El tiempo de vida útil de la fibra de PDMS/DVB es de 100 inyecciones en promedio, lo que permite la realización de este monitoreo máximo por duplicado, llevándose a cabo 114 inyecciones, aproximadamente, sin tener en cuenta los análisis previos para estandarizar la técnica; además, el método es relativamente costoso, por la instrumentación, implementos y accesorios involucrados.

Aunque el objetivo del estudio no fue llevar a cabo la cuantificación absoluta de los componentes presentes en el *headspace* del perfume “Tendre Kiss”, en el **Anexo 11**, se observa, que los coeficientes de variación de las cantidades relativas se encontraron en un rango de 1,8 - 14,5%, valores considerados por las Buenas Prácticas de Laboratorio como aceptables.

#### **3.2.4 Identificación de los compuestos volátiles del perfume**

En la **Figura 23** se muestra el cromatograma de la fracción volátil del perfume, asilada por HS-SPME, usando la fibra de PDMS/DVB, con tiempo de exposición de 15 min a 37 °C.

En el *headspace* del perfume “Tendre Kiss” se identificaron 41 compuestos, sus cantidades relativas promedio fueron calculadas, usando las condiciones operacionales descritas en el Numeral 2.3.3 (véase **Tabla 5**). La fracción volátil del perfume está constituida por compuestos pertenecientes a las familias de los hidrocarburos (46,2 %), ésteres (33,3 %), alcoholes (12,8 %), éteres, cetonas y aldehídos, los últimos, en una distribución similar (2,6 %). La familia de los hidrocarburos está constituida en un 55,6 % por monoterpenos, 38,9% por sesquiterpenos y 5,6 % por compuestos aromáticos.



**Figura 23.** Perfil cromatográfico del *headspace* del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, obtenido por HS-SPME-GC/MSD, empleando la fibra de PDMS/DVB. Tiempo de exposición 15 min, temperatura 37°C La identificación de los componentes aparece en la **Tabla 5**.

**Tabla 5.** Cantidades relativas promedio (%) de los compuestos volátiles del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, obtenidos por HS-SPME/GC/FID.

1	$\alpha$ -Pinoeno	0,8	23	$\alpha$ -Humuleno**	1,0
2	Sabineno	4,8	24	$\beta$ -Santaleno	0,3
3	$\beta$ -Pinoeno	3,4	25	Farneseno**	1,8
4	$\beta$ -Mirceno**	3,0	26	$\delta$ -Amorfeno**	0,8
5	$\alpha$ -Felandreno	1,7	27	N.I.	0,8
6	$\alpha$ -Terpineno	0,2	28	$\delta$ -Cadineno	2,5
7	<i>p</i> -Cimeno**	1,0	29	Ftalato de dietilo	1,1
8	Limoneno	24,0	30	9-Dodeciltetradecahidro-antraceno	1,1
9	$\gamma$ -Terpineno	0,3	31	<i>cis</i> -Dihidrojasmonato de metilo	0,9
10	$\alpha$ -Terpinoleno**	2,3	32	$\alpha$ -Santalol	0,8
11	$\alpha$ -Terpineol*	4,0	33	<i>trans</i> -Dihidrojasmonato de metilo	1,7
12	Linalool	1,9	34	$\beta$ -Metilionona	1,2
13	$\beta$ -Terpineol	3,3	35	Salicilato de 2-etilhexilo	1,1
14	$\delta$ -Elemeno**	2,2	36	Pentadecenal**	0,8
15	Nerol	3,9	37	Miristato de isopropilo	1,4
16	Acetato de linalilo	5,2	38	Acetato de (E)-4-tetradecenilo	2,0
17	Acetato de nerilo**	5,2	39	Acetato de farnesilo**	0,7
18	N.I.	2,2	40	Galaxolida	1,0
19	$\alpha$ -Copaeno*	1,9	41	Ciclododecanolida**	0,8
20	Acetato de geranilo**	1,7	42	N.I.	0,8
21	<i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno	1,9	43	Brasilato de etileno	1,2
22	$\alpha$ -Santaleno*	1,1	44	4-Metoxicinnamato de 2-etilhexilo	0,8

\* Compuestos encontrados a nivel de trazas por inyección directa del perfume.

\*\* Compuestos no detectados por inyección directa del perfume.

Los compuestos mayoritarios (>4 %), identificados en el *headspace*, fueron el limoneno (24,0 %), acetato de nerilo (5,2 %), acetato de linalilo (5,2 %), sabineno (4,8 %) y el  $\alpha$ -terpineol (4,0 %).

De los compuestos extraídos por HS-SPME, el 36,4 % no se detectaron por la inyección directa del perfume al GC-MSD. Éstos representan el 24,5 % de la cantidad relativa de los componentes en el *headspace*. Lo anterior pone de manifiesto la ventaja de HS-SPME, como técnica que involucra la concentración de componentes a nivel de trazas. Cabe resaltar, que los compuestos mayoritarios del perfume (inyección directa) y los presentes en su *headspace*, no son los mismos. Por ejemplo, el limoneno, compuesto mayoritario en el HS, se encontró en una proporción 30 veces mayor que en el perfume inyectado directamente y, por otro lado, para el *cis*-dihidrojasmonato de metilo, compuesto mayoritario en el perfume, su cantidad relativa en el *headspace* disminuyó más de 20 veces.

Se observó que el  $\alpha$ -terpineol, el acetato de linalilo, el  $\beta$ -pineno, entre otros compuestos, que se encuentran en pequeñas concentraciones en el perfume inyectado directamente, tienen porcentajes relativamente altos en el *headspace*, al igual que otros compuestos como el acetato de nerilo y el  $\beta$ -mirceno, que no se detectaron por la inyección directa, se lograron detectar e identificar al realizar la extracción por HS-SPME.

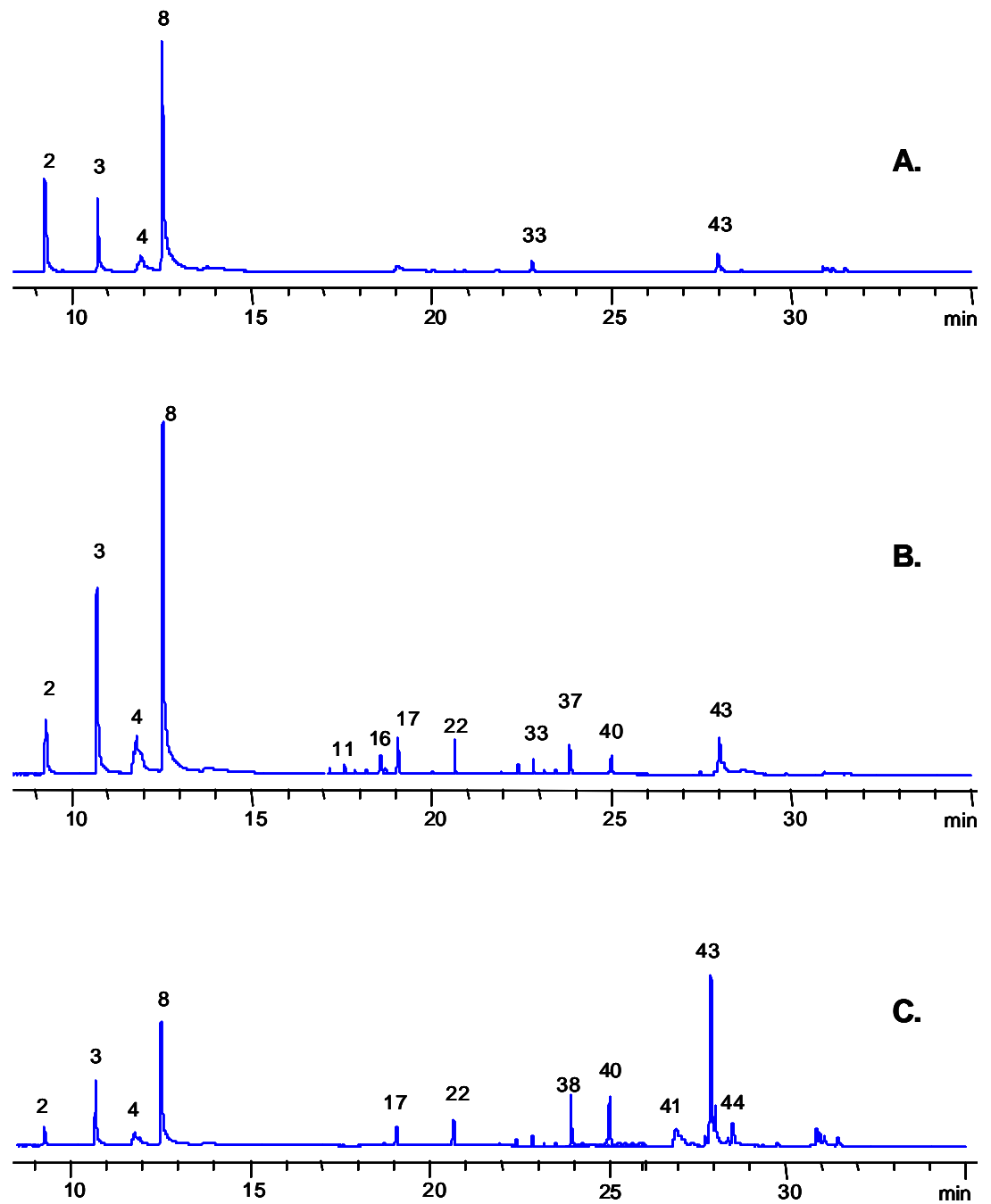
### 3.2.5 Identificación de las notas del perfume

En la **Figura 24** se presentan algunos cromatogramas obtenidos para la caracterización de las notas del perfume "Tendre Kiss" de Lalique, por HS-SPME, a diferentes tiempos de exposición de la fibra. En la **Tabla 6**, se registran los componentes identificados de cada una de las notas. El cromatograma **A** corresponde a los compuestos extraídos a los 3 min de evaporación; éstos se relacionan con las notas de salida del perfume; se observa que la mayoría de los compuestos extraídos eluyen de la columna cromatográfica entre 10 y 14 min.

Entre los componentes mayoritarios se encontraron el limoneno, el sabineno, el  $\beta$ -pineno y el  $\beta$ -mirceno. Para el tiempo de evaporación de 30 min, se obtuvo el cromatograma **B**, en el que se aprecia el incremento en las áreas de los picos cromatográficos, eluidos en el intervalo de 15 a 29 min, que corresponden a los compuestos que hacen parte de las notas medias. Los componentes mayoritarios son acetatos de linalilo y nerilo y  $\alpha$ -terpineol. Los compuestos de las notas de fondo eluyen en el rango de 29 a 34 min, como se observa en el cromatograma **C**; en mayor proporción se encontraron el acetato de (E)-4-tetradecenilo, el brasilato de etileno, el salicilato de 2-etilhexilo y la galaxolida. En el **Anexo 12** se reportan las áreas y áreas promedio, en función del tiempo de evaporación del perfume, obtenidas para cada uno de los componentes de las notas del perfume "Tendre Kiss" de Lalique.

Se puede resaltar, que en general, los compuestos eluyen de la columna cromatográfica en orden ascendente de sus temperaturas de ebullición. Las notas de salida están conformadas por compuestos con presión de vapor más alta, que la de las notas medias y éstas, a su vez, la presión de vapor más alta, que la de las notas de fondo; esto se refleja también en el orden de elución de diferentes grupos de compuestos. Cada grupo de componentes, que constituyen las diferentes notas, presenta un comportamiento característico, cuando se relaciona el área del pico cromatográfico con el tiempo de evaporación del perfume. Dicho comportamiento permite relacionar la asignación de cada componente a una nota determinada.

Las gráficas correspondientes al comportamiento de los compuestos de las notas medias presentan un incremento exponencial de las áreas cromatográficas con el tiempo (**Anexo 14**). Los compuestos de estas notas se encuentran en el *headspace* desde los primeros minutos, luego, se presenta un continuo aumento (relativo) en su cantidad relativa, a medida que transcurre la evaporación del perfume.



**Figura 24.** Perfiles cromatográficos, obtenidos por HS -SPME-GC/FID, para la caracterización de las notas del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, empleando diferentes tiempos de evaporación: A. 3 min; B. 30 min y C. 120 min.

En el **Anexo 15** se muestran las gráficas correspondientes a los compuestos de las notas de fondo. Estos compuestos se logran detectar varias horas después de evaporación del perfume y corresponden a los llamados fijadores y otros compuestos con presión de vapor baja.

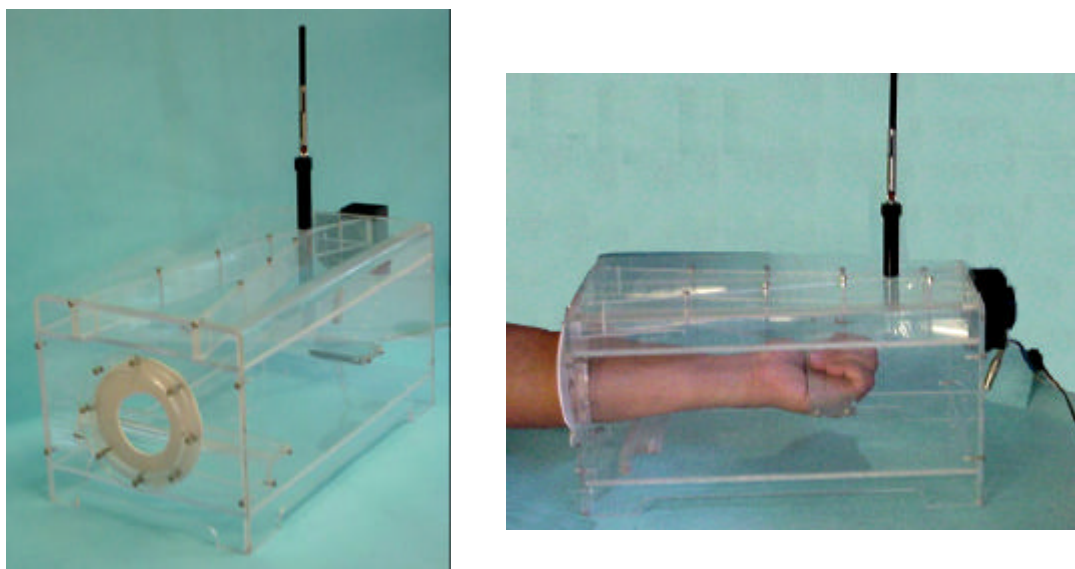
**Tabla 6** Componentes principales de las notas del perfume “Tendre Kiss” de Lalique.

Notas de salida	$\alpha$ -Pineno Sabineno $\beta$ -Pineno $\beta$ -Mirceno $\alpha$ -Felandreno $\alpha$ -Terpineno <i>p</i> -Cimeno Limoneno
Notas medias	$\alpha$ -Terpineol Linalool Acetato de linalilo Acetato de nerilo <i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno <i>cis</i> -Dihidrojasmonato de metilo <i>trans</i> -Dihidrojasmonato de metilo $\beta$ -Metilionona
Notas de fondo	$\alpha$ -Santalol Salicilato de 2-etilhexilo Pentadecenal Miristato de isopropilo Acetato de (E)-4-tetradecenilo Acetato de farnesilo Galaxolida Ciclododecanolida Brasilato de etileno

### 3.3 EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DE LOS PERFUMES APLICADOS SOBRE LA PIEL

#### 3.3.1 Diseño, construcción y evaluación de las condiciones de operación del equipo para monitorear volátiles de la piel.

Se construyeron y evaluaron dos tipos de dispositivos para la realización de este estudio. El primero es una caja, fabricada de material acrílico, con un dispositivo especial que permite la circulación de aire del ambiente a través del equipo (ver **Figura 25**). Una vez el brazo se introduce dentro del equipo, se aplica el perfume sobre el antebrazo; un ventilador hace circular el aire en el equipo. El aire en movimiento se hace pasar sobre la piel, donde se aplicó el perfume, arrastrando los compuestos volátiles y dirigiéndolos a la fibra de SPME ubicada perpendicularmente, encima del sitio de aplicación del perfume, para extraer y concentrar las sustancias emanadas.



**Figura 25.** Dispositivo con sistema de flujo de aire, empleado para el estudio del comportamiento del perfume, aplicado sobre la piel del antebrazo.

Debido al volumen relativamente grande de la caja y a la absorción de los componentes del perfume por parte de la piel, las cantidades extraídas resultaron ser muy pequeñas, aún para tiempos de evaporación muy cortos, siendo prácticamente nulos (por debajo del nivel mínimo de detección del sistema analítico) para tiempos de evaporación de dos horas. Se evaluaron también los voltajes aplicados al ventilador y se observó que eran más favorables para la extracción los voltajes bajos que, a su vez, permitían el menor flujo de aire a través de la caja.

Lo anterior condujo a la elaboración del diseño de un segundo equipo, que consistió en un cilindro sin circulación de aire (ver **Figura 26**). El perfume se aplica sobre la parte interna del antebrazo, antes de introducir este último en el dispositivo. El perfume se deja evaporar el tiempo estipulado para cada estudio, a una temperatura de  $23\pm 1$  °C y, posteriormente, se introduce el antebrazo en el equipo para realizar la extracción y concentración de los compuestos volátiles presentes en el *headspace* por medio de la fibra de SPME.



**Figura 26.** Dispositivo sin corriente de aire, empleado para el estudio del comportamiento del perfume, aplicado sobre la piel del antebrazo.

Después de evaluar el perfume, aplicado sobre el antebrazo, a diferentes tiempos de su evaporación, se escogió este último dispositivo porque las cantidades extraídas y los cromatogramas obtenidos eran satisfactorios para la identificación de los compuestos y su análisis semi-cuantitativo.

Se verificó el funcionamiento del equipo, realizando inicialmente el monitoreo en función del tiempo (0, 30, 60, 90 y 120 min), de los compuestos volátiles del perfume, aplicado sobre una lámina de vidrio. Las áreas cromatográficas promedio de los volátiles obtenidas se reportan en el **Anexo 16** y fueron empleadas para comparar con las obtenidas durante el proceso de evaporación del perfume, aplicado sobre la piel de las voluntarias.

### **3.3.2 Estudio del comportamiento de los compuestos volátiles del perfume aplicado sobre la piel.**

Con base en la encuesta realizada (**Anexo 1**), la piel de cada una de las voluntarias fue clasificada según su tipo, así como aparece en la **Tabla 7**.

**Tabla 7.** Clasificación del color de piel de las voluntarias.

N ° Voluntaria	Tipo de piel	Color	Voluntaria
1	I-III	Blanco	B1
2	I-III	Blanco	B2
3	IV	Moreno claro	T1
4	IV	Moreno claro	T2
5	V	Moreno	M1
6	V	Moreno	M2

Para el estudio del comportamiento de la fracción volátil del perfume, aplicado sobre la piel de los tres tipos, mencionados en la **Tabla 7**, se escogieron 12 compuestos, de los cuales 10 son característicos del aroma del perfume y 2 corresponden a aditivos de éste, a saber: limoneno,  $\alpha$ -terpinoleno,  $\alpha$ -terpineol, nerol, acetato de linalilo, acetato de nerilo, ftalato de dietilo, *cis*-dihidrojasmonato de metilo,  $\alpha$ -santalol, *trans*-dihidrojasmonato de metilo,  $\beta$ -metilionona y salicilato de 2-etilhexil. El criterio usado para la selección de estos compuestos fue su permanencia continua en el *headspace* del perfume, aplicado sobre la piel, a diferencia de los demás compuestos, que no se encontraban en una concentración suficiente para su detección, para los tiempos de evaporación estudiados. Los compuestos seleccionados se encontraron en cantidades relativas altas, lo que facilitó su monitoreo, en especial, para los tiempos de evaporación prolongados. Cabe resaltar, que no se detectaron en ningún caso compuestos volátiles típicos de la piel o de productos nuevos, correspondientes a la interacción de la piel con el perfume; por esta razón, los compuestos monitoreados sólo pertenecían a los componentes del perfume.

### **3.3.2.1 Comportamiento de la fracción volátil del perfume aplicado sobre la piel blanca**

En la **Gráfica 5**, se muestra la comparación del comportamiento durante la evaporación de cada uno de los compuestos del perfume, aplicado sobre la piel blanca y también sobre la lámina de vidrio. Las gráficas se construyeron, usando los valores promedio de las áreas cromatográficas, reportadas en los **Anexos 16, 17 y 18**.

Se observó el comportamiento similar para el limoneno,  $\alpha$ -terpinoleno,  $\alpha$ -terpineol, nerol, acetato de linalilo y acetato de nerilo, que fue característico para cada una de las voluntarias de piel blanca. Para B1 se observa un descenso marcado en la cantidad relativa de estos componentes, a los primeros 30 min, tiempo después

del cual se presentan variaciones en la concentración. Por otro lado, para la voluntaria B2, se observa una disminución progresiva después de 30 min de la concentración relativa de este grupo compuestos en el *headspace*.

Para B1, B2 y LV, el comportamiento de los compuestos estudiados (áreas cromatográficas) se asemeja en el decrecimiento de las áreas de los picos cromatográficos (es decir, la concentración relativa) a medida que aumenta el tiempo de evaporación. En las gráficas del  $\alpha$ -terpineol, nerol, acetato de linalilo y acetato de nerilo, se observa, que B2 y LV presentan un comportamiento similar. Suponiendo que la lámina de vidrio (LV) es una superficie relativamente inerte, se presume que ésta presenta una baja interacción con los componentes del perfume, lo anterior, permite considerar que la piel de la voluntaria B2 tiene una menor influencia en el proceso de evaporación de estos componentes del perfume, con relación a la piel de la voluntaria B1.

Se observa para el limoneno, que se encuentra en concentración relativa más alta en el *headspace* del perfume, aplicado sobre la lámina de vidrio, en comparación con la concentración relativa en el *headspace* del perfume, aplicado sobre la piel de las voluntarias blancas. Esta diferencia puede ser atribuida a la interacción entre el limoneno y la piel. Se observa un comportamiento similar en la evaporación del limoneno sobre LV y B1, lo que permite suponer que la piel de la voluntaria B1 interacciona en menor grado con este compuesto.

Para el ftalato de dietilo y el *cis*-dihidrojasmonato de metilo, se observa el incremento de su concentración relativa, en el *headspace* sobre el antebrazo de la voluntaria B1. Se observó que la concentración del  $\alpha$ -santalol permaneció constante durante los primeros 30 min, luego decreció rápidamente, sin detección en las posteriores evaporaciones.

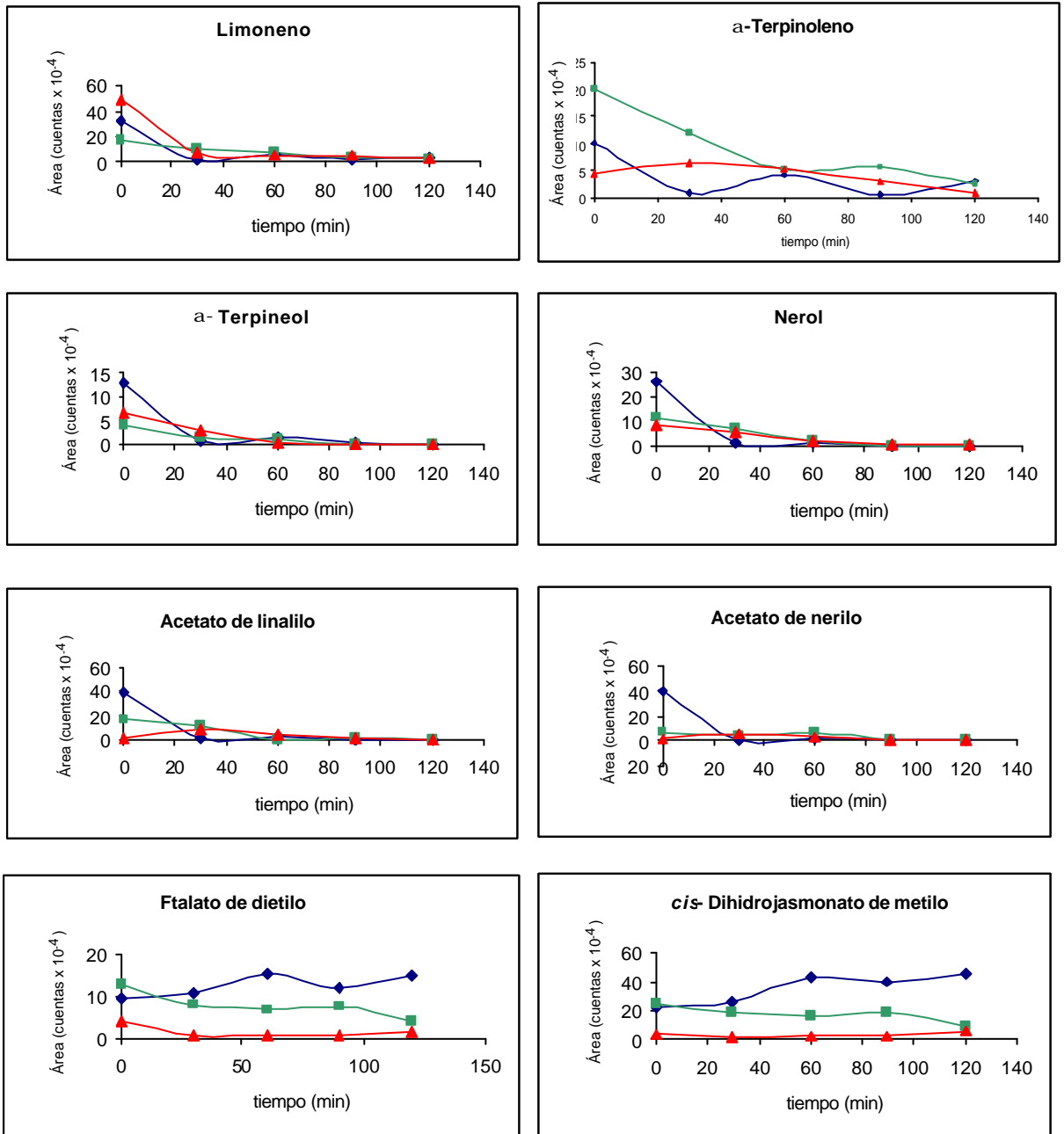
El comportamiento del *trans*-dihidrojasmonato de metilo y la  $\beta$ -metilionona para B1, presentado en la **Gráfica 5**, fue similar. Se observó un descenso progresivo en su cantidad relativa después de 30 min.

En la **Gráfica 5**, se observó para B2 que el comportamiento de estos últimos cinco compuestos es similar, pero difiere del comportamiento descrito para B1 y LV. En general, B1 presentó mayores cantidades relativas extraídas, que B2 y LV las menores. El comportamiento del perfume aplicado sobre la piel de B2, se asemeja más al observado para el perfume aplicado sobre LV, lo que permite suponer que la influencia de la piel de esta voluntaria no fue significativa en el perfil de evaporación o se presentó una menor interacción de la piel de B2 con este grupo de compuestos, en comparación con la de la piel B1. Sin embargo, existe una gran diferencia en las áreas cromatográficas debido posiblemente a la temperatura a la cual se llevó a cabo la evaporación (temperatura corporal 37°C, lámina de vidrio 25°C), puesto que un aumento en la temperatura favorece el paso de los compuestos al *headspace*.

Se observa, para B1 y B2 un aumento progresivo en la concentración del salicilato de 2-etilhexilo en el *headspace*; B2 presentó un decrecimiento en las áreas cromatográficas después de 90 min. Con respecto a LV, no se observaron similitudes en las gráficas.

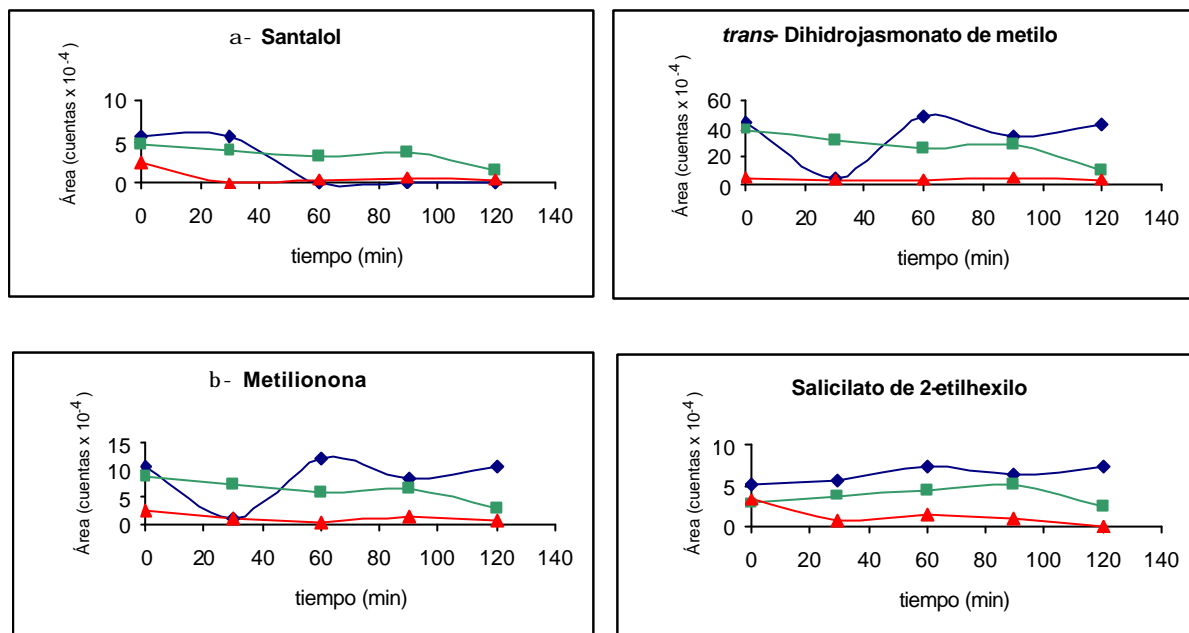
Para las voluntarias de piel blanca (tipo I-III), el perfil de evaporación de los 12 compuestos estudiados (Numeral 3.3.2), no mostró alguna relación entre sí, que permita establecer un comportamiento característico de estos compuestos fragantes al ser aplicados sobre este tipo de piel.

**Gráfica 5.** Comportamiento de las áreas cromatográficas de algunos compuestos, en función del tiempo de la evaporación del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, aplicado sobre la piel blanca.



- ◆— B1: Voluntaria blanca 1.
- B2: Voluntaria blanca 2.
- ▲— LV: Lámina de vidrio

Continuación **Gráfica 5.**



- ◆ B1: Voluntaria blanca 1.
- B2: Voluntaria blanca 2.
- ▲ LV: Lámina de vidrio

**3.3.2.2 Comportamiento de la fracción volátil del perfume aplicado sobre la piel morena clara (trigueña)**

La comparación del comportamiento de cada uno de los 12 compuestos (Numeral 3.3.2) durante la evaporación del perfume aplicado sobre el antebrazo de las voluntarias de piel morena clara (T1 y T2) y la lámina de vidrio (LV) se presenta en la **Gráfica 6**. Las gráficas se construyeron con los valores promedio reportados en los **Anexos 16, 19 y 20**.

El limoneno, el  $\alpha$ -terpinoleno, el  $\alpha$ -terpineol, el nerol, el acetato de linalilo y el acetato de nerilo presentaron un comportamiento similar, como se observa en las gráficas, obtenidas para T1 y T2, pero las áreas de los picos cromatográficos de

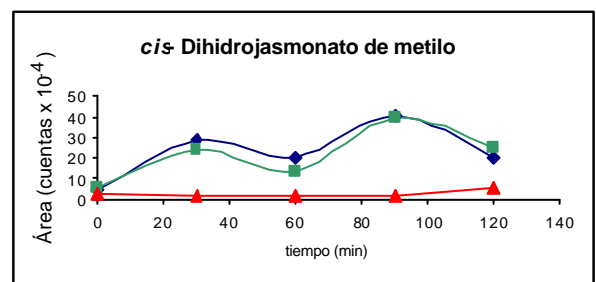
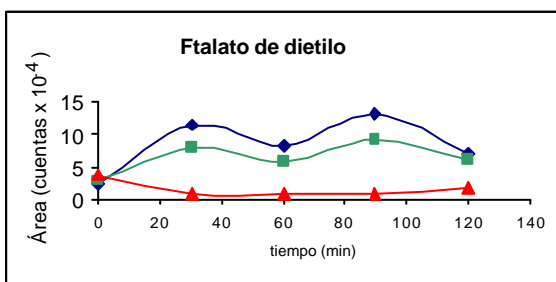
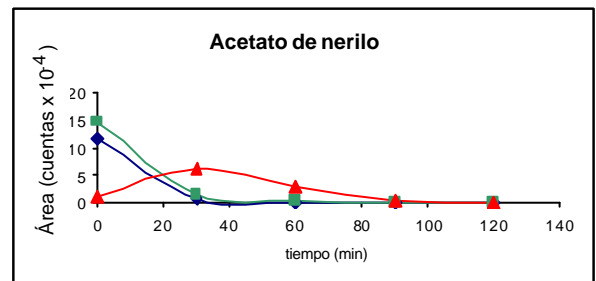
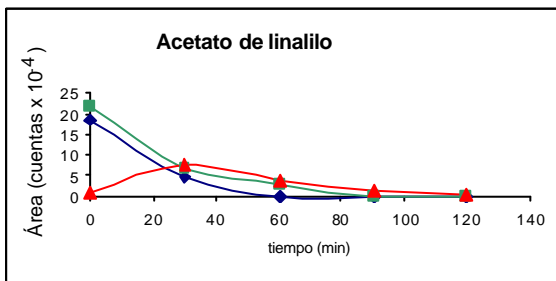
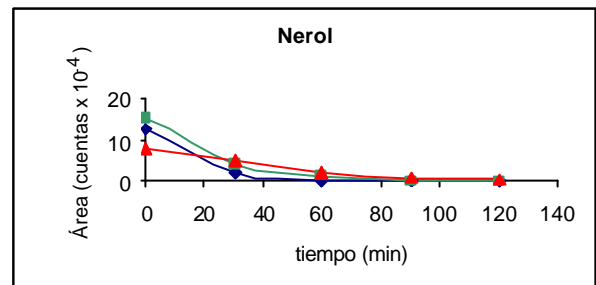
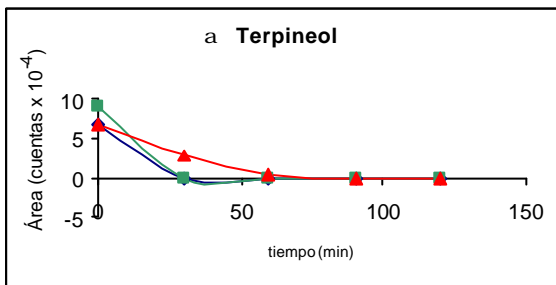
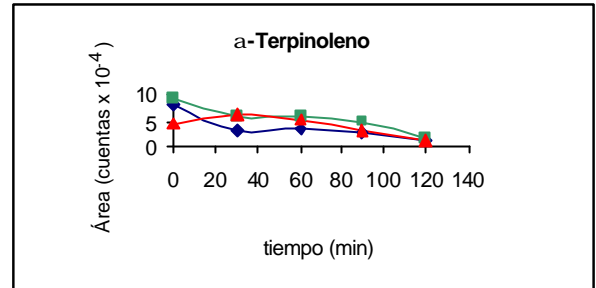
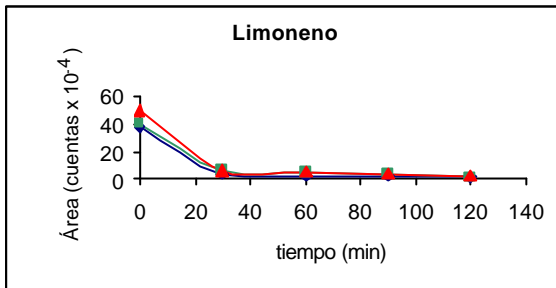
T2 fueron mayores que los de T1. Se observó en T1 y T2 un descenso rápido en la concentración relativa de estos componentes en los primeros 30 min, tiempo después del cual, la concentración disminuyó lentamente. Con respecto a la lámina de vidrio, sólo el limoneno presenta un comportamiento similar, al de la piel T1 y T2. Después de 30 min, la concentración de los demás compuestos tiende a decrecer y se asemeja al comportamiento de éstos en el *headspace* del perfume aplicado sobre LV. La concentración relativa de estos compuestos en el *headspace* es generalmente mayor en el ensayo realizado con la lámina de vidrio en comparación con el de la piel de las voluntarias trigueñas.

Lo anterior permite suponer que estos componentes se evaporaron en su mayoría durante los primeros 30 min después de ser aplicados sobre la piel, por lo tanto, su concentración relativa en la fracción volátil es baja para tiempos de evaporación mayores o que estos compuestos fueron absorbidos a medida que se aumentó el tiempo de contacto con la piel. El limoneno, por su parte, se presume, que fue el compuesto que menos interactuó con la piel de las voluntarias trigueñas.

Se observa para el ftalato de dietilo, el *cis*-dihidrojasmonato de metilo, el *trans*-dihidrojasmonato de metilo, la  $\beta$ -metilionona y el salicilato de 2-etilhexilo un comportamiento análogo para T1 y T2, presentando las concentraciones mínimas a 0, 60 y 120 min y las máximas a 30 y 90 min. No se presentó concordancia entre las gráficas de T1 y T2 para estos compuestos y las de LV, por consiguiente, se deduce que el perfil de evaporación de estos compuestos se vio afectado por la interacción con la piel de las voluntarias, pero en diferente grado para cada una.

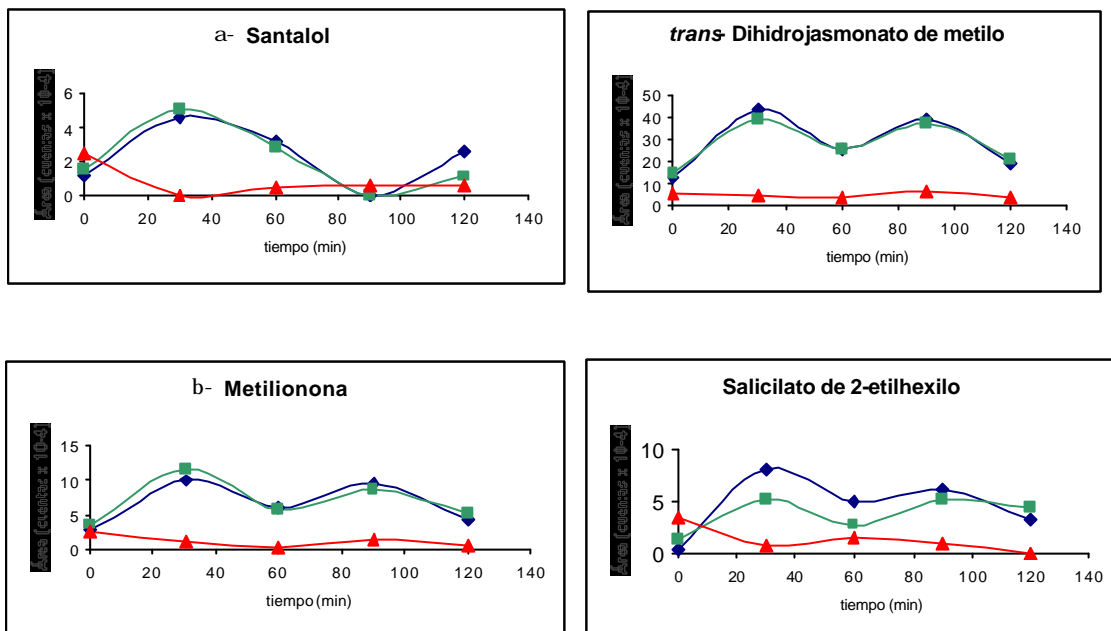
El  $\alpha$ -santalol presentó un comportamiento similar al de los compuestos anteriores, pero las concentraciones relativas mínimas se encontraron a 0 y 120 min, por lo tanto, se supone que el proceso de evaporación fue más lento.

**Gráfica 6.** Comportamiento de las áreas cromatográficas de algunos compuestos en función del tiempo de la evaporación del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, aplicado sobre la piel trigueña.



- ◆ T1: Voluntaria trigueña 1.
- T2: Voluntaria trigueña 2.
- ▲ LV: Lámina de vidrio

### Continuación **Gráfica 6.**



- ◆ T1: Voluntaria trigueña 1.
- T2: Voluntaria trigueña 2.
- ▲ LV: Lámina de vidrio

El comportamiento de los 12 compuestos estudiados (Numeral 3.3.2) fue similar al de las dos voluntarias de piel morena clara (tipo IV), por lo tanto, se observó una relación entre el color de la piel y el perfil de evaporación del perfume. Con base en el parámetro estudiado, se pudo deducir, que el factor influyente sobre el proceso de evaporación fue el color de la piel.

#### 3.3.2.3 Comportamiento de la fracción volátil del perfume aplicado sobre la piel morena

En la **Gráfica 7** se presenta la comparación del comportamiento de cada uno de los 12 compuestos monitoreados (Numeral 3.3.2) durante la evaporación del

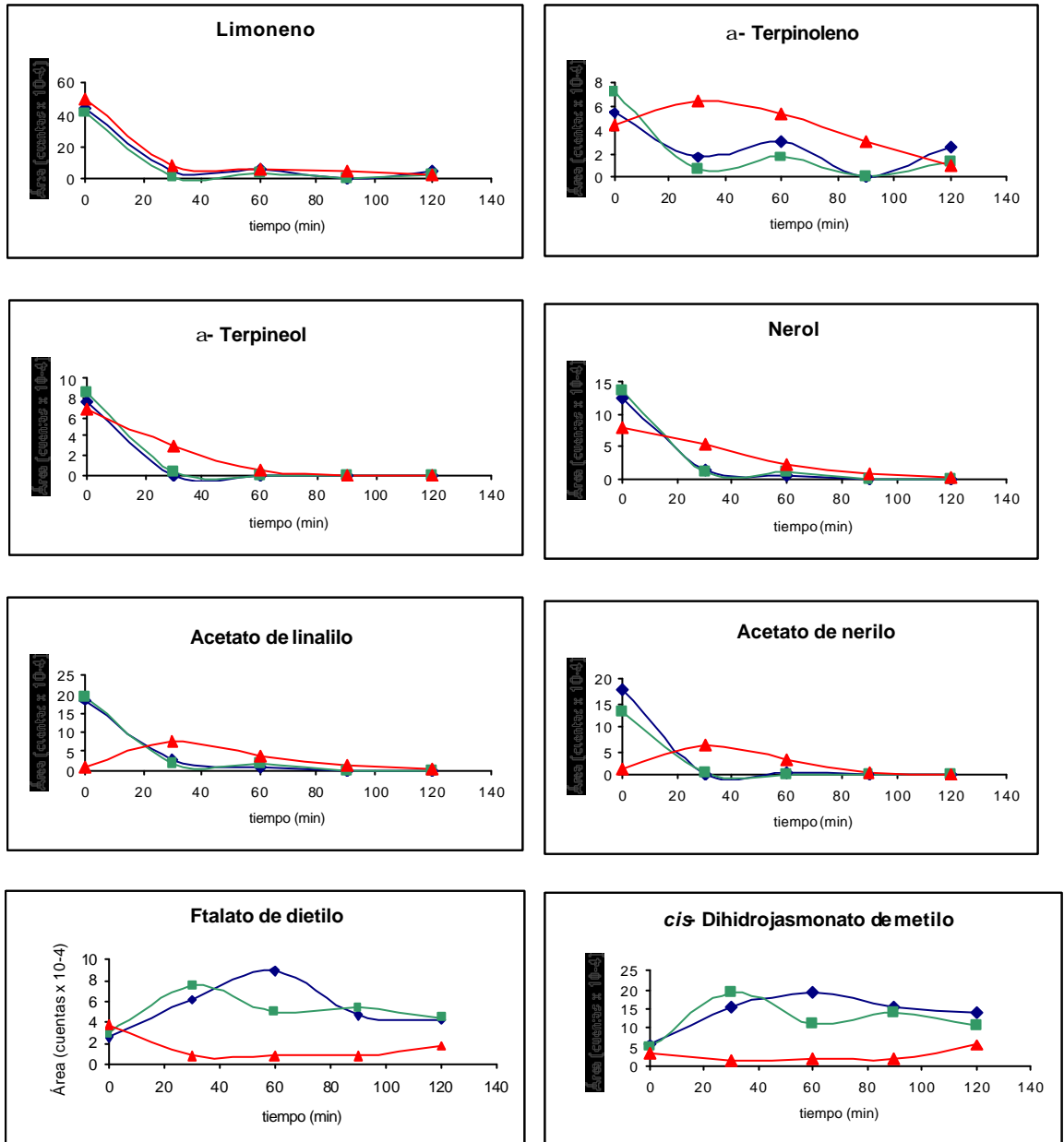
perfume aplicado sobre el antebrazo de las voluntarias de piel morena y sobre la lámina de vidrio. Las gráficas se construyeron con los valores promedio reportados en los **Anexos 16, 21 y 22**.

Se observó, que el limoneno, el  $\alpha$ -terpinoleno, el  $\alpha$ -terpineol, el nerol, el acetato de linalilo y el acetato de nerilo presentaron un comportamiento similar, como se puede observar en las **Gráficas 6 y 7**, obtenidas para las voluntarias de piel morena clara y de piel morena; cabe resaltar, que el  $\alpha$ -terpinoleno presentó cambios más drásticos en la concentración relativa durante su evaporación.

Para el ftalato de dietilo, el *cis*-dihidrojasmonato de metilo, el *trans*-dihidrojasmonato de metilo, la  $\beta$ -metilionona y el salicilato de 2-etilhexilo se observó un comportamiento similar para M1, su concentración relativa creció hasta 60 min, posteriormente disminuyó ligeramente y se mantuvo casi invariable después de 90 min. El  $\alpha$ -santalol describe un comportamiento similar, pero el punto máximo lo alcanza en el ensayo a 90 min de evaporación.

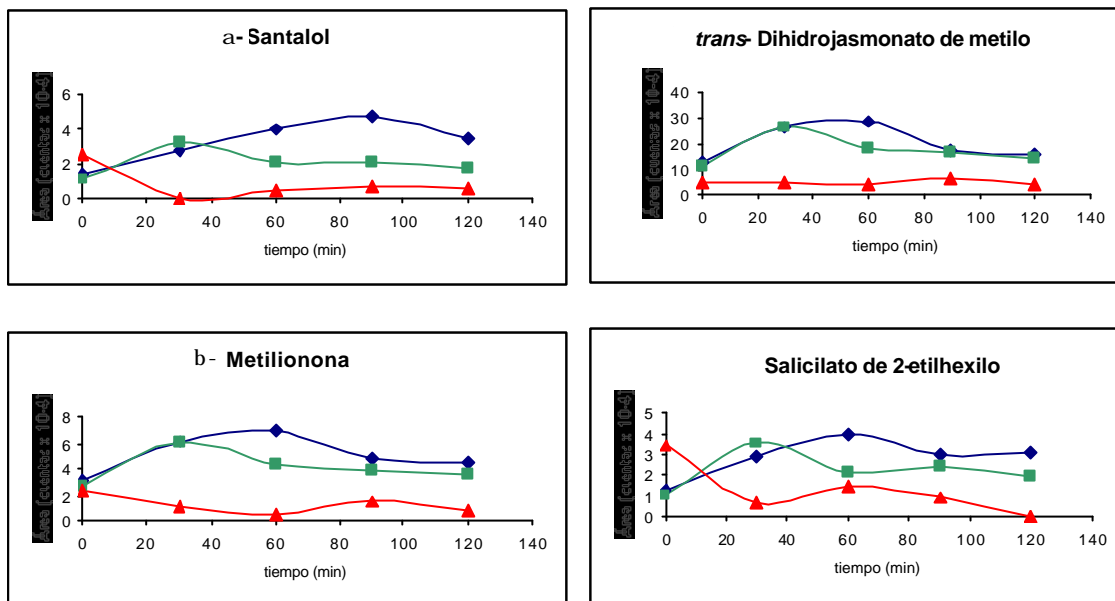
El ftalato de dietilo, el *cis*-dihidrojasmonato de metilo, el  $\alpha$ -santalol, el *trans*-dihidrojasmonato de metilo, la  $\beta$ -metilionona y el salicilato de 2-etilhexilo presentaron un comportamiento análogo para M2 y, a la vez, similar al de T1 y T2, así como se puede observar en la **Gráfica 6**; sin embargo, el incremento de las áreas cromatográficas fue menos acentuado. No se observó coincidencia entre las gráficas de los compuestos estudiados para M1, M2 y LV. M1 y M2 solo se diferencian en la velocidad de la evaporación desde la piel, siendo más lento este proceso para M1.

**Gráfica 7.** Comportamiento de las áreas cromatográficas de algunos compuestos en función del tiempo de la evaporación del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, aplicado sobre la piel morena.



- ◆ M1: Voluntaria morena 1.
- M2: Voluntaria morena 2.
- ▲ LV: Lámina de vidrio

Continuación **Gráfica 7.**

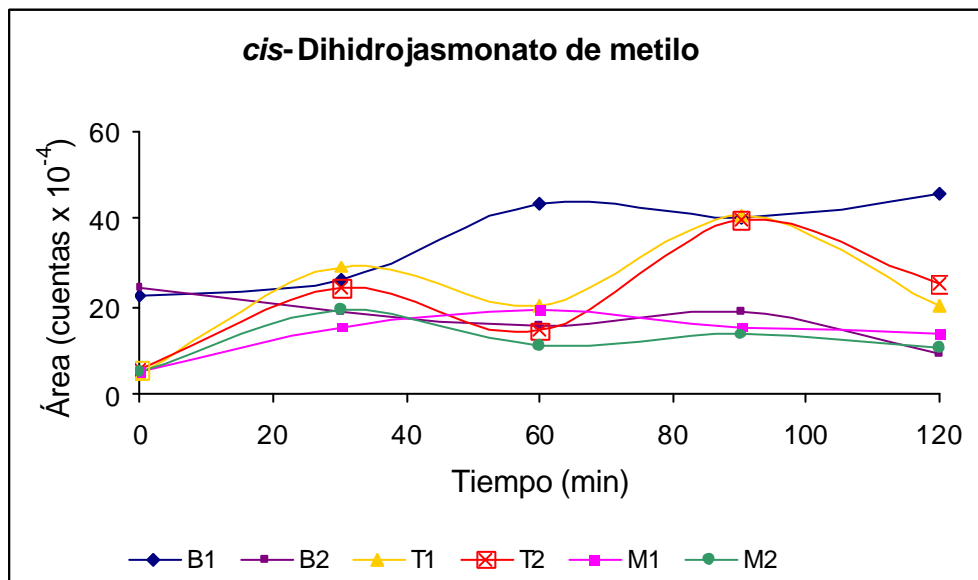
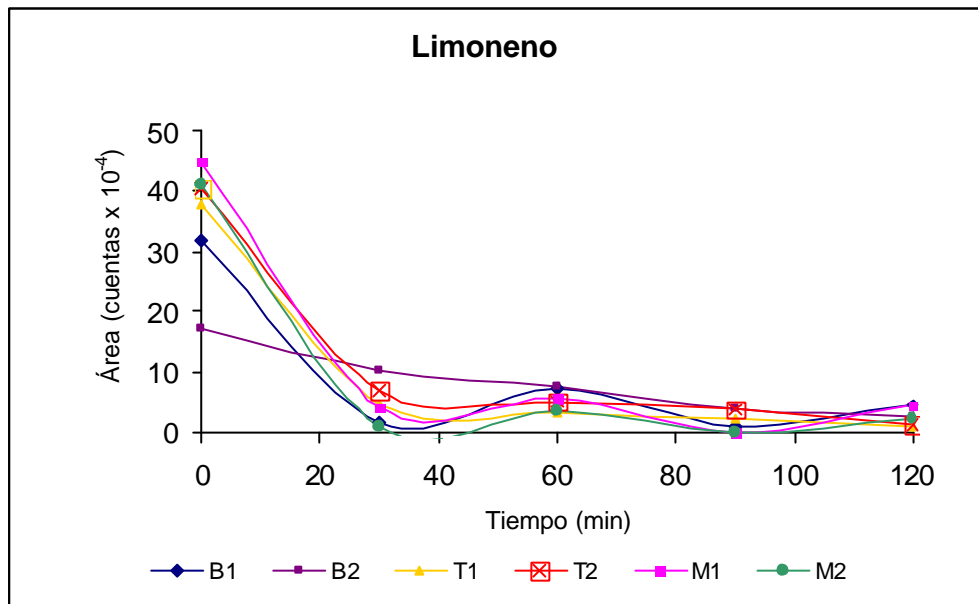


- ◆— M1: Voluntaria morena 1.
- M2: Voluntaria morena 2.
- ▲— LV: Lámina de vidrio

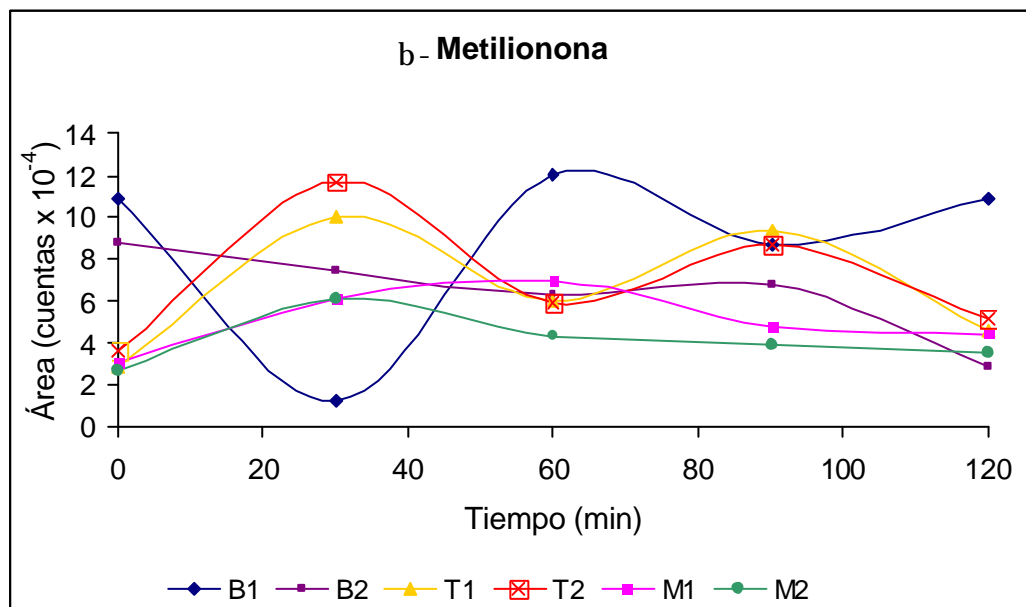
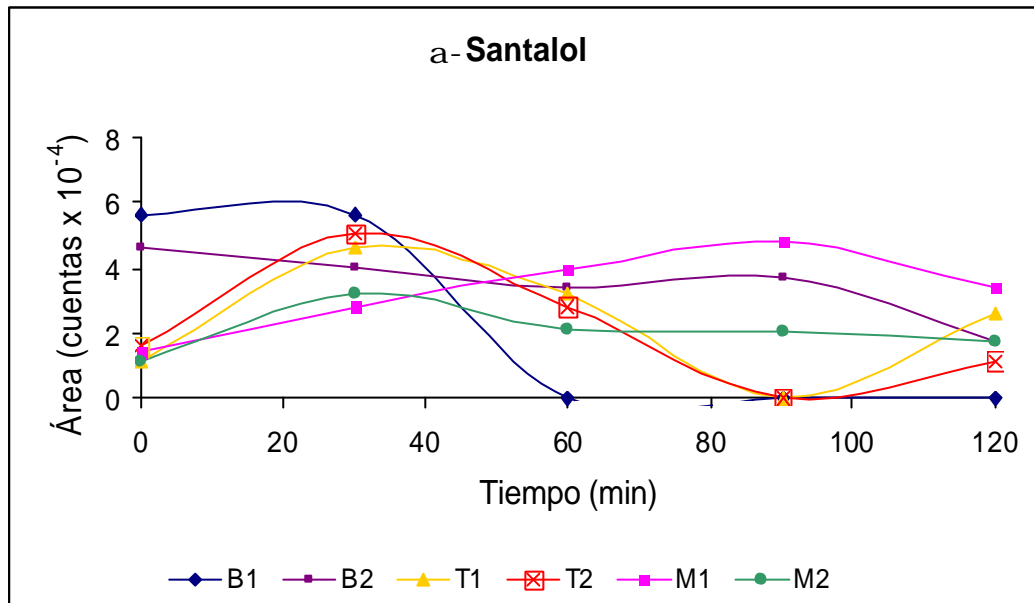
**3.3.2.4 Comparación del comportamiento del perfume, aplicado sobre la piel blanca, morena clara y morena, en función del tiempo**

En las **Gráficas 5-7** muestran las tendencias obtenidas para la evaporación de cada uno de los 12 compuestos monitoreados (Numeral 3.3.2), a diferentes tiempos después de la aplicación del perfume sobre la parte interna del antebrazo de las 6 voluntarias. En la **Gráfica 8** se comparan las tendencias de evaporación del perfume para cada una de las 6 voluntarias, para algunos de los compuestos estudiados, a saber: el limoneno, el *cis*-dihydrojasmonato de metilo, el  $\alpha$ -santalol y la  $\beta$ -metilionona.

**Gráfica 8.** Comparación de las áreas promedio de algunos componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, aplicado sobre la piel blanca, morena clara y morena, en función del tiempo.



Continuación **Gráfica 8.**



Como se observa en las **Gráficas 5-7**, el limoneno es el compuesto que “aparentemente” presentó menor variación durante el proceso de su evaporación al entrar en contacto con la piel de las voluntarias (con excepción de la voluntaria B2), puesto que el perfil de evaporación fue análogo al observado para la lámina de vidrio (material, que se supone, posee una superficie relativamente inerte), en cuanto a forma de la gráfica y las áreas de los picos cromatográficos en los respectivos cromatogramas.

Se observó, que el  $\alpha$ -terpinoleno, el  $\alpha$ -terpineol, el nerol, los acetatos de linalilo y nerilo, presentaron un comportamiento similar en los ensayos de evaporación del perfume, realizados sobre la piel de las voluntarias, con excepción de las voluntarias de piel blanca. Cuando se aplicó el perfume sobre la lámina de vidrio, la concentración relativa de estos compuestos en la fracción volátil fue, en general, más alta, con respecto a su concentración relativa en el *headspace* del perfume aplicado sobre la piel de las voluntarias. Esto permite suponer, que los componentes mencionados se evaporaban, en su mayoría, durante los primeros minutos después de ser aplicados sobre la piel, por lo tanto, su concentración en el *headspace* disminuía con el tiempo; por otra parte, estos compuestos se estaban posiblemente absorbiendo a medida que se aumentaba el tiempo de su contacto con la piel.

En la **Gráfica 8** se observa, que el comportamiento del *cis*-dihidrojasmonato de metilo, el  $\alpha$ -santalol y la  $\beta$ -metilionona fue similar para las voluntarias de piel trigueña y, en algunas ocasiones, también para la voluntaria M2, lo que permite sugerir una posible relación entre el grado de pigmentación de la piel y la volatilización de los componentes del perfume. Una tendencia similar se observó para el ftalato de dietilo, el *trans*-dihidrojasmonato de metilo y el salicilato de 2-etilhexilo.

Cabe resaltar, que el perfil de evaporación de cada uno de los compuestos estudiados, presentó un comportamiento característico al interactuar con pieles de diferente grado de pigmentación. Algunos compuestos de alta volatilidad, como el limoneno (ver **Gráfica 8**), no mostraron variación considerable en el proceso de evaporación; por otra parte, compuestos menos volátiles como el *cis*-dihidrojasmonato de metilo, el  $\alpha$ -santalol y la  $\beta$ -metilionona, presentaron perfiles de evaporación similares para cada pareja de voluntarias con el mismo tipo de piel. Por lo tanto, existe una relación entre el tipo de la piel de estas voluntarias y el perfil de evaporación de los componentes del perfume; con base en el parámetro estudiado, se puede suponer, que el factor influyente es el color de la piel. Las pieles de B1 y B2, mostraron un perfil de evaporación diferente y poco relacionado con el de las demás voluntarias, por lo que se presume, que existen otros factores adicionales al color de la piel que influyen este comportamiento.

En general, los compuestos estudiados presentaron dos tipos de comportamientos característicos para cada una de las voluntarias, aunque en algunos casos, se observaron similitudes en la tendencia de evaporación entre las voluntarias de piel trigueña y morena. De acuerdo con la tendencia de las gráficas, los compuestos se estudiaron en dos grupos. El primer grupo, fue conformado por los compuestos para los cuales no se observó la influencia pronunciada de la piel sobre el perfil de evaporación, a saber: el limoneno, el  $\alpha$ -terpinoleno, el  $\alpha$ -terpineol, el nerol, los acetatos de linalilo y nerilo; de los anteriores, el  $\alpha$ -terpinoleno fue el compuesto que presentó menor similitud y homogeneidad durante el proceso de su evaporación desde las pieles de diferentes tipos.

El segundo grupo, fue integrado por el ftalato de dietilo, el *cis*-dihidrojasmonato de metilo, el  $\alpha$ -santalol, el *trans*-dihidrojasmonato de metilo, la  $\beta$ -metilionona y el salicilato de 2-etilhexilo. Para estos compuestos se observó un perfil de

evaporación, que presentó poca similitud con el de la lámina de vidrio, lo que permitió suponer, que para estas sustancias ocurría una mayor interacción con la piel.

Cabe anotar, que el criterio para sugerir una posible interacción entre los compuestos del perfume con la piel de los diferentes tipos, se basó en la comparación de los perfiles de evaporación del perfume, aplicado sobre la piel del antebrazo de las voluntarias (superficie activa), y sobre la lámina de vidrio (superficie, que se supone posee menor actividad). No se realizaron análisis complementarios de la piel, para establecer los tipos de interacción entre ésta y el perfume, debido a que en este trabajo sólo se pretendió evaluar el efecto del grado de pigmentación de la piel sobre el proceso de evaporación de los compuestos de un perfume aplicado sobre ésta, por medio del monitoreo del *headspace* con SPME, usando como “fijos” diferentes parámetros operacionales (temperatura, humedad, tiempo de exposición, tipo del perfume, recubrimiento de la fibra, etc.).

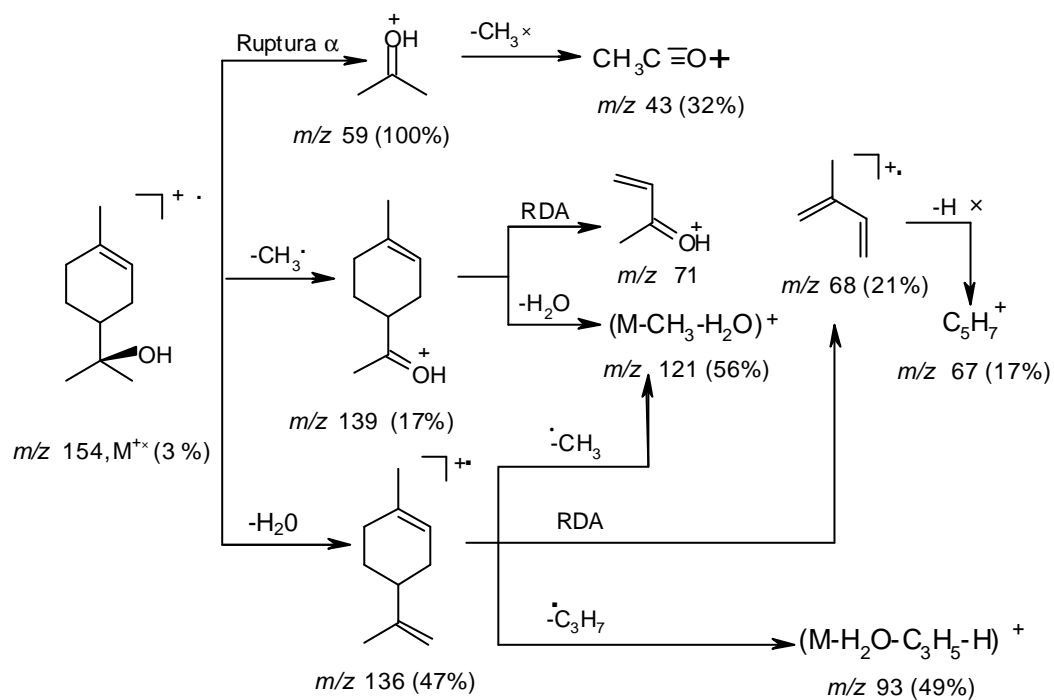
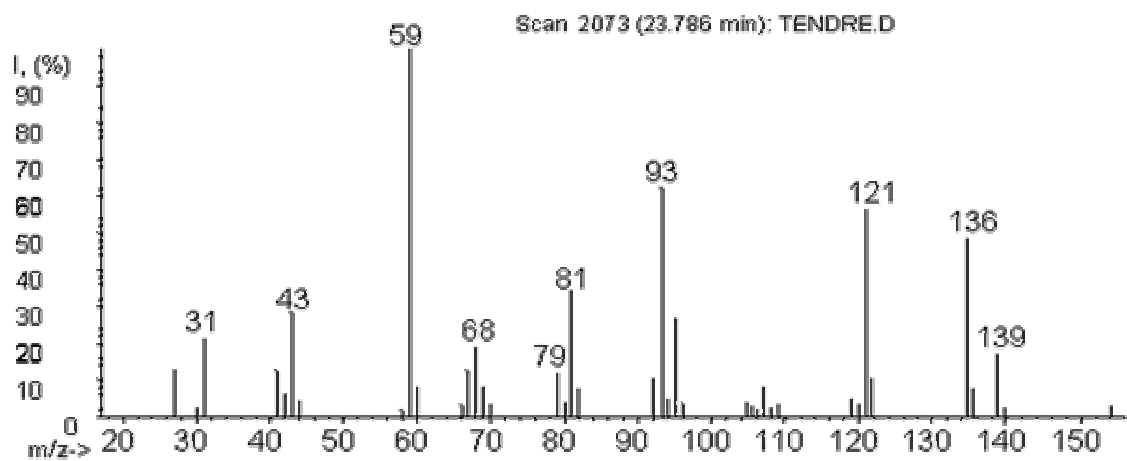
### **3.4 ANÁLISIS DE LOS ESPECTROS DE MASAS DE ALGUNOS COMPUESTOS VOLÁTILES DEL PERFUME “TENDRE KISS” DE LALIQUE**

La identificación de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, presentes en la solución de diclorometano-perfume y en su *headspace*, fue realizada con la ayuda de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS). A continuación, se muestran los espectros de masas, obtenidos para algunos componentes mayoritarios del perfume, junto con sus rutas de fragmentación.

**$\alpha$ -Terpineol.** El espectro de masas de este compuesto de olor floral y las rutas de su fragmentación se presentan en la **Figura 27**.

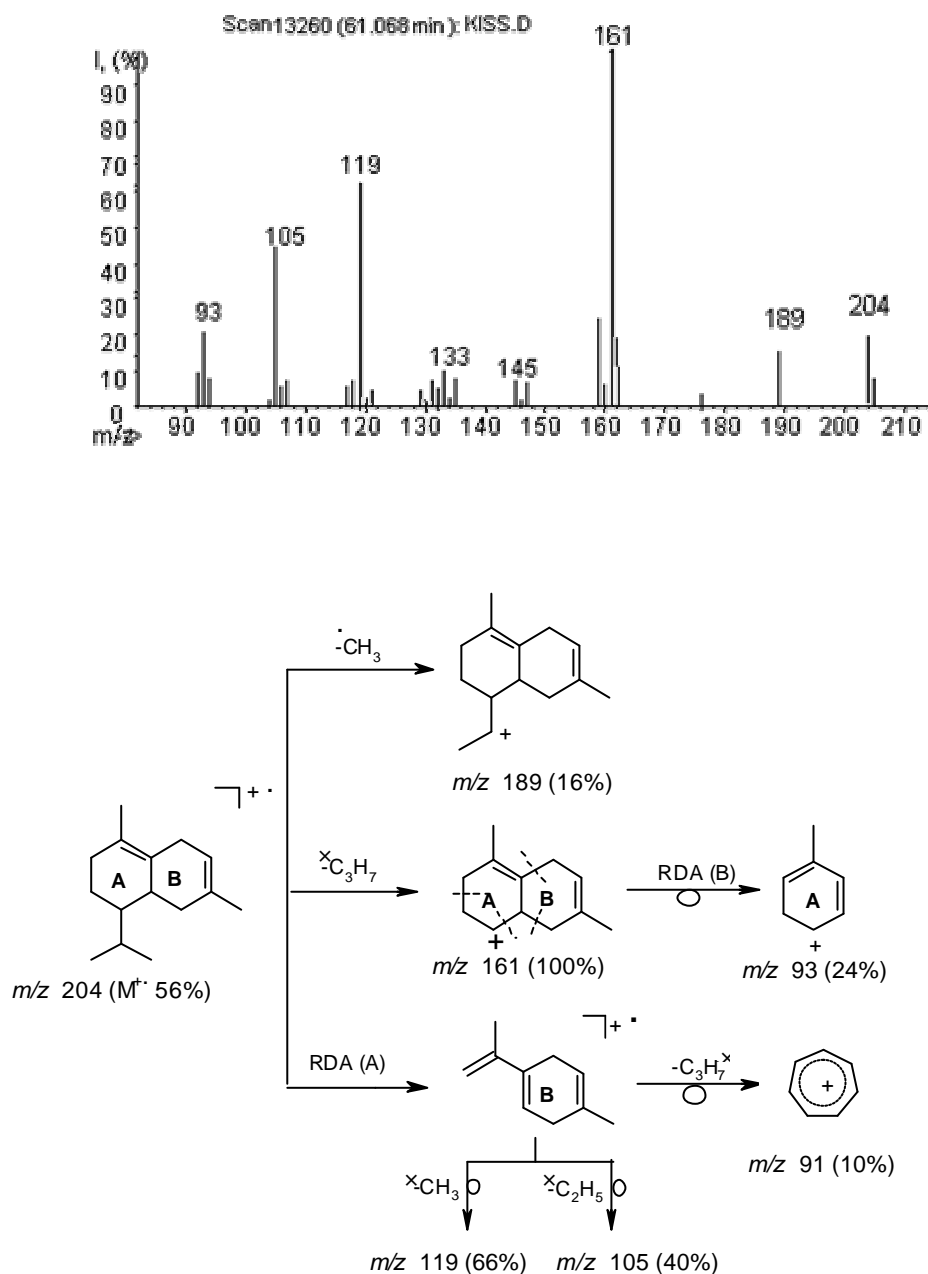
En el espectro de masas del  $\alpha$ -terpineol aparece el ión  $C_3H_7O^+$  en  $m/z$  59 (100 %), pico de base, que se produce por ruptura del enlace C-C próximo al átomo de oxígeno (ruptura  $\alpha$ ), acompañado de la pérdida del radical metilciclohexénico. La posterior pérdida del  $CH_3$  del fragmento  $m/z$  59 genera el ión acilo  $CH_3CO^+$  en  $m/z$  43 (32 %). El ión molecular  $M^+$ , se registró en  $m/z$  154 con una muy baja intensidad; además, se presentan los iones característicos  $(M-CH_3)^+$  en  $m/z$  139 (17 %),  $(M-H_2O)^+$  en  $m/z$  136 (47 %) y  $(M-CH_3-H_2O)^+$  en  $m/z$  121 (56 %), que permiten la confirmación del peso molecular y la presencia del grupo -OH. El fragmento en  $m/z$  136, producto de la deshidratación del ión molecular, se disocia posteriormente eliminando los radicales  $CH_3$ ,  $C_3H_5$  y  $H$  con formación de los iones  $(M-CH_3-H_2O)^+$  en  $m/z$  121 (56 %) y  $(M-H_2O-C_3H_5-2H)^+$  en  $m/z$  93 (49 %), respectivamente.

El catión-radical  $C_5H_8^+$  en  $m/z$  68 (21%) surge durante el rompimiento RDA del fragmento  $(M-H_2O)^+$ , en  $m/z$  136. La ocurrencia de la ruptura RDA en la molécula de  $\alpha$ -terpineol confirma la presencia y localización del doble enlace. Por otro lado, la aparición en el espectro de masas de los iones  $(M-H_2O)^+$ ,  $(M-H_2O-CH_3)^+$  y  $C_3H_7O^+$  confirma la presencia y posición del grupo -OH en la molécula [124-126].



**Figura 27.** Espectro de masas del  $\alpha$ -terpineol y rutas de formación de sus iones fragmento característicos.

**d-Cadineno.** El espectro de masas de este sesquiterpeno bicíclico y su ruta de fragmentación se muestran en la **Figura 28**.



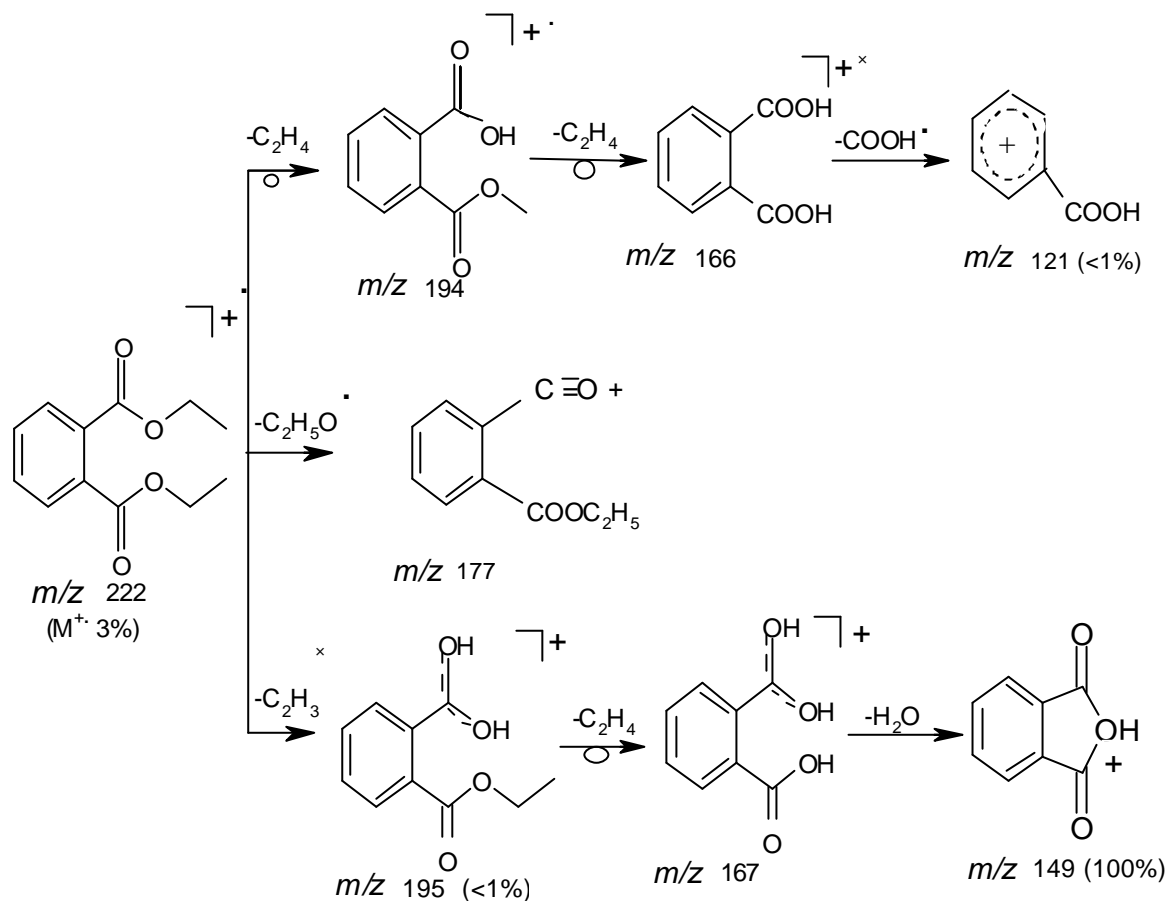
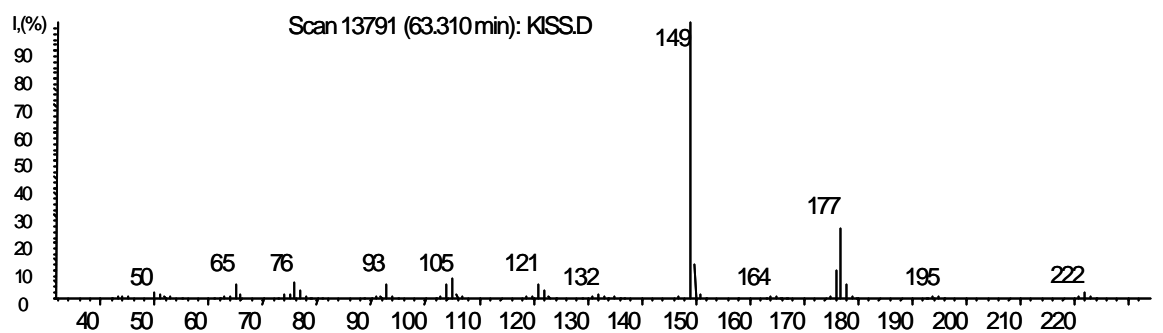
**Figura 28.** Espectro de masas del  $\delta$ -cadineno y rutas de formación de sus iones fragmento característicos.

El ión molecular del  $\delta$ -cadineno en  $m/z$  204 (56 %) es de intensidad alta debido a que el único modo de ruptura de sus anillos es del tipo *retro Diels-Alder*. El pico de base en  $m/z$  161 (100%) corresponde al fragmento  $(M-C_3H_7)^+$ , que se forma por la pérdida del radical isopropilo a partir del ión molecular.

La posición del enlace doble en el ciclo **A** se comprueba por la aparición de un ión en  $m/z$  134 (54 %), producto de la reacción monomolecular de RDA del ión  $M^+$  y del fragmento  $(M-C_3H_7)^+$ . El fragmento en  $m/z$  134, posteriormente, sufre reordenamientos y pérdida de los radicales  $CH_3$  y  $C_2H_5$ , para formar los iones en  $m/z$  119 (66 %) y  $m/z$  105 (40 %), respectivamente [124-126].

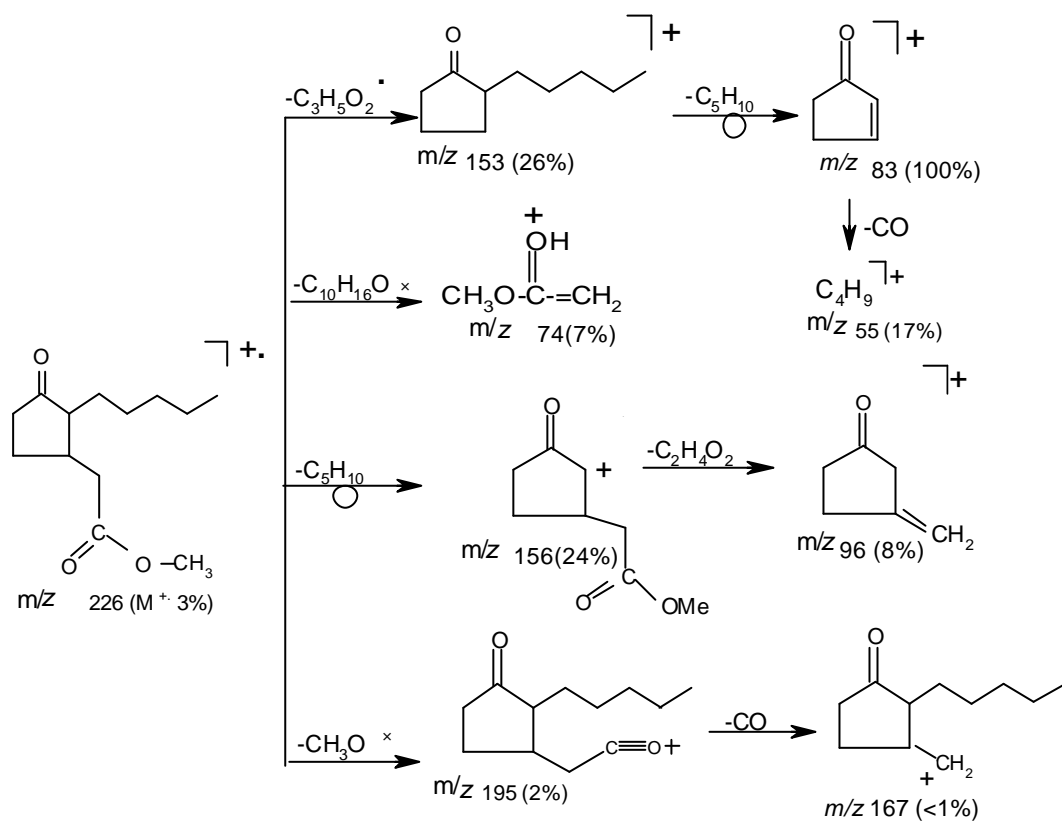
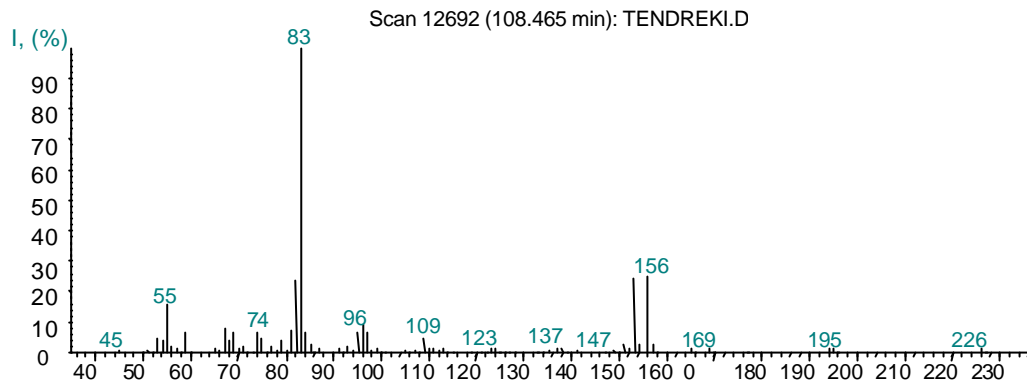
**Ftalato de dietilo.** El espectro de masas obtenido para esta molécula, usada como fijador en la fabricación de perfumes, y su ruta de fragmentación, se presentan en la **Figura 29**.

El ión molecular en  $m/z$  222 (3 %), sufre ruptura simple de un enlace O-alquílico con transposición doble de hidrógeno y genera el catión en  $m/z$  195 (<1 %), el cual experimenta reordenamiento tipo McLafferty con pérdida de una molécula de eteno y una posterior deshidratación, dando lugar al ión, pico de base, en  $m/z$  149 (100 %), que corresponde a un anhídrido protonado, característico de los ésteres del ácido ftálico. Se confirma la presencia de picos típicos de ésteres en  $m/z$  177 (28 %), 164 (1%), 149 (100 %) y 76 (7 %), correspondientes a los iones  $(M-C_2H_5O)^+$ ,  $(M-2C_2H_5)^+$ ,  $(M-COOC_2H_5)^+$  y  $(M-2COOC_2H_5)^+$  [124-126].



**Figura 29.** Espectro de masas del ftalato de dietilo y rutas de formación de sus iones fragmento característicos.

**cis-Dihidrojasmonato de metilo.** El espectro de masas y la ruta de fragmentación del compuesto mayoritario, identificado en una solución de perfume inyectada directamente, se muestran en la **Figura 30**.



**Figura 30.** Espectro de masas del *cis*-dihidrojasmonato de metilo y rutas de formación de sus iones fragmento característicos.

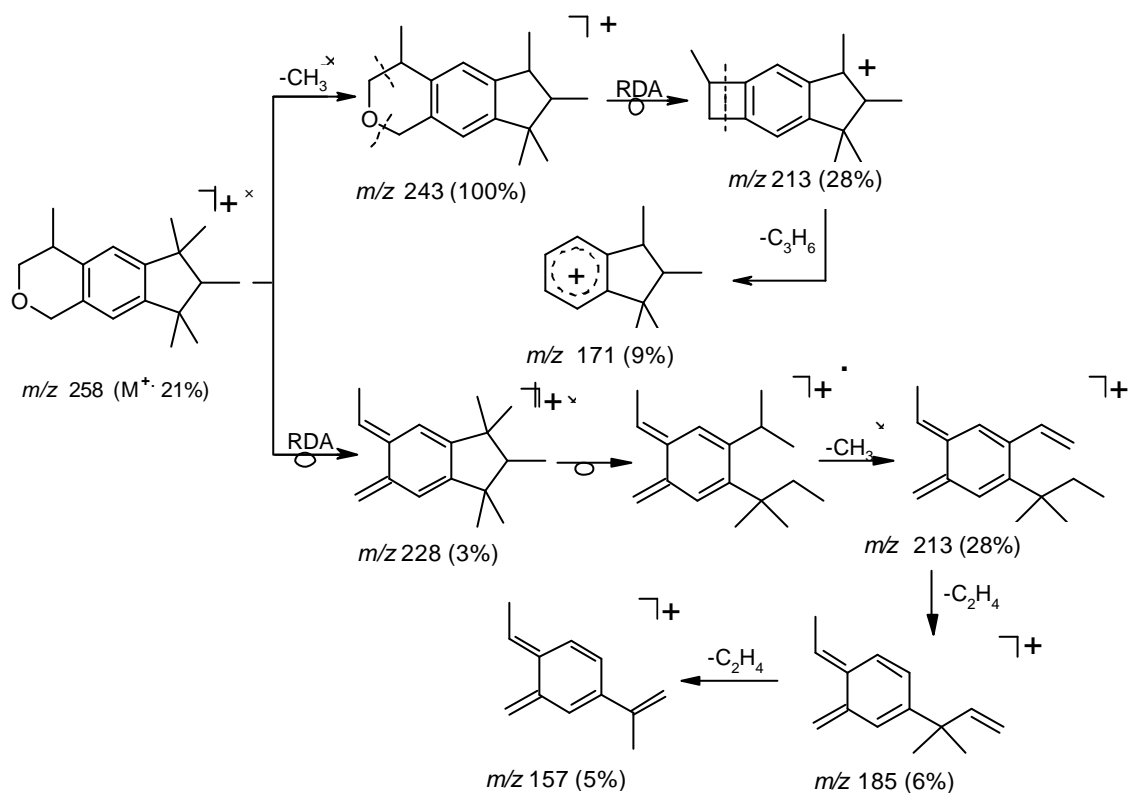
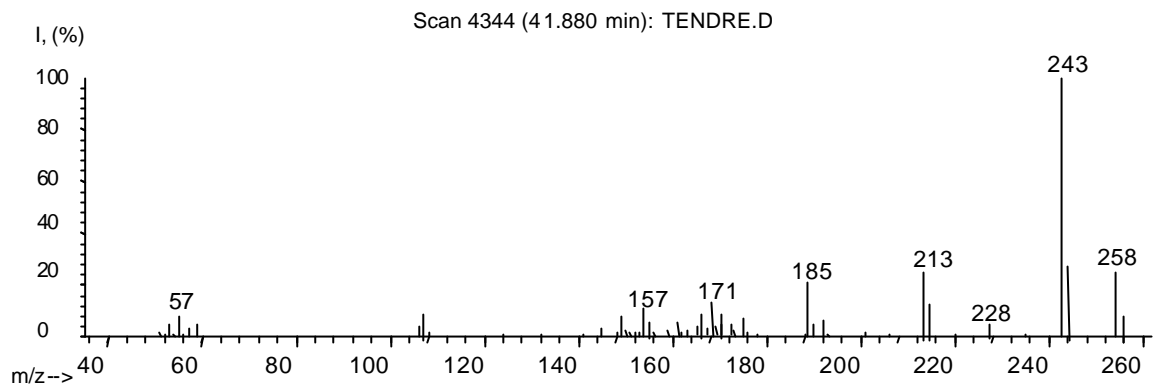
El ión molecular en  $m/z$  226 (3 %) sufre ruptura  $\alpha$  con pérdida del radical  $\text{CH}_3\text{O}^\cdot$ , generando el catión en  $m/z$  195 (2%). Este último, por desprendimiento de CO, produce el catión en  $m/z$  167.

El ión, pico de base, en  $m/z$  83 (100 %), se forma por reordenamiento tipo McLafferty y pérdida de penteno a partir del ión  $(\text{M}-\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2)^+$ , registrado en  $m/z$  153 (26 %). La eliminación de una molécula de CO del catión  $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}^+$  en  $m/z$  83 genera el ión  $\text{C}_4\text{H}_7^+$ , que se registra en  $m/z$  55 (17 %). Por reordenamiento de McLafferty, el ión molecular produce el catión-radical en  $m/z$  156 (28 %), por eliminación de una molécula de penteno. A su vez, el ión en  $m/z$  156 elimina  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ , generando el catión radical en  $m/z$  96 (10 %) [124-126].

**Galaxolida.** El espectro de masas obtenido para este compuesto, característico por poseer notas almizcladas, y su ruta de fragmentación se presentan en la **Figura 31**.

El ión molecular en  $m/z$  258 (21 %) sufre pérdida de un radical metilo, generando el ión, pico de base, en  $m/z$  243 (100%). En este último ocurre la reacción *retro Diels-Alder* y se produce un fragmento en  $m/z$  213 (28%). Este último, experimenta el desprendimiento de una molécula de  $\text{C}_3\text{H}_6$ , dando origen al ión en  $m/z$  171 (9 %).

El fragmento en  $m/z$  228 (3 %), producto de la reacción RDA del ión molecular, sufre pérdidas consecutivas de  $\text{CH}_3^\cdot$  y dos moléculas de eteno, dando lugar a la formación de los iones en  $m/z$  213 (28 %), en  $m/z$  185 (6 %) y en  $m/z$  157 (5 %), respectivamente [124-126].



**Figura 31.** Espectro de masas de la galaxolida y rutas de formación de sus iones fragmento característicos.

#### 4. CONCLUSIONES

1. En el perfume "Tendre Kiss" de Lalique, analizado por GC/MS, se detectaron 74 componentes, de los cuales se logró identificar 67, con base en los espectros de masas (ionización electrónica, 70 eV) y los índices de Kóvats, calculados para cada una de las columnas empleadas (DB-1 y HP-5), así como por comparación de los espectros de masas obtenidos con los de las bases de datos NBS75K, Wiley 138 y NIST98. Entre los componentes mayoritarios (>1%) figuraban los siguientes: el *cis*-dihidrojasmonato de metilo, el brasilato de etileno, el ftalato de dietilo, la galaxolida, el miristato de isopropilo, el *trans*-dihidrojasmonato de metilo, la muscolactona, el 4-metoxicinnamato de 2-etilhexilo, la tonalida y el benzoato de bencilo.
2. Se comprobó, que SPME es una técnica adecuada, relativamente rápida y práctica, para realizar el monitoreo de compuestos volátiles del perfume. Las mejores condiciones de trabajo, que permitieron extraer el mayor número de compuestos del *headspace* del perfume, en una cantidad relativa suficiente para ser detectados e identificados, se obtuvieron, empleando la fibra de PDMS/DVB (65  $\mu\text{m}$ ), con un tiempo de exposición de 15 min, a 37 °C. La extracción HS-SPME de los componentes del perfume "Tendre Kiss" de Lalique y su posterior análisis por GC-MS permitieron la detección de 44 compuestos, de los cuales se identificaron 41. Entre los compuestos mayoritarios (>3%) en el *headspace* se encontraron el limoneno, los acetatos de nerilo y linalilo, el sabineno, el  $\alpha$ -terpineol, el nerol, el  $\beta$ -pineno, el  $\beta$ -terpineol y el  $\beta$ -mirceno, entre otros.
3. En el análisis de las notas del perfume "Tendre Kiss" de Lalique por HS-SPME/GC-MS se encontró, que los componentes mayoritarios de las notas de salida fueron representados por el limoneno, el sabineno, el  $\beta$ -pineno y el  $\beta$ -mirceno; las notas medias estaban constituidas por acetatos de nerilo y linalilo y  $\alpha$ -terpineol, entre otros; estos compuestos presentan olores florales y herbales. Las

notas de fondo correspondieron al acetato de (E)-4-tetradecenilo, el brasilato de etileno, el salicilato de 2-etilhexilo y la galaxolida. Estas sustancias poseen un aroma almizclado y a especias, y se usan también como fijadores y aditivos en los perfumes.

4. Se aplicó el perfume "Tendre Kiss" de Laliqye sobre una lámina de vidrio y el antebrazo de 6 voluntarias de diferentes tipos de piel y se estudió el perfil de evaporación de 12 compuestos, a saber:  $\alpha$ -terpinoleno,  $\alpha$ -terpineol, nerol, acetatos de linalilo y nerilo, ftalato de dietilo, *cis*-dihidrojasmonato de metilo,  $\alpha$ -santalol, *trans*-dihidrojasmonato de metilo,  $\beta$ -metilionona y salicilato de 2-etilhexilo. Los compuestos más volátiles, siguieron un perfil de evaporación similar para las voluntarias y la lámina de vidrio y sólo se diferenciaron en las cantidades relativas. Por su parte, los compuestos menos volátiles presentaron para cada voluntaria un perfil de evaporación diferente al observado para la lámina de vidrio, lo que permitió suponer, que el proceso de evaporación de estos compuestos fue afectado en mayor grado por su interacción con la piel. Estos resultados concuerdan con lo encontrado por Vuilleumier y col. [127], en su estudio sobre el comportamiento de ingredientes del perfume, aplicado sobre la piel.
5. Se observó, que el grado de pigmentación de la piel sí posee influencia sobre el proceso de evaporación de los 12 compuestos típicos estudiados; las pieles con mayor grado de pigmentación (tipo IV-V) mostraron perfiles de evaporación similares, mientras que para la piel blanca (tipo I-III), el perfil de evaporación fue muy individual para cada voluntaria. El grado de pigmentación de la piel afecta el perfil de evaporación de los compuestos estudiados, por ende, sí puede conducir a cambios en el aroma del perfume después de su aplicación.

## 5. RECOMENDACIONES

Es conveniente modificar la programación de la temperatura del horno o utilizar una columna de mayor longitud, para obtener una mejor separación y por lo tanto, una identificación más completa de los componentes del perfume. Aunque con los métodos cromatográficos utilizados se logró una caracterización aceptable del perfume “Tendre Kiss” de Laliq, la cuantificación no es viable debido a la coelución de varios compuestos, esto se refleja en los coeficientes de variación, relativamente altos, de las cantidades relativas.

Es importante estudiar la evaporación del perfume desde la lámina de vidrio a las condiciones de temperatura y ventilación más cercanas posibles a la evaporación del perfume desde la piel, de modo que se pueda establecer una relación más acertada entre el proceso realizado sobre una superficie considerada “inerte” y una activa, bajo las mismas condiciones.

Se sugiere implementar un sistema de flujo de aire al dispositivo empleado en este estudio, que permita realizar la evaporación del perfume aplicado sobre el antebrazo en condiciones controladas de ventilación.

Es necesario efectuar una caracterización de la piel de las voluntarias (pH, textura, color, nivel lipídico, entre otros) con el fin de conocer algunos de los parámetros que pueden afectar el proceso de evaporación de los componentes de los perfumes aplicados sobre la piel y mantenerlos dentro de un mismo rango para las voluntarias, de modo que el color de la piel sea la variable que juega el papel más importante en el estudio.

Para establecer con mayor certeza el efecto de la piel sobre la evaporación del perfume, se deben estudiar más fragancias en una población representativa que permita realizar un tratamiento estadístico de los datos obtenidos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Grasse. La Ciudad de los perfumes. Grupo Editorial Milenio, 2003. Disponible en Internet: <URL:<http://www.mileniosemanal.com/index.asp>>. Consultada: 03-09-03.
2. BEDOUKIAN, Paul. Perfumery & Flavoring Materials: 50 years of annual review articles 1945-1994. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 1995. p. 458, 477, 651.
3. AUGUSTO, Fabio y LEITE, Alexandre. Sampling and Sample Preparation for Analysis of Aromas and Fragrances. *TrAC.*, 2003, 22 (3), p. 162-169.
4. POUCHER, William. Perfumes, Cosmetics and Soaps. 6 Ed. New York: D. Van Nostrand Company, 1941. v. 2, p. 66-89.
5. SCHWARZENBACH, E. and BERTSCHI, L. Models to assess perfume diffusion skin. *Int. J. Cosmet. Sci.*, 2001, 23 (2), p. 85-98.
6. KASTING, G. and SAIYASOMBATI, P. Physico-chemical properties based model for estimating evaporation and absorption rates of perfumes from skin. *Int. J. Cosmet. Sci.*, 2001, 23 (1), p. 49-58.
7. PILETTA, P. y SAURAT, JH. La alergia a los perfumes en el 2000. *Medécine et Hygiene.*, 2001, 58, p. 541-544.
8. MANURA, John. The Analysis of Perfumes and Their Effect on Indoor Air Pollution. Scientific Instrument Services: [www.sisweb.com](http://www.sisweb.com), 1998. Consultada: 23-08-03.
9. JANSSON, Tommy and LODÉN, Marie. Strategies to Reduce Contact Allergy to Fragrances. *Cosmet. Toiletries.*, 2002, 117 (9), p. 39-45.
10. LIEZ, Peterson. Perfumed Compositions and Methods for Reducing Body Odors and Excess Moisture. *PTC Int Appl.*, 1998, 98, p. 340.
11. RICHARDSON, Anne. Measurement of Fragrance Perception. *Chem. Fragrances.*, 1999, p. 145-157.

12. MEAKINGS, Steve. The Safety and Toxicology of Fragrances. *Chem. Fragrances.*, 1999, p. 174-187.
13. CLERY, Robin. Volatility and Substantivity of Perfume Ingredients. *Chem. Fragrances.*, 1999, p. 202-215.
14. FRIBERG, Stig. Vapor Pressures of Fragrances alter Applications some Fundamental Factors. *Cosmet. Sci. Technol.*, 1999, 19, p. 221-232.
15. JOHANSEN, Jeanne. and MENNE, Torkil. Fragrance Contact Allergy. Tracking Reactions to Fragrances in Cosmetics. *Cosmet. Toiletries.*, 1998, 113 (7), p. 47-50.
16. REIFENRATH, William. Volatile Substances. *Cosmet. Toiletries.*, 1995, 110, p. 85-93.
17. HOSTYNEK, Jurij. Safeguards in the fragrance Chemicals., *Cosmet. Toiletries.* 1997, 112, p. 47-51.
18. MATISOVÁ, Eva; VRANIAKOVÁ, Janka and SIMON, Peter. Optimisation of Solid Microextraction of Volatiles. *J. Chromatogr. A.*, 2002, 960 p. 159-154.
19. ARIAN van ASTEN, A. The importance of GC and GC-MS in perfume analysis. *TrAC.*, 2002, 21, (9-10), p. 698-708.
20. LIU, Z. Measurement of Gas-Liquid Partition Coefficient and Headspace Concentration Profiles of Perfume Materials by SPME and Capillary Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. Sci.*, 2000, 38, p. 377-380.
21. Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología Cosmética [online]. Bogotá (Colombia), 2002. Disponible en Internet: <URL:<http://www.directoriociencias.unal.edu.co/>>. Consultada: 20-08-03.
22. POUCHER, William. Perfumes, Cosmetics and Soaps. 6 Ed. New York: D. Van Nostrand Company, Inc. 1941. v. 2, p. 37-49.
23. SCHUELLER, R. and ROMANOWSKI, P. Common "scents": fragrance in personal-care products. *Cosmet. Toiletries.*, 1996, 111, p. 59-66.
24. Estructura del Perfume. Disponible en Internet: URL:<http://www.todofragancias.com.ar/>. Consultada: 22-07-03.

25. HARRY, Ralph. Modern Cosmeticology. 3 Ed, New York: Chemical Publishing Co., 1947. p. 13-18.
26. PILZ, Wolfgang. Perfume y cosmética: Historia cultural. *Contact. Haarmann & Reimer GmbH.*, 2001, 40, p. 3-8.
27. \_\_\_\_\_. Perfumería y cosmética en las grandes Civilizaciones Antiguas. *Contact. Haarmann & Reimer GmbH.*, 2001, 61, p. 21-25.
28. MOORE, Donald. The Art and the Science of Perfumery. *J. Chem. Educ.*, 1960, 37 (8), p. 434-437.
29. ULLMAN, Fritz. Enciclopedia de Química Industrial. Barcelona: Editorial Gustavo Gili, 1952. Sección 6, Tomo 2, p. 267-277.
30. ESTRADA, J. Manuel. Curso de Cosméticos. Medellín: Universidad de Antioquia, 1989. p.p. 14-19, 70-83, 187-191.
31. BAERHEIM, S and SCHEFFER, J. Essential Oils and Aromatic Plants. 1 Ed. Netherlands: Academic Publishers Group, 1985. 246 p.
32. DOMINGUEZ, X. A. Métodos de investigación en fitoquímica. México: Editorial Limusa, 1988. 281 p.
33. GÜENTHER, Ernest. The Essential Oils: History and Origin of Plants Production Analysis. 3 Ed. New York: D. Van Nostrand Company, Inc. 1955. v. I, p. 427-429.
34. CALDERÓN, G. Guía para el análisis de plantas y notas prácticas sobre fitoquímica. Bogotá: Universidad Nacional, 1963. p. 1-75.
35. GÜENTER, Ernest. The Essential Oils: History and Origin of Plants Production Analysis. 3 Ed. New York: D. Van Nostrand Company, Inc. 1955. v. III, p. 776-777.
36. ARCTANDER, Steffen. Perfume and Flavor Materials of Natural Origin. Carol stream: Allured Publishing Corporation, 1994. p. 1-22.
37. RIEGER, Martin. Cosmetic Science. *Cosmet. Toiletries.* 1980, 95, p. 27-62.
38. BEDOUKIAN, Paul. Pefumery Synthetics and Isolates. New York: D. Van Nostrand Company, 1951. 488 p.
39. CALVIN, R. y JELLINEK, J. La perfumería: práctica y principios. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A., 1996. p.p. 34-47, 52-64.

40. [http://www.eucerin.es/skin/skincell\\_1.html](http://www.eucerin.es/skin/skincell_1.html). Consultada: 12-01-2004.
41. ROOK, A. and WILKINSON, D. Textbook of Dermatology. 4 Ed. Londres: Blackwell Scientific Publications, 1986. p. 5-38.
42. VELEZ, Hernán y BORRERO, Jaime. Fundamentos de medicina. 3 Ed. Bogotá: Corporación para Investigaciones Biológicas, 1985. p. 3-16.
43. [http://www.eucerin.es/skin/skincell\\_2.html](http://www.eucerin.es/skin/skincell_2.html). Consultada: 12-01-2004.
44. [http://www.eucerin.es/skin/skincell\\_3.html](http://www.eucerin.es/skin/skincell_3.html). Consultada: 12-01-2004.
45. [http://www.eucerin.es/skin/skincell\\_4.html](http://www.eucerin.es/skin/skincell_4.html). Consultada: 12-01-2004.
46. [http://www.eucerin.es/skin/skincell\\_6.html](http://www.eucerin.es/skin/skincell_6.html). Consultada: 12-01-2004.
47. [http://www.eucerin.es/skin/skincell\\_5.html](http://www.eucerin.es/skin/skincell_5.html). Consultada: 12-01-2004.
48. [http://www.eucerin.es/skin/skincell\\_7.html](http://www.eucerin.es/skin/skincell_7.html). Consultada: 12-01-2004.
49. MAZZINI, M. y JONQUÍERRES, E. Guía de trabajos prácticos de dermatología. 2 Ed. Buenos Aires: Optimus, 1967. p. 8-12.
50. FITZPATRICK, T. and ARNDT, K. Dermatology in General Medicine. New York: McGraw-Hill Book Company, 1971. p. 103-115.
51. [http://www.eucerin.es/skin/physio\\_5.html](http://www.eucerin.es/skin/physio_5.html). Consultada: 12-01-2004.
52. MOSCHELLA, S. and PILLSBURY, D. Dermatology. Washington: W.B. Saunders Company, 1975. v. VI, p. 60-65.
53. NASEMANN, T. y SAVERBREY, W. Enfermedades cutáneas e infecciones venéreas. Madrid: Editorial A.C., 1981. p. 8-17.
54. PAREKH, J.C. Axillary Odor: Its Physiology, Microbiology and Chemistry. *Cosmet. Toiletries.*, 2002, 117, p. 53-57.
55. GÓMEZ, José. Dermatología. 1 Ed. Madrid: Aguilar Ediciones, 1972. p. 27-61.
56. [http://www.eucerin.es/skin/physio\\_3.html](http://www.eucerin.es/skin/physio_3.html). Consultada: 12-01-2004.
57. BERNIER, Ulrich. Analysis of Human Skin Emanations by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 2000, 72, p. 747-756.
58. [http://www.eucerin.es/skin/physio\\_4.html](http://www.eucerin.es/skin/physio_4.html). Consultada: 12-01-2004.

59. [http://www.eucerin.es/skin/physio\\_1.html](http://www.eucerin.es/skin/physio_1.html). Consultada: 12-01-2004.
60. [http://www.eucerin.es/skin/physio\\_2.html](http://www.eucerin.es/skin/physio_2.html). Consultada: 12-01-2004.
61. YOSIPOVITCH, G and HOWARD, I. Skin Surface pH: A Protective Acid Mantle. *Cosmet. Toiletries.*, 1996, 111, p. 101-102.
62. RIEGER, Martin. The Apparent pH on the Skin. *Cosmet. Toiletries* 1989, 104, p. 53-56.
63. STEWART, W y DANTO, J. Dermatología. 2 Ed. México: Interamericana, 1974. p. 2-18.
64. ARANGO, Carmen. Peculiaridades en la absorción percutánea de los elementos componentes de las aguas mineromedicinales. Sevilla, 2000. Disponible en Internet: [http://www.med-estetica.com/Cientifica/Banco\\_Articulos/index.htm](http://www.med-estetica.com/Cientifica/Banco_Articulos/index.htm). Consultada: 24-08-03.
65. MUKHTAR, Hasan. Pharmacology of the Skin. Florida: CRS Press, 1992. p. p.13-28, 115-125.
66. SCHEUPLEIN, R.J. and BLANK, I.H. "Permeability of the Skin". *Physiol. Rev.* 1971, 51, p. 702.
67. KENNEY, Dolores. Skin-Evaluative Methods. *Cosmet. Toiletries.*, 1982, 97, p. 71-73.
68. SCALA, J. and RELLER, H. The Percutaneous Absorption of Ionic Surfactants. *J. Invest. Dermat.*, 1968, 50 (5), p. 371-379.
69. MONTAGNA, William and VAN SCOTT, Eugene. Pharmacology and the Skin. New York: Appleton Century Crofts, Educational Division Meredith Corporation, 1972. v. XII, p. 125-151.
70. MENCZEL, E. and MAIBACH, H. In Vitro Human Percutaneous Penetration of Benzil Alcohol and Testosterone: Epidermal-Dermal Retention. *J. Invest. Dermat.*, 1970, 54 (5), p. 386-393.
71. GAY, José. Dermatología. 7 Ed. Barcelona: Editorial Científico-Médica, 1971. p. 27-61.
72. FRANZ, Thomas. Percutaneous Absorption: On the Relevance of in Vitro Data. *J. Invest. Dermat.*, 1975, 64 (3), p. 190-195.

73. JIMBO, Y. and ISHIHARA, M. Influence of Vehicles on Penetration Through Human Epidermis of Benzil Alcohol, Isoeugenol and Methyl Isoeugenol. *J. Dermat.*, 1983, 10, p. 241-250.
74. FELDMANN, R. and MAIBACH, H. Absorption of Some Organic Compounds Through the Skin in Man. *J. Invest. Dermat.* , 1970, 54 (5), p. 399-404.
75. CHARLET, Egbert. La Piel. *Contact. Haarmann & Reimer GmbH.*, 2001, 40, p. 24-26.
76. OSAMURA, H. and JIMBO, Y. Skin Penetracion of Nicotinic Acid, Methyl Nicotinate, and Butyl Nicotinate in the Guinea Pig. *J. Dermat.*, 1984, 11, p. 471-481.
77. IWATA, Y. and MORIYA, Y. Percutaneous Absorption of Aliphatic Compounds. *Cosmet. Toiletries.* , 1987, 102, p. 53-68.
78. ROTHMAN, Stephen. The Principles of Percutaneous Absortion. *J. Lab. Clin. Med.*, 1943, 28, p. 1305-1321.
79. KRIWET, K y PARENTEAU, N. In vitro Skin Models. *Cosmet. Toiletries.*, 1996, 111, p. 93-99.
80. BLANK, Irvin. Penetration of Low-Molecular-Weight Alcohols into Skin. *J. Invest. Dermat.*, 1964, 43, p. 415-420.
81. BLANK, I. y SCHEUPLEIN. Mechanism of Percutaneous Absorption. *J. Invest. Dermat.*, 1967, 49 (6), p. 582-589.
82. JIMBO, Yuko. Penetration of Fragrance Compounds Through Human Epidermis. *J. Dermat.*, 1983, 10, p. 229-293.
83. BALSAM, M. *Cosmetics Science and Technology.* 2 Ed. New York: John Wiley and Sons, 1974. v. 3, p. 173-183.
84. Tomado de : VILLAMIZAR, Yolanda. Estudio de la composición química de los aceites esenciales de eucalipto, limonaria y ciprés y su aplicación en la creación de un extracto perfumado. Universidad Industrial de Santander. 1993.
85. GÜNTHER, E. Scent and Fragrances. The Fascination of Odors and their Chemical Perspectives. New York: Springer-Verlag, 1994. 238 p.
86. HERMAN, Stephen. Odor Reception: Structure and Mechanism. *Cosmet. Toiletries.*, 2002, 117 (9), p. 83-94.

87. PEVSNER, Jonathan. The Biology of Odor Perception. *Cosmet. Toiletries.*, 1999, 114 (2), p 45-51.
88. SCHARF, Andreas. Procedimientos descriptivos de la investigación sensorial. *Contact. Haarmann & Reimer GmbH.*, 2001, 83, p. 3-8.
89. SCHARF, Andreas. Procedimientos descriptivos de la investigación sensorial. 2ª Parte. *Contact. Haarmann & Reimer GmbH.*, 2001, 84, p. 3-8.
90. The Sense of Smell. Disponible en Internet: <URL:<http://www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/>> . Consultada: 14-03-04.
91. TERANISHI, R. Odor and Molecular Structure. *Cosmet. Toiletries.*, 1972, 82, p. 79-83.
92. BOELEN, Hans. Relationship between the Chemical Structure of Compounds and their Olfactive Properties. *Cosmet. Toiletries.*, 1974, 89, p. 70-78.
93. BAYDAR, A. y DECAZES, J. Behavior of Fragrances on Skin. *Cosmet. Toiletries.*, 1996, 111, p. 49-54.
94. FITZPATRICK, T. and ARNDT, K. Dermatology in General Medicine. New York: McGraw-Hill Book Company, 1998. v. 1, p. 1690-1699.
95. MOOKHERJEE, Braja. Fragrance Emission from the Skin. A Study of Molecular diffusion. *Cosmet. Toiletries.*, 1998, 113 (7), p. 53-60.
96. ORMANCEY, Xavier., SISALLI, Sandra. Formulation of Essential Oils in Functional Perfumery. *Parfums, Cosmetiques, Actualites*; 2001, 157, p.p. 30-33, 38, 40.
97. BEDOUKIAN, Paul. Perfumery & Flavoring Materials: 50 years of annual review articles 1945-1994. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 1995. p. 160-169.
98. \_\_\_\_\_. Perfumery & Flavoring Materials: 50 years of annual review articles 1945-1994. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 1995. p. 339-345.
99. MILLER, Michael. Comparison of Gas-Sampled and SPME-Sampled Static Headspace for the Determination of Volatile Flavor Components. *Anal. Chem.*, 1999, 71 (1), p. 23-27.
100. PAWLISZYN, Janusz. Applications of Solid Phase Microextraction. Canadá: Royal Society of Chemistry, 1997. p. 13-37.

101. GÓRECKI, Tadeusz and YU, Xiaomei. Theory of Analyte Extraction by Select Porous Polymer SPME Fibres. *Analyst.*, 1999, 124, p. 643-649.
102. PAWLISZYN, Janusz. Solid-Phase Microextraction: Theory and Practice. USA: Wiley-VCH, 1997. 247 p.
103. AI, Jui. Headspace Solid-Phase Microextraction. Dynamics and Quantitative before Reaching a Partition Equilibrium. *Anal. Chem.*, 1997, 69, p. 3260-3266.
104. \_\_\_\_\_. Solid-Phase Microextraction for Quantitative Analysis in Nonequilibrium Situations. *Anal. Chem.*, 1997, 69, p. 1230-1236.
105. BARTELT, Robert. Calibration of a Commercial Solid-Phase Microextraction Device for Measuring Headspace Concentrations of Organic Volatiles. *Anal. Chem.*, 1997, 69, p. 364-372.
106. SHIREY, Robert. Optimization of Extraction Conditions for Low-Molecular-Weight Analites Using Solid-Phase Microextraction. *J. Chromatogr. Sci.*, 2000, 38, p. 109-116.
107. PROSEN, Helena and ZUPANCIC-KRALJ, Lucija. Solid-phase Microextraction. *TrAC.*, 1999, 18 (4), p. 272-281.
108. RANDOLPH, Galipo and CANHOTO, Alfredo. Analysis of Volatile Fragrance and Flavor Compounds by Headspace Solid Phase MicroExtraction and GC-MS. *J. Chem. Educ.*, 1999, 76 (2), p. 240-245.
109. MARSILI, Ray. Flavor, Fragrance and Odor Analysis. New York: Marcel Dekker, Inc., 2002. p. 75-105.
110. REED, J. y GHADIALLY, R. Skin Type, But Neither Race Nor Gender, Influence Epidermal Permeability Barrier Function. *Arch. Dermatol.*, 1995, 131 (Oct), p. 1134-1137.
111. <http://es.osmoz.com/encyclo/familes.asp>. Consultada: 01-02-2004.
112. [http://www.rivoli.ru/news/shows.php3?news\\_id=355](http://www.rivoli.ru/news/shows.php3?news_id=355). Consultada: 01-02-2004.
113. ADAMS, Robert. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatografy/Mass Spectroscopy. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 1995. 469 p.

114. JOULAIN, Daniel and KÖNIG, Wilfried. The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpenes Hydrocarbons. Hamburg: E.B.-Verlag Hamburg, 1998. 658 p.
115. DAVIES, N.W. Gas Chromatographic Retention Indices of Monoterpenes and Sesquiterpenes on Methyl Silicone and Carbowax 20M Phases. *J. Chromat. A*, 1990, 151, p. 1-23.
116. FURIA, Thomas and BELLANCA, Nicolás. Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients. 2 Ed. Cleveland: CRC Press, 1975. v. I, p.p. 8-11, 270-495.
117. <http://www.leffingwell.com/chirality/>. Consultada: 05-04-2004
118. <http://www.abacovital.com/fichastecnicas/>. Consultada: 31-01-2004
119. <http://www.iff.com/ingredients.nsf/fragingredients!openform>. Consultada: 25-03-2004.
120. <http://www.thegoodscentcompany.com>. Consultada: 25-03-2004.
121. [http://www.informed.sld.cu/revistas/far/vol32\\_1\\_98/far12198.htm](http://www.informed.sld.cu/revistas/far/vol32_1_98/far12198.htm). consultada: 15-11-2003.
122. <http://www.lalique.com>. Consultada: 01-02-2004.
123. GARNER, W. and BARGE, M.S. Good Laboratory Practice Standards. Applications for field and laboratory studies. Washington: ACS, American Chemical Society, 1992. 571 p.
124. McLAFFERTY, F. Interpretación of Mass Spectra. 4 Ed. California: University Science Books, 1993. 373 p.
125. SILVERSTEIN, R. and WEBSTER, F. Spectrometric Identification of Organic Compounds. 6 Ed. New York: John Wiley & Sons, 1998. p. 2-70.
126. STASHENKO, E.; COMBARIZA, Y. y PUERTAS, M. Aceites esenciales: Técnicas de extracción y análisis. Bucaramanga: Laboratorio de Fitoquímica y Cromatografía, Universidad Industrial de Santander, 1998.
127. VUILLEUMIER, C. and FLAMENT, I. Headspace análisis of evaporation rate of perfume ingredients applied onto skin. *Int. J. Cosmet. Sci.*, 1995, 17 (2), p. 61-76.

# **ANEXOS**

## Anexo 1

Formato de la encuesta realizada a las voluntarias para la clasificación de su piel.

Fecha: \_\_\_\_\_

Nombre de la voluntaria: \_\_\_\_\_

De acuerdo con el comportamiento de su piel frente a las radiaciones solares a lo largo de su vida, responda las siguientes preguntas:

1. Se quema fácilmente?

Siempre \_\_\_\_\_ Con frecuencia \_\_\_\_\_ Rara vez \_\_\_\_\_ Nunca \_\_\_\_\_

2. Presenta oscurecimiento o pigmentación inmediata?

No \_\_\_\_\_ Leve \_\_\_\_\_ Moderada \_\_\_\_\_ Intensa \_\_\_\_\_

3. Se broncea:

Nunca \_\_\_\_\_ Con dificultad \_\_\_\_\_ Gradualmente \_\_\_\_\_ Uniformemente \_\_\_\_\_

Profundamente \_\_\_\_\_ Siempre \_\_\_\_\_

Comentarios:

---

---

---

**Anexo 2.** Identificación por HRGC/MSD (columna DB-1) de los compuestos presentes en el perfume “Tendre Kiss” de Lalique.

N <sup>o</sup> pico	Identificación	$k_K$ calculado	$k_K$ teórico
1	$\alpha$ -Pino	-	942
2	Sabineno	-	976
3	$\beta$ -Pino	-	981
4	Glicerol trimetil éter + $\alpha$ -Felandreno	-	- /1002
5	Dipropilenglicol + Dibutilenglicol	1011	-
6	Etilal	1017	-
7	$\Delta^3$ -Careno	1019	1013
8	Limoneno	1019	1024
9	$\gamma$ -Terpino	1047	1056
10	Alcohol $\beta$ -feniletílico	1081	-
11	Óxido de linalool	1084	1082
12	Nerol*	1166	1097
13	Acetato de linalilo	1179	1218
14	<i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno	1240	1240
15	2,3-dihidro-5,6-dimetoxi-3-metil-1-H-inden-1-ona	1412	1417
16	Butilhidroxitolueno (BHT)	1474	-
17	$\delta$ -Cadineno + Elemicin + Elemol	1530	1524-1540
18	Ftalato de dietilo	1550	-
19	$\beta$ -Metilionona	1592	-
20	9-Dodeciltetradecahidro antraceno*	1597	-
21	N.I.	1607	-
22	<i>cis</i> -Dihidrojasmonato de metilo	1619	-
23	N.I.	1635	-
24	<i>trans</i> -Dihidrojasmonato de metilo	1642	-
25	N.I.	1655	-

Continuación **Anexo 2.**

26	N.I.	1664	-
27	2,2,8-Trimetil-biciclo[4,2,0]oct-1(6)-eno-1-penteno*	1669	-
28	Isocurcumenol	1675	-
29	$\alpha$ -Santalol*	1712	1660
30	Benzoato de bencilo	1719	-
31	Benzoil indol*	1738	-
32	Derivado de la carvona	1739	-
33	N.I.	1781	-
34	Salicilato de 2-etilhexilo	1783	-
35	6,7-Dietil-1, 1, 4, 4-tetrametil tetralina*	1787	-
36	1,11,13-Hexadecatrieno*	1791	-
37	Acetato de (E)-4-tetradecenilo	1796	-
38	Muscolactona	1806	-
39	Miristato de isopropilo	1813	-
40	3-Metil-4-ciclopentadecenona	1814	-
41	7-Acetil-6-etil-1, 1, 4, 4-tetrametiltetralina*	1824	-
42	4, 4-Dimetoxidifenilamina*	1835	-
43	Derivado de la tretalina*	1850	-
44	Galaxolida	1855	-
45	Galaxolida + 6-Metoxi 8,8-dimetil-2H, 8Hbenzo- [1, 2-b:3, 4-b']dipiran-2-ona	1864 1900	- -
46	Oxacicloheptadec-8-en-ona	1971	-
47	Brasilato de etileno	2076	-
48	N.I. + 4-Metoxicinnamato de 2-etilhexilo	2278	-

\* Compuestos identificados tentativamente

**Anexo 3.** Identificación por HRGC/MSD (columna HP-5) de los compuestos presentes en el perfume “Tendre Kiss” de Lalique.

Nº pico	Identificación	$I_K$ calculado	$I_K$ teórico
1	$\alpha$ -Pinoeno	-	939
2	Sabineno	-	976
3	$\beta$ -Pinoeno	-	980
4	$\alpha$ -Felandreno	1000	1005
5	$\Delta^3$ -Careno	1006	1011
6	Metoxitrietilenglicol	1022	-
7	Dipropilenglicol	1023	-
8	Limoneno	1026	1031
9	N.I. + Dibutilenglicol	1039	-
10	Dibutilenglicol	1044	-
11	$\gamma$ -Terpineno	1054	1062
12	Linalool	1099	1098
13	Alcohol $\beta$ -feniletílico	1110	1110
14	<i>trans</i> - $\beta$ -Terpineol	1179	1163
15	$\alpha$ -Terpineol	1192	1189
16	Nerol	1227	1228
17	Acetato de linalilo	1248	1257
18	Aminobenzoato de linalilo	1254	-
19	$\alpha$ -Copaeno	1372	1376
20	<i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno	1412	1418
21	Santaleno	1416	1420
22	Dehidroaromadendrano	1438	1459
23	Butilmetoxidibenzoilmetano	1453	-
24	$\beta$ -Metilionona	1488	1479
25	Germacreno D	1489	1480
26	Butilhidroxitolueno (BHT)	1510	1512

Continuación **Anexo 3.**

27	Elemol	1539	1549
28	Elemicin	1545	1554
29	$\delta$ -Cadineno	1547	1559
30	Longipinanol	1562	1561
31	Ftalato de dietilo	1583	-
32	N.I.	1621	-
33	9-Dodeciltetradecahidro antraceno*	1643	-
34	<i>cis</i> -Dihidrojasmonato de metilo	1649	1654
35	N.I. ( $m/z = 234$ )	1652	-
36	Salicilato de hexilo	1673	1675
37	$\alpha$ -Santalol	1674	1678
38	<i>trans</i> -Dihidrojasmonato de metilo	1679	1680
39	Derivado de <i>p</i> -cimen-7-ol*	1682	-
40	Farnesol	1689	1713
41	Curcufenol*	1714	1715
42	Ambrox	1753	1756
43	Benzoato de bencilo	1786	1762
44	2-Ciclohexil ciclohexanona	1790	-
45	6,7-Dietil-1, 1, 3, 4, 4-pentametil tetralina*	1793	-
46	Salicilato de 2-etilhexilo	1796	-
47	3-Benzoil indol	1798	-
48	1,11,13-Hexadecatrieno*	1805	-
49	Muscolactona	1810	1828
50	Acetato de (E)-4-tetradecenilo	1817	-
51	Miristato de isopropilo	1824	-
52	Tonalida*	1831	-
53	Acetato de farnesilo + N.I.*	1836	1843/-

Continuación **Anexo 3.**

---

54	6-Metoxi 8,8-dimetil-2H, 8H- benzo[1, 2-b:3, 4-b']dipiran-2-ona	1856	-
55	7-Acetil-6-etil-1, 1, 4, 4-tetrametiltetralina*	1878	-
56	Galaxolida	1890	1893
57	Ftalato	1912	-
58	Oxacicloheptadec-8-en-ona	1966	-
59	Brasilato de etileno	1999	2060
60	4-Metoxicinnamato de 2-etilhexilo	2313	-

\* Compuestos identificados tentativamente

**Anexo 4.** Estudio de la repetitividad de las cantidades relativas (%) de los compuestos presentes en el perfume “Tendre Kiss” de Lalique.

Nº Pico	Identificación	Cantidad relativa (%)	Cantidad relativa prom. (%)	$\sigma$	CV%
1	$\alpha$ -Pinoeno	0,140 0,138 0,189	0,16	0,029	18,555
2	Sabineno	0,043 0,040 0,041	0,041	0,002	3,695
3	$\beta$ -Pinoeno	0,155 0,148 0,163	0,155	0,008	4,832
4	$\alpha$ -Felandreno	0,060 0,064 0,065	0,063	0,003	4,200
5	Metoxitrietilenglicol	0,046 0,051 0,054	0,050	0,004	8,029
6	Dipropilenglicol	1,230 1,393 1,542	1,4	0,156	11,240
7	Limoneno	0,712 0,745 0,778	0,74	0,033	4,430
8	N.I. + Dibutilenglicol	0,134 0,121 0,098	0,12	0,018	15,493
9	Dibutilenglicol	0,139 0,133 0,135	0,14	0,003	2,252
10	$\gamma$ -Terpineno	0,068 0,073 0,089	0,08	0,011	14,308
11	Linalool	0,201 0,218 0,212	0,210	0,009	4,099
12	Alcohol $\beta$ -feniletílico	0,296 0,303 0,311	0,303	0,008	2,474
13	<i>trans</i> - $\beta$ -Terpineol	0,208 0,213 0,223	0,215	0,008	3,558
14	$\alpha$ -Terpineol	<0,010 <0,010 -	<0,010	-	-

Continuación **Anexo 4.**

15	Nerol	0,326 0,339 0,344	0,335	0,009	2,763
16	Acetato de linalilo	0,336 0,341 0,312	0,33	0,016	4,702
17	Aminobenzoato de linalilo	0,291 0,307 -	0,30	0,011	3,784
18	$\alpha$ -Copaeno	<0,010 <0,010 <0,010	<0,010	-	-
19	<i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno	0,085 0,092 0,069	0,08	0,012	14,378
20	Santaleno	<0,010 <0,010 <0,010	<0,010	-	-
21	Dehidroaromadendrano	0,054 0,059 0,048	0,056	0,004	6,258
22	Butilmetoxidibenzoilmetano	<0,010 -	<0,010	-	-
23	Germacreno D	<0,010 <0,010 <0,010	<0,010	-	-
24	Butilhidroxitolueno (BHT)	0,044 0,065 0,061	0,06	0,011	19,677
25	Elemol	0,058 -	0,052	0,008	14,816
26	Elemicin	0,047 0,039 0,051	0,045	0,006	13,296
27	Longipinanol	0,046 0,096 0,083	0,090	0,009	10,271
28	Ftalato de dietilo	- 8,934 9,150 9,247	9,1	0,160	1,759

Continuación **Anexo 4.**

29	N.I.	0,168 0,113 0,155	0,14	0,029	19,779
30	9-Dodeciltetradecahidro antraceno	0,123 0,124 0,115	0,121	0,005	4,088
31	<i>cis</i> -Dihidrojasmonato de metilo	22,789 22,849 22,903	22,85	0,057	0,250
32	N.I.	0,190 0,183 -	0,187	0,005	2,654
33	$\alpha$ -Santalol	0,354 0,343 0,382	0,36	0,020	5,591
34	<i>trans</i> -Dihidrojasmonato de metilo	7,298 6,574 6,936	6,9	0,362	5,219
35	Derivado de <i>p</i> -cimen-7-ol	1,615 1,624 1,607	1,615	0,008	0,526
36	Farnesol	0,323 0,316 0,341	0,33	0,013	3,948
37	Curcufenol	<0,010 - <0,010	<0,010	-	-
38	Ambrox	0,300 0,309 0,313	0,307	0,007	2,166
39	Benzoato de bencilo	1,353 1,380 1,426	1,39	0,034	2,662
40	2-Ciclohexilciclohexanona	0,390 - 0,382	0,386	0,006	1,466
41	6,7-Dietil-1, 1, 4, 4-tetrametil tetralina	0,191 0,204 0,188	0,19	0,008	4,376
42	Salicilato de 2-etilhexilo	0,574 0,406 0,523	0,50	0,086	17,192
43	3-Benzoil indol	0,155 - 0,146	0,16	0,013	8,640

Continuación **Anexo 4.**

44	1,11,13-Hexadecatrieno	0,511 0,522 0,517	0,517	0,006	1,066
45	Muscolactona	4,384 4,251 4,326	4,32	0,067	1,543
46	Acetato de (E)-4-tetradecenilo	4,745 4,827 4,293	4,6	0,288	6,222
47	Miristato de isopropilo	7,738 7,773 7,752	7,75	0,018	0,227
48	Tonalida	3,445 3,361 3,653	3,5	0,150	4,312
49	Acetato de farnesilo + N.I.	0,318 0,305 0,321	0,315	0,008	2,703
50	6-metoxi 8,8-dimetil-2H, 8H-benzo[1, 2-b:3, 4-b']dipiran-2-ona	0,388 0,365 0,374	0,38	0,012	3,085
51	7-Acetil-6-etil-1, 1, 4, 4-tetrametiltetralina	0,083 0,090 0,087	0,087	0,004	4,052
52	Galaxolida	9,008 8,085 8,926	8,7	0,511	5,890
53	Ftalato	0,385 0,392 0,376	0,384	0,008	2,087
54	Oxacicloheptadec-8-en-ona	0,744 0,736 0,751	0,744	0,008	1,009
55	Brasilato de etileno	14,352 14,049 14,702	13,2	0,282	2,134
56	4-Metoxicinnamato de 2-etilhexilo	3,956 4,282 4,321	4,2	0,200	4,788

**Anexo 5.** Estudio de la repetitividad de los  $t_R$  y los  $t_{RR}$  de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique.

Identificación	Tiempo de retención (min)			Tiempo de retención prom.		$\sigma$	CV (%)
	$t_R$	$t_{Ristd}^*$	$t_{RR}$	$t_R$	$t_{RR}$	$t_R$	$t_R$
$\alpha$ -Pino	13,94	29,65	0,47	13,95	0,47	0,011	0,08
	13,96	29,66	0,47				
	13,94	29,65	0,47				
Sabineno	15,50	29,65	0,52	15,49	0,52	0,006	0,04
	15,49	29,66	0,52				
	15,49	29,65	0,52				
$\beta$ -Pino	15,77	29,65	0,53	15,77	0,53	0,015	0,10
	15,78	29,66	0,53				
	15,75	29,65	0,53				
$\alpha$ -Felandreno	16,79	29,65	0,56**	16,79	0,56	0,010	0,06
	16,78	29,66	0,56				
	16,80	29,65	0,57				
$\Delta^3$ -Careno	16,89	29,65	0,57	16,89	0,57	0,006	0,03
	16,88	29,66	0,57				
	16,89	29,65	0,57				
Metoxitrietilenglicol	17,01	29,65	0,57	17,01	0,57	0,015	0,09
	17,00	29,66	0,57				
	17,03	29,65	0,57				
Dipropilenglicol	17,38	29,65	0,59***	17,38	0,58	0,006	0,03
	17,38	29,66	0,58				
	17,37	29,65	0,58				
Limoneno	17,67	29,65	0,60	17,67	0,60	0,006	0,03
	17,66	29,66	0,60				
	17,67	29,65	0,60				
N.I. + Dibutilenglicol	17,93	29,65	0,60	17,93	0,60	0,010	0,06
	17,92	29,66	0,60				
	17,94	29,65	0,60				

Continuación **Anexo 5.**

	18,21	29,65	0,61				
Dibutilenglicol	18,20	29,66	0,61	18,21	0,61	0,010	0,05
	18,22	29,65	0,61				
	18,73	29,65	0,63				
$\gamma$ -Terpineno	18,74	29,66	0,63	18,74	0,63	0,006	0,03
	18,74	29,65	0,63				
	20,16	29,65	0,68				
Linalool	20,14	29,66	0,68	20,15	0,68	0,010	0,05
	20,15	29,65	0,68				
	20,75	29,65	0,70				
Alcohol $\beta$ -feniletílico	20,75	29,66	0,70	20,75	0,70	0,000	0,00
	20,75	29,65	0,70				
	22,94	29,65	0,77				
<i>trans</i> - $\beta$ -Terpineol	22,91	29,66	0,77	22,93	0,77	0,015	0,07
	22,93	29,65	0,77				
	23,38	29,65	0,79				
$\alpha$ -Terpineol	23,40	29,66	0,79	23,39	0,79	0,014	0,06
	-	29,65	-				
	24, 40	29,65	0,82				
Nerol	24,45	29,66	0,82	24,42	0,82	0,025	0,10
	24,42	29,65	0,82				
	25,08	29,65	0,84				
Acetato de linalilo	25,08	29,66	0,84	25,08	0,84	0,006	0,02
	25,07	29,65	0,84				
	25,86	29,65	0,87				
Aminobenzoato de linalilo	25,87	29,66	0,87	25,87	0,87	0,007	0,03
	-	29,65	-				

Continuación **Anexo 5.**

$\alpha$ -Copaeno	29,27	29,65	0,99	29,28	0,99	0,010	0,03
	29,29	29,66	0,99				
	29,28	29,65	0,99				
<i>trans</i> - $\beta$ -Cariofileno	30,43	29,65	1,03	30,44	1,03	0,006	0,019
	30,44	29,66	1,03				
	30,44	29,65	1,03				
Santaleno	30,62	29,65	1,03	30,60	1,03	0,015	0,05
	30,60	29,66	1,03				
	30,59	29,65	1,03				
Dehidroaromadendrano	30,92	29,65	1,04	30,91	1,04	0,010	0,03
	30,91	29,66	1,04				
	30,90	29,65	1,04				
Butil- metoxidibenzoilmetano	31,45	29,65	1,06	31,43	1,06	0,026	0,08
	31,40	29,66	1,06				
	31,44	29,65	1,06				
$\beta$ -Metilionona	31,79	29,65	1,07	31,79	1,07	0,006	0,18
	31,80	29,66	1,07				
	31,79	29,65	1,07				
Germacre no D	32,28	29,65	1,09	32,29	1,09	0,010	0,03
	32,30	29,66	1,09				
	32,29	29,65	1,09				
Butilhidroxitolueno (BHT)	32,59	29,65	1,10	32,58	1,10	0,015	0,05
	32,58	29,66	1,10				
	32,56	29,65	1,10				
Elemol	32,71	29,65	1,10	32,70	1,10	0,014	0,04
	-	29,66	-				
	32,69	29,65	1,10				

Continuación **Anexo 5.**

Elemicin	33,59	29,65	1,13	33,61	1,13	0,015	0,04
	33,61	29,66	1,13				
	33,62	29,65	1,13				
δ-Cadineno	33,78	29,65	1,14	33,80	1,14	0,015	0,04
	33,80	29,66	1,14				
	33,81	29,65	1,14				
Longipinanol	33,93	29,65	1,14	33,94	1,14	0,007	0,02
	33,94	29,66	1,14				
	-	29,65	1,14				
Ftalato de dietilo	34,82	29,65	1,17	34,81	1,17	0,008	0,02
	34,81	29,66	1,17				
	34,81	29,65	1,17				
N.I.	35,58	29,65	1,20	35,59	1,20	0,010	0,03
	35,60	29,66	1,20				
	35,59	29,65	1,20				
9-Dodeciltetradeca-hidro antraceno	35,73	29,65	1,20	35,73	1,20	0,000	0,00
	35,73	29,66	1,20				
	35,73	29,65	1,20				
<i>cis</i> -Dihidrojasmonato de metilo	36,46	29,65	1,23	36,46	1,23	0,006	0,02
	36,48	29,66	1,23				
	36,45	29,65	1,23				
N.I.	36,74	29,65	1,24	36,73	1,24	0,014	0,04
	36,72	29,66	1,24				
	-	29,65	-				
Salicilato de hexilo	36,82	29,65	1,24	36,82	1,24	0,02	0,05
	36,84	29,66	1,24				
	36,80	29,65	1,24				

Continuación **Anexo 5.**

α-Santalol	36,95	29,65	1,25	36,96	1,25	0,012	0,03
	36,97	29,66	1,25				
	36,95	29,65	1,25				
<i>trans</i> -Dihidrojasmonato de metilo	37,06	29,65	1,25	37,04	1,25	0,020	0,06
	37,03	29,66	1,25				
	37,02	29,65	1,25				
Derivado de <i>p</i> -cimen-7- ol	37,51	29,65	1,26	36,93	1,26	0,015	0,04
	37,50	29,66	1,26				
	37,52	29,65	1,26				
Farnesol	37,72	29,65	1,27	37,71	1,27	0,021	0,05
	37,73	29,66	1,27				
	37,69	29,65	1,27				
Curcufenol*	37,84	29,65	1,28	37,85	1,28	0,014	0,04
	-	29,66	-				
	37,86	29,65	1,28				
Ambrox	37,93	29,65	1,28	37,94	1,28	0,011	0,03
	37,95	29,66	1,28				
	37,95	29,65	1,28				
Benzoato de bencilo	39,42	29,65	1,33	39,43	1,33	0,010	0,02
	39,44	29,66	1,33				
	39,43	29,65	1,33				
2-Ciclohexil ciclohexanona	39,64	29,65	1,34	39,62	1,34	0,020	0,05
	-	29,66	-				
	39,61	29,65	1,34				
6,7-Dietil-1, 1, 3, 4, 4- pentametil tetralina	39,86	29,65	1,34	39,85	1,34	0,015	0,04
	39,83	29,66	1,34				
	39,85	29,65	1,34				
Salicilato de 2-etilhexilo	40,06	29,65	1,35	40,06	1,35	0,010	0,02
	40,05	29,66	1,35				
	40,07	29,65	1,35				

Continuación **Anexo 5.**

3-Benzoil indol	40,26	29,65	1,36	40,26	1,36	0,007	0,02
	-	29,66	-				
1,11,13-Hexadecatrieno	40,25	29,65	1,36	40,60	1,37	0,015	0,04
	40,60	29,65	1,37				
	40,58	29,66	1,37				
	40,61	29,65	1,37				
	40,73	29,65	1,37				
Muscolactona	40,69	29,66	1,37	40,71	1,37	0,021	0,05
	40,72	29,65	1,37				
	40,98	29,65	1,38				
Acetato de (E)-4-tetradecenilo	40,96	29,66	1,38	40,97	1,38	0,010	0,02
	40,97	29,65	1,38				
	41,05	29,65	1,38				
Miristato de isopropilo	41,06	29,66	1,38	41,05	1,38	0,010	0,02
	41,04	29,65	1,38				
	41,12	29,65	1,39				
Tonalida	41,15	29,66	1,39	41,14	1,39	0,017	0,04
	41,15	29,65	1,39				
Acetato de farnesilo + N.I.	41,31	29,65	1,39	41,32	1,39	0,011	0,03
	41,33	29,66	1,39				
6-metoxi 8,8-dimetil-2H, 8H-benzo[1, 2-b:3, 4-b']dipiran-2-ona	41,33	29,65	1,39	41,44	1,40	0,015	0,04
	41,46	29,65	1,40				
	41,44	29,66	1,40				
	41,43	29,65	1,40				

Continuación **Anexo 5.**

7-Acetil-6-etil-1, 1, 4, 4-tetrametiltetralina*	41,93	29,65	1,41	41,93	1,41	0,000	0,00
	41,93	29,66	1,41				
	41,93	29,65	1,41				
Galaxolida	42,27	29,65	1,42	42,28	1,42	0,012	0,03
	42,29	29,66	1,42				
	42,27	29,65	1,42				
Ftalato	45,74	29,65	1,54	45,74	1,54	0,015	0,03
	45,73	29,66	1,54				
	45,76	29,65	1,54				
Oxacicloheptadec-8-enona	46,70	29,65	1,58	46,70	1,58	0,015	0,03
	46,68	29,66	1,58				
	46,71	29,65	1,58				
Brasilato de etileno	47,38	29,65	1,60	47,37	1,60	0,012	0,02
	47,38	29,66	1,60				
	47,36	29,65	1,60				
4-Metoxicinnamato de 2-etilhexilo	50,35	29,65	1,70	50,36	1,70	0,010	0,02
	50,37	29,66	1,70				
	50,36	29,65	1,70				

\*  $t_{R\text{ istd}}$  promedio = 29,65;  $\sigma_{\text{istd}} = 0,006$ ;  $CV_{\text{istd}} (\%) = 0,02$

La desviación estándar y el coeficiente de variación para los tiempos de  $t_{RR}$  son iguales a cero con excepción de:

\*\*  $t_{RR}$  promedio = 0,56;  $\sigma = 0,006$ ;  $CV (\%) = 1,02$

\*\*\*  $t_{RR}$  promedio = 0,58;  $\sigma = 0,006$ ;  $CV (\%) = 0,99$

**Anexo 6.** Estudio de la repetitividad de las áreas de los componentes volátiles del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, extraídos por HS-SPME de usando la fibra de PDMS/DVB (65  $\mu\text{m}$ ).

N° pico	Identificación	Área (cuentas $\times 10^{-4}$ )	Área prom. (cuentas $\times 10^{-4}$ )	$\sigma \times 10^{-4}$	CV%
1	$\alpha$ -Pinoeno	14,51	16	2,07	13,06
		18,27			
		14,87			
2	Sabineno	16,37	17	1,36	7,79
		18,93			
		16,88			
3	$\beta$ -Pinoeno	3,83	4,2	0,50	12,04
		4,74			
		3,92			
4	$\beta$ -Mirceno	13,35	14,1	0,86	6,12
		15,01			
		13,79			
5	$\alpha$ -Felandreno	4,51	4,7	0,32	6,81
		5,09			
		4,56			
6	$\alpha$ -Terpinoeno	0,94	1,0	0,10	10,08
		1,07			
		0,88			
7	<i>p</i> -Cimeno	1,74	1,76	0,02	0,87
		1,77			
		1,76			
8	Limoneno	86,67	89	2,21	2,47
		90,66			
		90,30			
9	$\alpha$ -Terpineol	9,92	9,8	0,32	3,22
		9,43			
		10,02			
10	Linalool	1,28	1,2	0,11	9,80
		1,09			
		1,08			
11	Nerol	1,43	1,49	0,07	4,75
		1,57			
		1,48			
12	Acetato de linalilo	2,21	2,19	0,03	1,29
		2,17			
		-			
13	Acetato de nerilo	1,00	0,94	0,08	8,23
		0,89			
		-			
14	Geranil acetato	0,70	0,70	-	-
		-			
		-			

Continuación **Anexo 6.**

15	$\alpha$ -Santaleno	1,22 1,21 1,19	1,21	0,02	1,26
16	<i>trans</i> -Metldihidro jasmonato	0,70 0,69 0,66	0,68	0,02	3,05
17	Brasilato de etileno	1,67 1,59 1,28	1,5	0,21	13,61
18	4-Metoxicinnamato de 2-etilhexilo	0,83 0,76 0,96	0,9	0,10	11,94

**Anexo 7.** Estudio de la repetitividad de las áreas de los componentes volátiles del perfume “Tendre Kiss” de Laliq, extraídos por HS-SPME, usando la fibra de PDMS (100  $\mu$ m).

Nº pico	Identificación	Área (cuentas $\times 10^{-4}$ )	Área prom (cuentas $\times 10^{-4}$ )	$\sigma \times 10^{-4}$	CV%
1	$\alpha$ -Pinoeno	9,24	9,2	0,48	5,22
		9,61			
		8,66			
2	Sabineno	10,74	10,7	0,61	5,63
		11,34			
		10,13			
3	$\beta$ -Pinoeno	2,72	2,7	0,19	7,19
		2,90			
		2,53			
4	$\beta$ -Mirceno	9,13	9,2	0,55	6,01
		9,71			
		8,61			
5	$\alpha$ -Felandreno	2,84	2,9	0,17	5,98
		3,05			
		2,71			
6	$\alpha$ -Terpinoeno	0,68	0,69	0,05	7,33
		0,74			
		0,64			
7	<i>p</i> -Cimeno	1,33	1,4	0,10	7,24
		1,47			
		1,28			
8	Limoneno	57,86	58	3,86	6,62
		62,27			
		54,58			
9	$\alpha$ -Terpineol	6,64	6,7	0,54	8,10
		7,26			
		6,18			
10	Linalool	0,75	0,77	0,07	9,36
		0,85			
		0,71			
11	$\beta$ -Terpineol	0,51	0,6	0,10	16,74
		0,52			
		0,68			

Continuación **Anexo 7.**

		0,57			
12	Nerol	0,60	0,60	0,02	4,22
		0,62			
		0,81			
13	Acetato de linalilo	0,87	0,84	0,03	3,65
		0,83			
		1,70			
14	Acetato de nerilo	1,79	1,71	0,07	4,14
		1,65			
		1,09			
15	$\alpha$ -Santaleno	1,03	1,08	0,04	4,24
		1,12			
		1,70			
16	<i>trans</i> -Dihidroxasmonato de metilo	1,44	1,5	0,17	11,02
		1,39			

**Anexo 8.** Estudio de la repetitividad de las áreas de los componentes volátiles del perfume “Tendre Kiss” de Laliq, extraídos por HS-SPME, usando la fibra de PA (85  $\mu\text{m}$ ).

N° pico	Identificación	Área (cuentas $\times 10^{-4}$ )	Área prom (cuentas)	$\sigma \times 10^{-4}$	CV%
1	$\alpha$ -Pinoeno	4,77	4,7	0,12	2,55
		4,54			
		4,71			
2	Sabineno	6,66	6,6	0,11	1,63
		6,49			
		6,69			
3	$\beta$ -Pinoeno	1,64	1,63	0,01	0,61
		1,63			
		1,62			
4	$\beta$ -Mirceno	5,61	5,58	0,04	0,63
		5,54			
		5,58			
5	$\alpha$ -Felandreno	1,67	1,66	0,03	1,59
		1,63			
		1,68			
6	p-Cimeno	1,08	1,09	0,02	2,11
		1,12			
		1,08			
7	Limoneno	36,85	36,8	0,43	1,16
		37,20			
		36,35			
8	$\alpha$ -Terpineol	4,56	4,6	0,23	5,06
		4,77			
		4,31			
9	Linalool	0,50	0,50	0,02	5,07
		0,52			
		0,47			
10	$\beta$ -Terpineol	0,93	0,99	0,09	9,35
		1,10			
		0,95			
11	Nerol	1,16	1,3	0,15	11,38
		1,45			
		1,38			
12	Acetato de linalilo	0,70	0,73	0,07	10,14
		0,67			
		0,81			

Continuación **Anexo 8.**

		2,08			
13	Acetato de nerilo	2,79	2,4	0,37	15,36
		2,28			
		0,76			
14	$\alpha$ -Santaleno	0,81	0,7	0,13	18,63
		0,56			
		0,96			
15	<i>cis</i> -Metldihidro jasmonato	1,14	1,06	0,09	0,74
		1,09			
		3,03			
16	<i>trans</i> -Metldihidro jasmonato	3,19	3,5	0,62	17,97
		4,18			

**Anexo 9.** Repetitividad de las áreas de algunos componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, extraídos por HS-SPME con la fibra de PDMS/DVB (65  $\mu\text{m}$ ), en función del tiempo.

$t_{\text{exp}}$ (min)	Identificación	Área (cuentas $\times 10^{-4}$ )	Área prom (cuentas $\times 10^{-4}$ )	$\sigma \times 10^{-4}$	CV%
5	Sabineno	6,32	6,2	0,10	1,70
		6,11			
		6,20			
	Limoneno	19,96	20,5	0,44	2,17
		20,78			
		20,67			
	Acetato de nerilo	2,94	3,0	0,12	4,05
		3,17			
		2,98			
	<i>cis</i> -Metldihidro jasmonato	1,90	2,1	0,17	8,15
		2,21			
		2,18			
Acetato de farnesilo	0,89	0,89	0,03	3,37	
	0,86				
	0,92				
10	Sabineno	7,58	7,7	0,16	2,09
		7,89			
		7,66			
	Limoneno	27,17	27,4	0,24	0,88
		27,52			
		27,63			
	Acetato de nerilo	3,81	4,06	0,22	5,37
		4,21			
		4,16			
	<i>cis</i> -Metldihidro jasmonato	5,84	5,8	0,32	5,51
		5,41			
		6,03			
Acetato de farnesilo	1,23	1,23	0,06	4,88	
	1,17				
	1,29				
15	Sabineno	8,39	8,48	0,08	0,94
		8,54			
		8,51			
	Limoneno	28,61	28,7	0,11	0,39
		28,83			
		28,75			
	Acetato de nerilo	4,56	4,6	0,10	2,07
		4,72			
		4,55			
	<i>cis</i> -Metldihidro jasmonato	6,74	6,9	0,19	2,73
		7,11			
		6,86			
Acetato de farnesilo	1,99	2,06	0,07	3,40	
	2,07				
	2,13				

Continuación **Anexo 9**

		8,02			
	Sabineno	7,86	7,8	0,26	3,27
		7,52			
		28,12			
	Limoneno	28,45	28,3	0,18	0,62
		28,39			
		3,89			
30	Acetato de nerilo	4,18	4,1	0,16	4,03
		4,17			
		8,03			
	<i>cis</i> -Metldihidro jasmonato	8,27	8,1	0,22	2,68
		7,84			
		2,07			
	Acetato de farnesilo	2,14	2,06	0,08	3,89
		1,98			
		7,76			
	Sabineno	7,61	7,8	0,21	2,80
		8,04			
		31,09			
	Limoneno	30,25	30,8	0,45	1,45
		30,94			
		3,12			
60	Acetato de nerilo	2,96	3,1	0,14	4,67
		3,25			
		9,47			
	<i>cis</i> -Metldihidro jasmonato	9,63	9,57	0,09	0,91
		9,61			
		3,34			
	Acetato de farnesilo	3,42	3,35	0,07	2,10
		3,28			
		7,46			
	Sabineno	7,57	7,6	0,24	3,21
		7,93			
		34,37			
	Limoneno	34,52	34,45	0,08	0,22
		34,46			
		3,09			
120	Acetato de nerilo	2,84	3,0	0,13	4,38
		2,91			
		10,07			
	<i>cis</i> -Metldihidro jasmonato	10,45	10,2	0,24	2,42
		9,99			
		4,28			
	Acetato de farnesilo	4,43	4,35	0,08	1,72
		4,35			

**Anexo 10.** Estudio de la repetitividad de los  $t_R$  y los  $t_{RR}$  de los componentes del perfume "Tendre Kiss" de Lalique, aislados y analizados por HS-SPME/GC/FID.

Identificación	Tiempo de retención (min)			Tiempo de retención prom.		$\sigma$		CV (%)	
	$t_R$	$t_{Ristd}^*$	$t_{RR}$	$t_R$	$t_{RR}$	$t_R$	$t_{RR}$	$t_R$	$t_{RR}$
$\alpha$ -Pino	10,97	24,46	0,45	11,05	0,45	0,09	0,01	0,81	1,21
	10,97	24,44	0,45						
	11,02	24,63	0,46						
	11,15	24,55	0,45						
	11,14	24,58	0,45						
Sabineno	12,41	24,46	0,51	12,44	0,51	0,03	0,00	0,26	0,00
	12,41	24,44	0,51						
	12,45	24,63	0,51						
	12,48	24,55	0,51						
	12,47	24,58	0,51						
$\beta$ -Pino	12,99	24,46	0,53	13,02	0,53	0,03	0,00	0,22	0,00
	12,99	24,44	0,53						
	13,04	24,63	0,53						
	13,03	24,55	0,53						
	13,05	24,58	0,53						
$\beta$ -Mirceno	13,36	24,46	0,55	13,39	0,55	0,03	0,00	0,25	0,00
	13,36	24,44	0,55						
	13,40	24,63	0,55						
	13,39	24,55	0,55						
	13,44	24,58	0,55						
$\alpha$ -Felandreno	13,53	24,46	0,55	13,56	0,55	0,03	0,00	0,23	0,00
	13,53	24,44	0,55						
	13,57	24,63	0,55						
	13,58	24,55	0,55						
	13,60	24,58	0,55						

Continuación **Anexo 10.**

	13,76	24,46	0,56						
$\alpha$ -Terpineno	13,75	24,44	0,56						
	13,79	24,63	0,56	13,78	0,56	0,03	0,00	0,21	0,00
	13,80	24,55	0,56						
	13,82	24,58	0,56						
	14,03	24,46	0,57						
p-Cimeno*	14,02	24,44	0,57						
	14,06	24,63	0,57	14,06	0,57	0,04	0,00	0,29	0,00
	14,08	24,55	0,57						
	14,12	24,58	0,57						
	14,19	24,46	0,58						
Limoneno	14,19	24,44	0,58						
	14,21	24,63	0,58	14,21	0,58	0,02	0,00	0,18	0,00
	14,20	24,55	0,58						
	14,25	24,58	0,58						
	14,47	24,46	0,59						
$\gamma$ -Terpineno	14,46	24,44	0,59						
	14,51	24,63	0,59	14,50	0,59	0,03	0,00	0,20	0,00
	14,51	24,55	0,59						
	14,53	24,58	0,59						
	14,78	24,46	0,60						
$\alpha$ -Terpinoleno	14,78	24,44	0,60						
	14,82	24,63	0,60	14,81	0,60	0,03	0,00	0,23	0,00
	14,80	24,55	0,60						
	14,86	24,58	0,60						

Continuación **Anexo 10.**

	15,08	24,46	0,62						
	15,07	24,44	0,62						
$\alpha$ -Terpineol	15,11	24,63	0,62	15,10	0,62	0,04	0,00	0,24	0,00
	15,11	24,55	0,62						
	15,15	24,58	0,62						
	15,95	24,46	0,65						
	15,94	24,44	0,65						
Linalool	15,98	24,63	0,65	15,98	0,65	0,05	0,00	0,30	0,00
	15,99	24,55	0,65						
	16,06	24,58	0,65						
	16,34	24,46	0,67						
	16,33	24,44	0,67						
$\beta$ -Terpineol	16,37	24,63	0,67	16,36	0,67	0,03	0,00	0,17	0,00
	16,36	24,55	0,67						
	16,40	24,58	0,67						
	17,14	24,46	0,70						
	17,13	24,44	0,70						
$\delta$ -Elemene*	17,17	24,63	0,70	17,17	0,70	0,03	0,00	0,19	0,00
	17,18	24,55	0,70						
	17,21	24,58	0,70						
	18,61	24,46	0,76						
	18,60	24,44	0,76						
Nerol	18,64	24,63	0,76	18,64	0,76	0,05	0,00	0,25	0,00
	18,63	24,55	0,76						
	18,72	24,58	0,76						

Continuación **Anexo 10.**

	18,95	24,46	0,77						
Acetato de linalilo	18,94	24,44	0,77						
	18,98	24,63	0,77	19,96	0,77	0,03	0,00	0,15	0,00
	19,00	24,55	0,77						
	18,93	24,58	0,77						
	20,47	24,46	0,84						
Acetato de nerilo	20,47	24,44	0,84						
	20,50	24,63	0,83	20,50	0,84	0,03	0,00	0,16	0,53
	20,51	24,55	0,84						
	20,55	24,58	0,84						
	22,76	24,46	0,93						
N.I.	22,75	24,44	0,93						
	22,78	24,63	0,93	22,78	0,93	0,03	0,00	0,15	0,00
	22,78	24,55	0,93						
	22,84	24,58	0,93						
	22,84	24,46	0,93						
$\alpha$ -Copaeno	22,84	24,44	0,93						
	22,87	24,63	0,93	22,86	0,93	0,02	0,00	0,11	0,00
	22,86	24,55	0,93						
	22,90	24,58	0,93						
	23,23	24,46	0,95						
	23,25	24,44	0,95						
Geranil acetato	23,28	24,63	0,95	23,27	0,95	0,03	0,00	0,11	0,00
	23,30	24,55	0,95						
	23,29	24,58	0,95						

Continuación **Anexo 10.**

	24,59	24,46	1,00						
	24,54	24,44	1,01						
$\beta$ -Cariofileno	24,65	24,63	1,00	24,63	1,00	0,06	0,00	0,26	0,45
	24,66	24,55	1,00						
	24,70	24,58	1,00						
	24,66	24,46	1,01						
	24,65	24,44	1,01						
$\alpha$ -Santaleno	24,77	24,63	1,01	24,73	1,01	0,07	0,00	0,30	0,00
	24,77	24,55	1,01						
	24,81	24,58	1,01						
	25,01	24,46	1,02						
	24,96	24,44	1,02						
$\alpha$ -Humuleno	24,96	24,63	1,01	24,99	1,02	0,04	0,00	0,16	0,44
	24,98	24,55	1,02						
	25,06	24,58	1,02						
	25,10	24,46	1,02						
	25,06	24,44	1,02						
$\beta$ -Santaleno	25,01	24,63	1,02	25,07	1,02	0,06	0,00	0,24	0,00
	25,01	24,55	1,02						
	25,15	24,58	1,02						
	25,16	24,46	1,03						
	25,19	24,44	1,04						
Farneseno	25,27	24,63	1,03	25,23	1,03	0,06	0,00	0,23	0,33
	25,25	24,55	1,03						
	25,30	24,58	1,03						

Continuación **Anexo 10.**

	25,26	24,46	1,03						
δ-Amorfeno	25,30	24,44	1,03						
	25,39	24,63	1,03	25,4	1,03	0,11	0,01	0,44	0,53
	25,41	24,55	1,04						
	25,53	24,58	1,04						
	25,47	24,46	1,04						
N.I.	25,51	24,44	1,04						
	25,50	24,63	1,03	25,52	1,04	0,05	0,00	0,19	0,43
	25,50	24,55	1,04						
	25,60	24,58	1,04						
	26,38	24,46	1,08						
δ-Cadineno	26,40	24,44	1,08						
	26,46	24,63	1,07	26,44	1,08	0,05	0,00	0,19	0,41
	26,45	24,55	1,08						
	26,51	24,58	1,08						
	28,31	24,46	1,16						
Ftalato de dietilo	28,31	24,44	1,16						
	28,38	24,63	1,15	28,4	1,16	0,11	0,00	0,40	0,39
	28,40	24,55	1,16						
	28,59	24,58	1,16						
	28,70	24,46	1,17						
9-Dodeciltetradecahidro antraceno	28,71	24,44	1,17						
	28,86	24,63	1,17	28,8	1,17	0,10	0,01	0,34	0,47
	28,86	24,55	1,18						
	28,92	24,58	1,18						

Continuación **Anexo 10.**

	29,52	24,46	1,21						
<i>cis</i> -Dihidrojasmonato de	29,53	24,44	1,21						
metilo	29,64	24,63	1,20	29,59	1,21	0,08	0,01	0,26	0,45
	29,70	24,55	1,21						
	29,55	24,58	1,20						
	29,62	24,46	1,21						
$\alpha$ -Santalol	29,62	24,44	1,21						
	-	24,63	-	29,66	1,21	0,06	0,00	0,21	0,00
	29,64	24,55	1,21						
	29,75	24,58	1,21						
	29,82	24,46	1,22						
<i>trans</i> -Dihidrojasmonato de	29,82	24,44	1,22						
metilo	29,91	24,63	1,21	29,9	1,22	0,13	0,00	0,43	0,37
	30,03	24,55	1,22						
	30,11	24,58	1,22						
	29,93	24,46	1,22						
	29,93	24,44	1,22						
$\beta$ -Metilionona*	30,01	24,63	1,22	30,00	1,22	0,09	0,00	0,29	0,36
	30,00	24,55	1,22						
	30,14	24,58	1,23						
	30,03	24,46	1,23						
	30,03	24,44	1,23						
Salicilato de 2-etilhexilo	30,08	24,63	1,22	30,08	1,23	0,06	0,01	0,20	0,41
	30,09	24,55	1,23						
	30,18	24,58	1,23						

Continuación **Anexo 10.**

	30,28	24,46	1,24						
Pentadecenal*	30,28	24,44	1,24						
	30,34	24,63	1,23	30,33	1,24	0,05	0,00	0,18	0,36
	30,32	24,55	1,24						
	30,41	24,58	1,24						
	30,41	24,46	1,24						
Miristato de isopropilo	30,41	24,44	1,24						
	30,47	24,63	1,24	30,46	1,24	0,04	0,00	0,14	0,00
	30,50	24,55	1,24						
	30,49	24,58	1,24						
	31,67	24,46	1,29						
Acetato de (E)-4-	31,67	24,44	1,30						
Tetradecenilo	31,71	24,63	1,29	31,72	1,29	0,06	0,01	0,18	0,35
	31,72	24,55	1,29						
	31,81	24,58	1,29						
	32,62	24,46	1,33						
	32,62	24,44	1,33						
Acetato de farnesilo	32,66	24,63	1,33	32,65	1,33	0,03	0,00	0,10	0,00
	32,65	24,55	1,33						
	32,70	24,58	1,33						
	32,78	24,46	1,34						
	32,78	24,44	1,34						
Galaxolida	32,83	24,63	1,33	32,83	1,34	0,07	0,00	0,21	0,33
	32,83	24,55	1,34						
	32,95	24,58	1,34						

Continuación **Anexo 10.**

	32,86	24,46	1,34						
	32,86	24,44	1,34						
Ciclodecanolida*	32,91	24,63	1,34	32,92	1,34	0,08	0,00	0,25	0,00
	32,89	24,55	1,34						
	33,06	24,58	1,34						
	32,99	24,46	1,35						
	32,99	24,44	1,35						
N.I.	-	24,63	-	33,03	1,35	0,08	0,00	0,23	0,00
	33,12	24,55	1,35						
	-	24,58	-						
	33,36	24,46	1,36						
	33,34	24,44	1,36						
Brasilato de etileno	33,40	24,63	1,36	33,4	1,36	0,10	0,00	0,28	0,33
	33,40	24,55	1,36						
	33,58	24,58	1,37						
	-	24,46	-						
4-Metoxicinnamato de 2- etilhexilo	36,20	24,44	1,47						
	36,23	24,63	1,48	36,3	1,48	0,11	0,01	0,31	0,39
	-	24,55	-						
	36,41	24,58	1,48						

\*  $t_{R \text{ istd promedio}} = 24,53$ ;  $\sigma_{\text{istd}} = 0,08$ ;  $CV_{\text{istd}} (\%) = 0,33$

**Anexo 11.** Estudio de la repetitividad de las cantidades relativas (%) de los compuestos presentes en el perfume “Tendre Kiss” de Laliqne, por HS-SPME/GC/FID.

N° Pico	Identificación	Cantidad relativa (%)	Cantidad relativa prom. (%)	$\sigma$	CV%
1	$\alpha$ -Pinoeno	0,82	0,8	0,11	14,05
		0,89			
		0,75			
		0,60			
		0,76			
2	Sabineno	4,92	4,8	0,11	2,31
		4,81			
		4,95			
		4,73			
		4,70			
3	$\beta$ -Pinoeno	3,36	3,4	0,21	6,28
		3,47			
		3,44			
		3,51			
		2,99			
4	$\beta$ -Mirceno	3,15	3,0	0,14	4,67
		3,02			
		3,20			
		2,86			
		2,94			
5	$\alpha$ -Felandreno	1,67	1,7	0,17	10,09
		1,59			
		1,93			
		1,75			
		1,48			
6	$\alpha$ -Terpineno	0,26	0,22	0,03	12,06
		0,22			
		0,24			
		0,21			
		0,19			
7	p-Cimeno	0,94	1,0	0,14	13,96
		0,90			
		1,11			
		1,18			
		0,86			
8	Limoneno	24,49	24,0	0,44	1,81
		24,01			
		24,41			
		23,75			
		23,46			

Continuación **Anexo 11.**

9	$\gamma$ -Terpineno	0,30	0,27	0,04	13,18
		0,26			
		0,29			
		0,21			
		0,27			
10	$\alpha$ -Terpinoleno	2,29	2,3	0,14	5,94
		2,38			
		2,51			
		2,13			
		2,35			
11	$\alpha$ -Terpineol	4,06	4,0	0,17	4,15
		3,87			
		4,12			
		3,80			
		4,19			
12	Linalool	1,81	1,9	0,10	5,34
		1,93			
		2,05			
		1,86			
		1,81			
13	$\beta$ -Terpineol	3,34	3,3	0,11	3,44
		3,25			
		3,39			
		3,17			
		3,46			
14	$\delta$ -Elemeno	2,30	2,2	0,16	6,94
		2,09			
		2,11			
		2,47			
		2,29			
15	Nerol	3,89	3,9	0,20	5,12
		4,17			
		3,72			
		3,69			
		4,00			
16	Acetato de linalilo	5,06	5,2	0,30	5,86
		5,18			
		4,92			
		4,99			
		5,68			
17	Acetato de nerilo	5,19	5,2	0,30	5,79
		5,03			
		5,15			
		4,97			
		5,73			

Continuación **Anexo 11.**

		2,14			
		1,97			
18	N.I.	2,19	2,2	0,15	6,92
		2,15			
		2,39			
		1,88			
		2,01			
19	$\alpha$ -Copaeno	1,74	1,9	0,21	11,18
		1,63			
		2,16			
		1,68			
		1,54			
20	Geranil acetato	1,47	1,7	0,22	13,10
		1,81			
		2,03			
		1,82			
		2,11			
21	$\beta$ -Cariofileno	2,00	1,9	0,15	7,95
		1,75			
		1,81			
		1,06			
		0,85			
22	$\alpha$ -Santaleno	1,13	1,1	0,14	13,05
		1,07			
		1,23			
		0,93			
		1,09			
23	$\alpha$ -Humuleno	1,12	1,0	0,11	11,30
		0,86			
		0,94			
		0,24			
		0,31			
24	$\beta$ -Santaleno	0,26	0,29	0,04	12,85
		0,33			
		0,30			
		1,72			
		1,83			
25	Farneseno	1,71	1,8	0,11	6,46
		1,93			
		1,64			
		0,74			
		0,81			
26	$\delta$ -Amorfenno	0,63	0,8	0,10	12,64
		0,89			
		0,74			

Continuación **Anexo 11.**

		0,83			
		0,70			
27	N.I.	0,76	0,8	0,11	13,44
		0,98			
		0,91			
		2,52			
		2,84			
28	$\delta$ -Cadineno	2,36	2,5	0,22	8,98
		2,28			
		2,37			
		1,03			
		0,97			
29	Ftalato de dietilo	1,18	1,1	0,14	13,11
		1,24			
		0,91			
		0,94			
	9-Dodeciltetradecahidro	1,26			
30	antraceno	1,13	1,1	0,13	11,67
		1,00			
		1,16			
		0,92			
		0,79			
31	<i>cis</i> -Dihidrojasmonato de metilo	0,91	0,9	0,13	13,74
		0,84			
		1,12			
		0,86			
		0,75			
32	$\alpha$ -Santalol	-	0,8	0,10	12,40
		0,71			
		0,93			
		1,64			
		1,52			
33	<i>trans</i> -Dihidrojasmonato de metilo	1,63	1,7	0,11	6,34
		1,69			
		1,81			
		1,18			
	$\beta$ -Metilionona	1,24			
34		1,05	1,2	0,11	9,80
		1,01			
		1,26			
		1,04			
		1,18			
35	Salicilato de 2-etilhexilo	1,22	1,1	0,15	14,52
		0,93			
		0,87			

Continuación **Anexo 11.**

		0,74			
36	Pentadecenal	0,81			
		0,90	0,77	0,09	11,69
		0,74			
		0,66			
		1,41			
37	Miristato de isopropilo	1,36			
		1,43	1,36	0,06	4,57
		1,27			
		1,35			
		1,93			
38	Acetato de (E)-4-Tetradecenilo	2,04			
		2,11	2,0	0,11	5,42
		1,92			
		1,84			
		0,76			
39	Acetato de farnesilo	0,69			
		0,61	0,72	0,08	10,90
		0,74			
		0,82			
		1,08			
40	Galaxolida	0,93			
		0,91	1,0	0,12	11,42
		1,10			
		1,19			
		0,73			
41	Ciclododecanolida	0,60			
		0,84	0,8	0,11	14,13
		0,71			
		0,86			
		0,76			
42	N.I.	0,69			
		-	0,76	0,08	9,83
		0,84			
		-			
		1,19			
43	Brasilato de etileno	1,27			
		1,06	1,2	0,17	14,37
		0,99			
		1,42			
		-			
44	4-Metoxicinnamato de 2-etilhexilo	0,76			
		0,79	0,8	0,11	13,83
		0,73			
		0,98			

**Anexo 12.** Áreas promedio de los componentes de las notas del perfume “Tendre Kiss” de Lalique, extraídos por HS-SPME (PDMS/DVB, 65  $\mu$ m).

Identificación	5 seg		3 min	
	Área* (cuentas)	Área* prom.	Área* (cuentas)	Área* prom.
$\alpha$ -Pinoeno	1,32 1,41	1,36	4,07 4,18	4,13
Sabineno	1,33 1,41	1,37	5,01 4,89	4,95
$\beta$ -Pinoeno	-	-	1,46 1,31	1,39
$\beta$ -Mirceno	1,15 1,05	1,10	4,19 4,27	4,23
$\alpha$ -Felandreno	-	-	1,41 1,35	1,38
$\alpha$ -Terpineno	-	-	-	-
p-Cimeno	-	-	0,74 0,79	0,77
Limoneno	6,00 6,06	6,03	26,75 26,43	26,59
$\alpha$ -Terpineol	0,53 0,81	0,67	3,42 3,28	3,35
Linalool	-	-	0,45 0,47	0,46
Acetato de linalilo	-	-	0,41 0,63	0,52
Acetato de nerilo	-	-	0,86 0,72	0,79

\* Área en Cuentas x  $10^{-4}$

Continuación **Anexo 12**

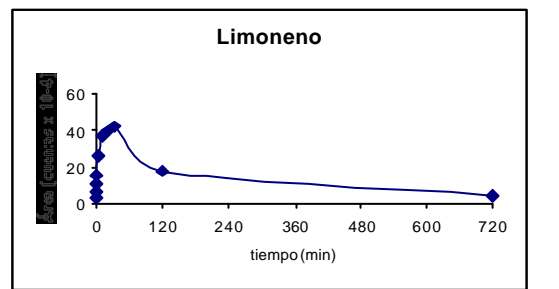
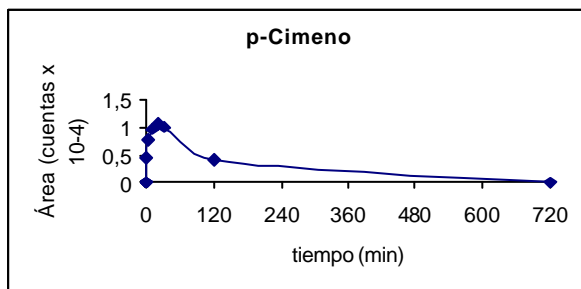
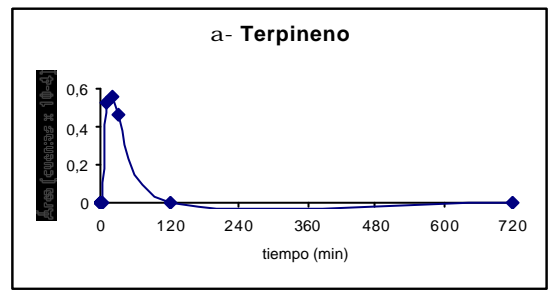
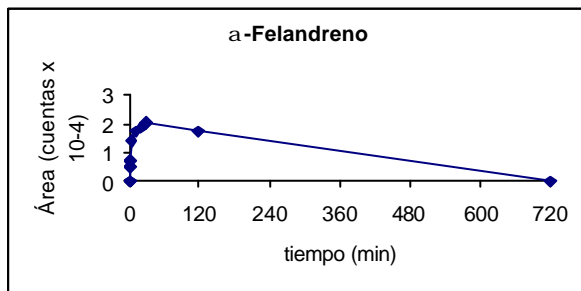
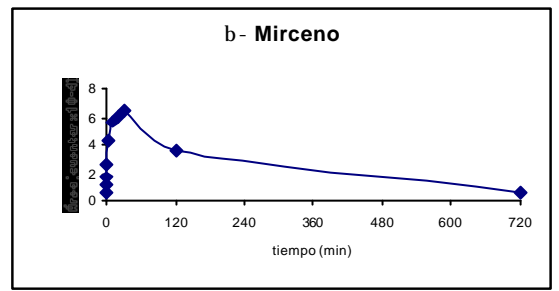
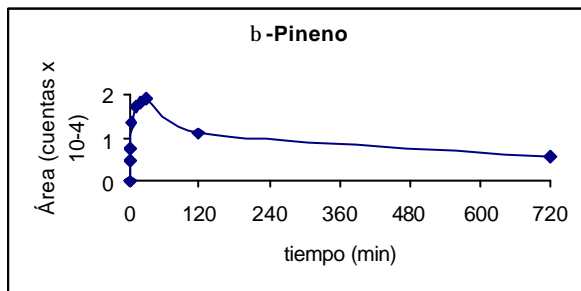
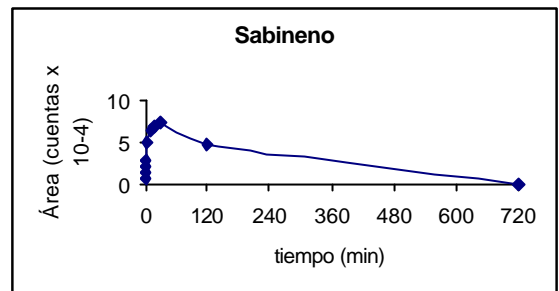
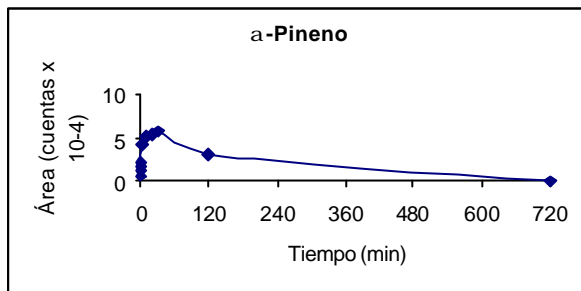
Identificación	10 min		30 min		60 min		2 h		12 h	
	Área* (cuentas)	Área* prom.	Área* (cuentas)	Área* prom.	Área* (cuentas)	Área* prom.	Área* (cuentas)	Área* prom.	Área* (cuentas)	Área* prom.
α-Pineno	5,24	5,20	5,39	5,42	5,80	5,80	3,11	3,04	-	-
	5,16		5,45		5,79		2,97			
Sabineno	6,32	6,28	6,85	6,82	7,25	7,31	4,92	4,86	-	-
	6,24		6,79		7,37		4,80			
β-Pineno	1,77	1,75	1,83	1,81	1,86	1,90	1,14	1,12	0,55	0,58
	1,73		1,79		1,94		1,10		0,61	
β-Mirceno	5,70	5,67	6,07	6,05	6,46	6,44	3,59	3,57	0,46	0,50
	5,64		6,03		6,41		3,54		0,53	
α-Felandreno	1,81	1,76	1,92	1,88	2,05	2,04	1,69	1,74	-	-
	1,70		1,84		2,02		1,80			
α-Terpineno	0,54	0,53	0,56	0,56	0,47	0,47	-	-	-	-
	0,54		0,55		-					
p-Cimeno	1,03	0,99	1,03	1,09	0,95	1,02	0,37	0,41	-	-
	0,95		1,15		1,08		0,44			
Limoneno	40,02	37,06	42,11	39,66	42,30	42,29	17,14	17,62	3,87	4,06
	34,11		37,20		42,26		18,09		4,24	
α-Terpineol	4,75	4,71	4,79	4,81	5,12	5,07	8,44	8,47	12,63	12,59
	4,67		4,82		5,02		8,49		12,55	
Linalool	0,51	0,56	0,59	0,61	0,60	0,61	4,15	4,19	25,06	24,41
	0,60		0,63		0,61		4,23		23,76	
Acetato de linalilo	0,43	0,48	0,70	0,66	1,13	1,09	3,57	3,58	19,84	20,36
	0,54		0,62		1,05		3,60		20,89	
Acetato de nerilo	0,97	1,00	1,13	1,09	1,51	1,44	6,09	5,93	22,12	22,31
	1,02		1,05		1,38		5,77		22,50	

Continuación **Anexo 12.**

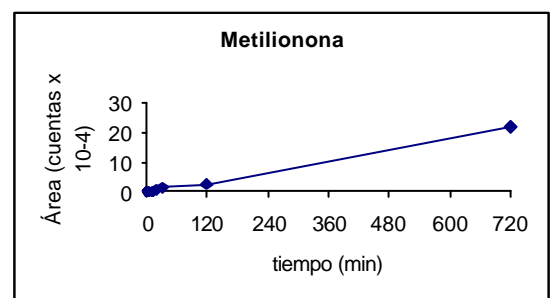
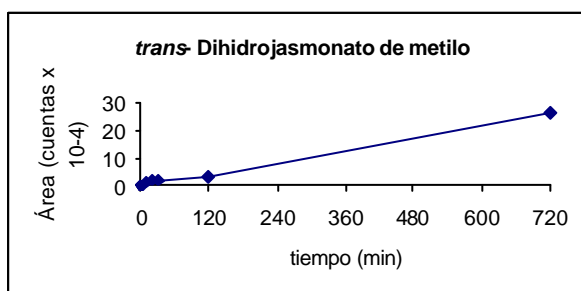
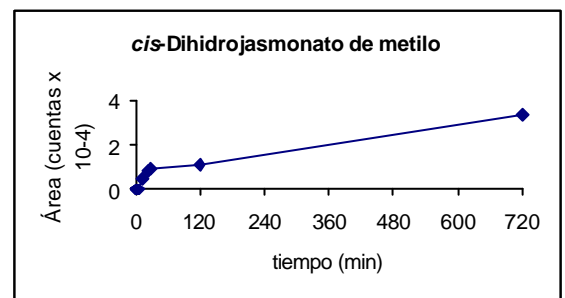
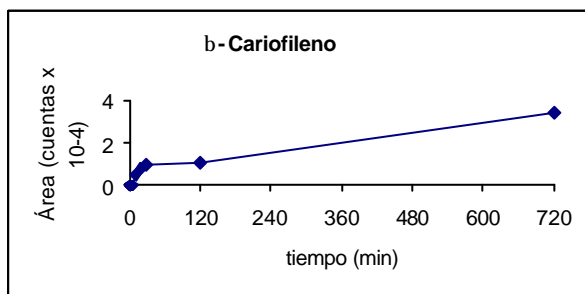
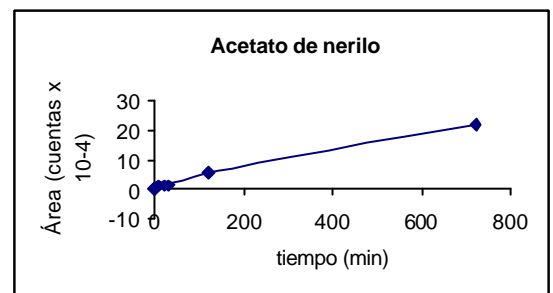
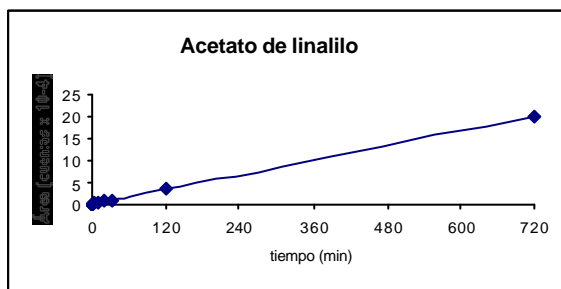
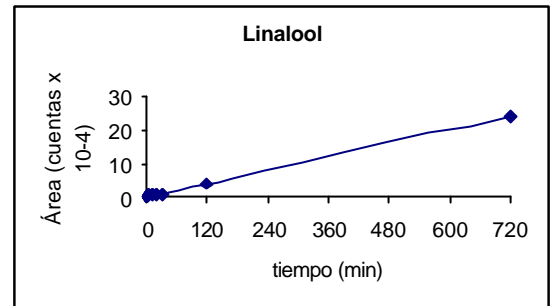
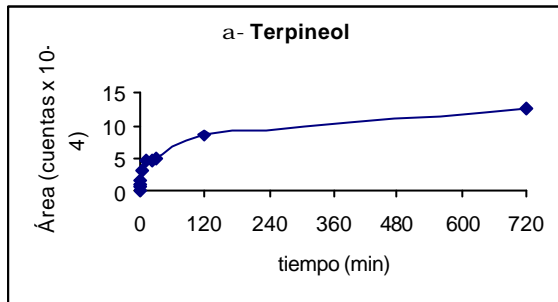
$\beta$ -Cariofileno	0,55	0,55	0,81	0,84	1,15	0,98	1,18	1,12	3,59	3,41
	-		0,88		0,82		1,06		3,23	
<i>cis</i> -Dihidrojasmonato de metilo	-	-	-	-	-	-	0,67	0,71	14,00	14,14
							0,75		14,29	
$\alpha$ -Santalol	-	-	-	-	-	-	-	-	14,62	14,56
									14,49	
<i>trans</i> -Dihidrojasmonato de metilo	1,28	1,30	1,96	2,01	2,13	2,14	3,21	3,18	27,03	26,62
	1,31		2,06		2,14		3,15		26,20	
$\beta$ -Metilionona	-	-	0,55	0,55	1,05	1,08	2,59	2,63	22,08	22,17
			-		1,12		2,67		22,26	
Salicilato de 2-etilhexilo	-	-	-	-	-	-	-	-	5,61	5,63
									5,65	
Pentadecenal	-	-	-	-	-	-	-	-	3,22	3,18
									3,15	
Miristato de isopropilo	-	-	-	-	-	-	-	-	1,51	1,49
									1,47	
Acetato de (E)-4-Tetradecenilo	-	-	-	-	-	-	-	-	4,53	4,29
									4,05	
Acetato de farnesilo	-	-	-	-	-	-	-	-	3,20	3,16
									3,13	
Galaxolida	-	-	-	-	-	-	-	-	2,54	2,61
									2,68	
Ciclodecanolida	-	-	-	-	-	-	-	-	3,51	3,36
									3,22	
Brasilato de etileno	-	-	-	-	-	-	-	-	2,75	2,82
									2,90	

Área en Cuentas x 10<sup>-4</sup>

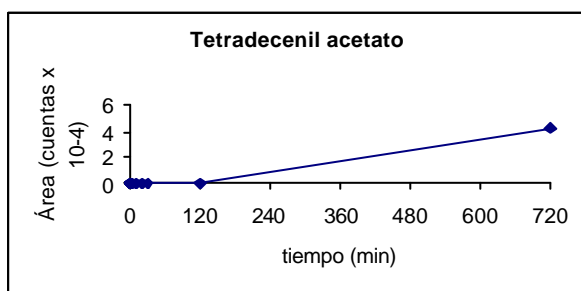
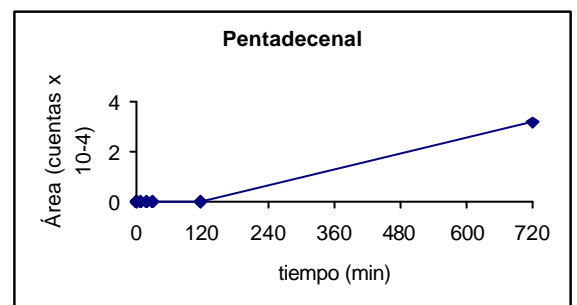
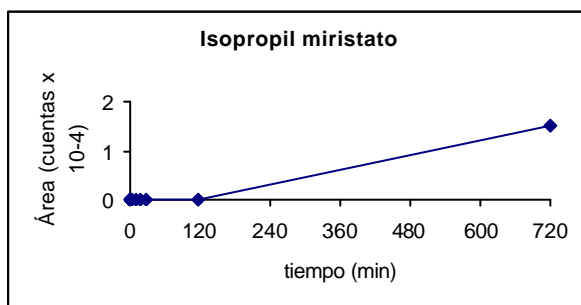
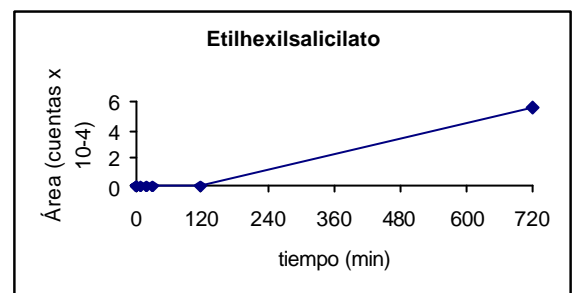
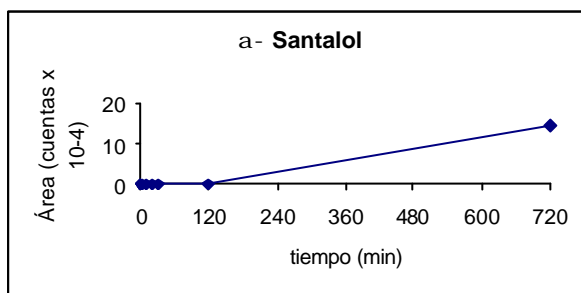
**Anexo 13.** Gráficas de área cromatográfica (cantidad relativa) Vs tiempo de evaporación de algunos componentes de las notas de salida, extraídos por HS-SPME.



**Anexo 14.** Gráficas de área cromatográfica (cantidad relativa) Vs tiempo de evaporación de algunos componentes de las notas medias extraídos por HS-SPME.



**Anexo 15.** Gráficas de área cromatográfica (cantidad relativa) Vs tiempo de evaporación de algunos componentes de las notas de fondo extraídos por HS-SPME.



**Anexo 16.** Estudio de áreas y áreas promedio de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique aplicado sobre una lámina de vidrio.

Identificación	0 min		30 min		60 min		90 min		120 min	
	Area* (cuentas)	Area* prom.	Area* (cuentas)	Area* prom.	Area* (cuentas)	Area* prom.	Area* (cuentas)	Area* prom.	Area* (cuentas)	Area* prom.
Limoneno	50,11		7,33		5,20		4,87		2,59	
	49,52	49,82	7,69	7,51	5,23	5,36	4,76	4,82	2,90	2,74
$\alpha$ -Terpinoleno	4,48		6,44		5,31		2,92		1,07	
	4,22	4,35	6,50	6,47	5,24	5,28	3,10	3,01	0,79	0,93
$\beta$ -Terpineol	6,99		3,12		-		-		-	
	6,63	6,81	2,86	2,99	0,47	0,47	-	-	-	-
Nerol	8,15		5,31		2,30		0,96		0,35	
	8,08	8,12	5,14	5,22	2,05	2,18	0,88	0,92	-	0,35
Acetato de linalilo	0,99		7,63		3,84		1,55		0,50	
	1,15	1,07	8,07	7,85	3,58	3,71	1,68	1,62	0,76	0,63
Acetato de nerilo	1,21		6,59		2,80		0,43		-	
	0,85	1,03	6,27	6,43	3,11	2,96	0,47	0,45	-	-
Ftalato de dietilo	3,94		0,61		0,83		1,03		1,87	
	3,76	3,85	0,89	0,75	0,75	0,79	0,59	0,81	1,61	1,74
<i>cis</i> -Dihidrojasmonato de metilo	3,13		1,46		1,74		2,01		5,52	
	3,01	3,07	1,72	1,59	1,97	1,86	1,78	1,90	5,41	5,46
$\alpha$ -Santalol	2,67		-		0,49		0,69		0,47	
	2,39	2,53	-	-	-	0,49	0,56	0,62	0,59	0,53
<i>trans</i> -Dihidrojasmonato de metilo	4,85		4,23		3,65		5,93		3,77	
	4,89	4,87	4,36	4,30	3,82	3,74	6,08	6,00	4,02	3,90
$\beta$ -Metilionona*	2,41		1,22		0,60		1,55		0,55	
	2,33	2,37	0,87	1,04	0,22	0,41	1,50	1,52	0,83	0,69
Salicilato de 2-etilhexilo	3,59		0,71		1,64		1,07		-	
	3,30	3,44	0,63	0,67	1,41	1,52	0,79	0,93	-	-

\* Área en Cuentas x 10<sup>-4</sup>

**Anexo 17.** Estudio de áreas y áreas promedio de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique aplicado sobre el antebrazo de la voluntaria de piel blanca B1.

Identificación	0 min		30 min		60 min		90 min		120 min	
	Área* (cuentas)	Area* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Area* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Area* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Area* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Area* prom (cuentas)
Limoneno	31,87	31,92	1,38	1,47	7,18	7,21	0,76	0,83	4,48	4,54
	31,98		1,56		7,24		0,90		4,60	
$\alpha$ -Terpinoleno	10,13	10,12	0,93	0,88	4,26	4,22	0,53	0,46	3,02	2,98
	10,10		0,82		4,17		0,39		2,93	
$\beta$ -terpineol	12,69	12,70	0,58	0,62	1,24	1,30	0,45	0,44	-	-
	12,71		0,67		1,35		0,42			
Nerol	26,10	26,13	0,99	1,03	1,67	1,65	-	-	-	-
	26,16		1,07		1,63					
Acetato de linalilo	39,39	39,52	2,05	1,98	2,28	2,38	0,22	0,19	-	-
	39,64		1,92		2,47		0,16			
Acetato de nerilo	39,42	39,68	0,55	0,52	0,99	1,04	-	-	-	-
	39,93		0,48		1,09					
Ftalato de dietilo	9,35	9,46	10,86	10,93	14,98	15,05	12,15	12,11	14,91	14,88
	9,58		11,00		15,12		12,07		14,84	
<i>cis</i> -Dihidrojasmonato de metilo	22,36	22,29	26,25	26,21	43,91	43,89	39,91	39,93	45,58	45,69
	22,22		26,17		43,87		39,95		45,80	
$\alpha$ -Santalol	5,54	5,61	5,74	5,61	-	-	-	-	-	-
	5,68		5,48							
<i>trans</i> -Dihidrojasmonato de metilo	45,34	45,46	4,91	4,88	49,68	49,66	34,72	34,69	44,01	43,96
	45,58		4,85		49,63		34,66		43,90	
$\beta$ -Metilionona	10,71	10,86	1,17	1,24	11,97	12,05	8,60	8,64	10,87	10,83
	11,02		1,30		12,13		8,67		10,79	
Salicilato de 2-etilhexilo	5,24	5,30	5,72	5,76	7,31	7,33	6,51	6,44	7,42	7,38
	5,36		5,80		7,35		6,36		7,34	

\* Área en Cuentas x 10<sup>-4</sup>

**Anexo 18.** Estudio de áreas y áreas promedio de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique aplicado sobre el antebrazo de la voluntaria de piel blanca B2.

Identificación	0 min		30 min		60 min		90 min		120 min	
	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)
Limoneno	17,39	17,25	10,02	10,07	7,76	7,78	3,88	3,96	2,55	2,50
	17,11		10,12		7,79		4,04		2,47	
$\alpha$ -Terpinoleno	20,10	20,03	11,74	11,82	5,01	5,07	5,81	5,65	2,63	2,51
	19,16		11,91		5,13		5,49		2,39	
$\beta$ -terpineol	3,98	3,96	1,45	1,41	1,09	1,10	-	-	-	-
	3,94		1,37		1,12		-		-	
Nerol	11,68	11,74	6,63	6,56	2,23	2,21	-	-	-	-
	11,80		6,49		2,19		-		-	
Acetato de linalilo	16,51	16,48	11,25	11,30	0,45	0,43	0,58	0,76	-	-
	16,46		11,34		0,41		0,93		-	
Acetato de nerilo	7,33	7,31	5,02	4,97	6,86	6,82	-	-	-	-
	7,29		4,92		6,77		-		-	
Ftalato de dietilo	12,67	12,65	7,99	8,04	6,92	6,83	7,82	7,80	3,84	3,90
	12,63		8,08		6,74		7,79		3,95	
<i>cis</i> -Dihidrojasmonato de metilo	24,11	24,13	18,87	18,86	16,07	15,95	18,95	18,93	9,11	9,26
	24,15		18,86		15,83		18,91		9,42	
$\alpha$ -Santalol	4,62	4,59	4,13	4,05	3,29	3,37	3,61	3,74	1,69	1,71
	4,56		3,97		3,45		3,86		1,73	
<i>trans</i> -Dihidrojasmonato de metilo	37,00	36,93	31,45	31,40	25,87	26,00	28,15	28,07	11,27	11,36
	36,86		31,36		26,12		27,99		11,44	
$\beta$ -Metilionona	8,77	8,76	7,57	7,50	6,28	6,25	6,70	6,78	2,91	2,86
	8,74		7,42		6,22		6,85		2,80	
Salicilato de 2-etilhexilo	2,89	2,81	3,93	3,89	4,60	4,64	5,27	5,21	2,33	2,30
	2,73		3,85		4,67		5,15		2,28	

\* Área en Cuentas x 10<sup>-4</sup>

**Anexo 19.** Estudio de áreas y áreas promedio de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique aplicado sobre el antebrazo de la voluntaria de piel trigueña T1.

Identificación	0 min		30 min		60 min		90 min		120 min	
	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)
Limoneno	38,11	37,95	4,75	4,73	3,04	3,11	2,25	2,19	0,94	0,97
	37,79		4,71		3,18		2,13		1,00	
$\alpha$ -Terpinoleno	8,23	8,25	3,11	3,08	3,20	3,26	2,51	2,49	1,25	1,16
	8,27		3,04		3,31		2,47		1,08	
$\beta$ -terpineol	6,82	6,74	-	-	-	-	-	-	-	-
	6,65									
Nerol	12,58	12,61	2,42	2,35	-	-	-	-	-	-
	12,64		2,28							
Acetato de linalilo	18,59	18,57	4,53	4,48	-	-	-	-	-	-
	18,55		4,44							
Acetato de nerilo	11,73	11,68	0,80	0,74	-	-	-	-	-	-
	11,62		0,68							
Ftalato de dietilo	2,33	2,35	11,45	11,41	8,05	8,14	13,23	13,16	6,81	6,99
	2,37		11,37		8,22		13,08		7,17	
<i>cis</i> -Dihidrojasmonato de metilo	4,98	4,91	29,16	29,08	20,21	20,17	40,43	40,56	20,54	20,26
	4,84		28,99		20,13		40,69		19,97	
$\alpha$ -Santalol	1,21	1,15	4,57	4,61	3,17	3,18	-	-	2,58	2,64
	1,09		4,65		3,18		2,69			
<i>trans</i> -Dihidrojasmonato de metilo	12,27	12,33	43,76	43,91	25,92	25,70	39,92	39,88	18,85	18,86
	12,39		44,06		25,49		39,85		18,86	
$\beta$ -Metilionona	2,88	2,82	10,13	10,04	5,91	6,03	9,47	9,36	4,62	4,58
	2,75		9,96		6,15		9,24		4,54	
Salicilato de 2-etilhexilo	0,46	0,46	8,15	8,09	5,03	4,98	5,99	6,03	3,49	3,37
	-		8,03		4,94		6,07		3,25	

\* Área en Cuentas x 10<sup>-4</sup>

**Anexo 20.** Estudio de áreas y áreas promedio de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique aplicado sobre el antebrazo de la voluntaria de piel trigueña T2.

Identificación	0 min		30 min		60 min		90 min		120 min	
	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)
Limoneno	40,62	40,46	6,89	6,96	5,17	5,20	3,73	3,86	1,18	1,24
	40,29		7,02		5,22		3,98		1,30	
$\alpha$ -Terpinoleno	9,01	9,12	5,71	5,77	6,13	6,07	4,91	4,73	1,72	1,63
	9,24		5,83		6,01		4,55		1,54	
$\beta$ -terpineol	9,03	8,97	-	-	-	-	-	-	-	-
	8,91									
Nerol	15,30	15,28	4,24	4,15	1,64	1,61	-	-	-	-
	15,26		4,06		1,58					
Acetato de linalilo	21,85	21,82	7,11	7,06	2,92	2,98	-	-	-	-
	21,78		7,00		3,05					
Acetato de nerilo	14,66	14,69	1,27	1,34	-	0,48	-	-	-	-
	14,72		1,42		0,48					
Ftalato de dietilo	3,04	3,06	7,85	7,98	5,87	5,95	9,04	9,11	6,19	6,24
	3,09		8,11		6,03		9,18		6,28	
<i>cis</i> -Dihidrojasmonato de metilo	5,82	5,79	24,41	24,33	14,45	14,34	39,96	39,70	25,43	25,35
	5,76		24,25		14,22		39,45		25,27	
$\alpha$ -Santalol	1,51	1,59	4,96	5,07	2,76	2,83	-	-	1,20	1,13
	1,67		5,18		2,90		1,06			
<i>trans</i> -Dihidrojasmonato de metilo	15,23	15,29	39,67	39,84	25,33	25,36	35,90	37,98	20,55	20,64
	15,35		40,03		25,38		40,05		20,74	
$\beta$ -Metilionona	3,60	3,57	11,78	11,71	5,94	5,88	8,69	8,62	5,21	5,14
	3,54		11,64		5,81		8,54		5,07	
Salicilato de 2-etilhexilo	1,38	1,30	5,10	5,16	2,82	2,74	5,27	5,12	4,54	4,51
	1,21		5,21		2,67		4,96		4,48	

\* Área en Cuentas x 10<sup>-4</sup>

**Anexo 21.** Estudio de áreas y áreas promedio de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique aplicado sobre el antebrazo de la voluntaria de piel morena M1.

Identificación	0 min		30 min		60 min		90 min		120 min	
	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Área* prom (cuentas)
Limoneno	44,53	44,79	4,07	4,13	5,90	5,86	-	-	4,55	4,57
	45,05		4,19		8,81		4,59			
$\alpha$ -Terpinoleno	5,49	5,47	1,55	1,62	2,95	2,98	-	-	2,51	2,63
	5,45		1,68		3,01		2,75			
$\beta$ -terpineol	7,61	7,56	-	-	-	-	-	-	-	-
	7,50									
Nerol	12,33	12,37	1,68	1,49	0,43	0,58	-	-	-	-
	12,41		1,30		0,72					
Acetato de linalilo	18,64	18,39	2,73	2,77	1,12	0,96	-	-	-	-
	18,14		2,81		0,80					
Acetato de nerilo	18,02	17,96	-	-	-	0,53	-	-	-	-
	17,90		0,53							
Ftalato de dietilo	2,63	2,61	6,29	6,23	8,95	8,97	4,73	4,71	4,36	4,38
	2,59		6,17		8,99		4,69		4,41	
<i>cis</i> -Dihidrojasmonato de metilo	5,32	5,34	15,45	15,36	19,14	19,45	15,07	15,28	13,98	13,76
	5,35		15,28		19,76		15,49		13,53	
$\alpha$ -Santalol	1,48	1,40	2,81	2,82	4,08	3,95	4,85	4,82	3,27	3,42
	1,31		2,82		3,82		4,80		3,56	
<i>trans</i> -Dihidrojasmonato de metilo	12,99	12,78	26,91	26,56	28,73	28,79	17,23	17,38	15,89	15,50
	12,58		26,22		28,85		17,52		15,12	
$\beta$ -Metilionona	3,05	3,07	5,96	6,04	7,15	7,01	4,81	4,79	4,45	4,41
	3,09		6,11		6,87		4,77		4,37	
Salicilato de 2-etilhexilo	1,23	1,27	2,78	2,86	3,96	3,99	2,88	2,96	3,11	3,09
	1,31		2,94		4,02		3,03		3,07	

\* Área en Cuentas x 10<sup>-4</sup>

**Anexo 22.** Estudio de áreas y áreas promedio de los componentes del perfume “Tendre Kiss” de Lalique aplicado sobre el antebrazo de la voluntaria de piel morena M2.

Identificación	0 min		30 min		60 min		90 min		120 min	
	Área* (cuentas)	Area* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Area* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Area* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Area* prom (cuentas)	Área* (cuentas)	Area* prom (cuentas)
Limoneno	41,37	41,06	1,10	1,08	3,62	3,56	-	-	2,26	2,23
	40,74		1,05		3,49		2,20			
$\alpha$ -Terpinoleno	7,40	7,31	0,59	0,66	1,65	1,72	-	-	1,07	1,19
	7,22		0,74		1,80		1,31			
$\beta$ -terpineol	8,39	8,43	0,31	0,33	-	-	-	-	-	-
	8,47		0,35							
Nerol	13,91	13,74	1,08	1,13	0,91	1,00	-	-	-	-
	13,58		1,18		1,08					
Acetato de linalilo	19,23	19,32	1,99	2,08	1,83	1,81	-	-	-	-
	19,41		2,16		1,79					
Acetato de nerilo	12,89	12,97	-	0,42	-	-	-	-	-	-
	13,05		0,42							
Ftalato de dietilo	2,99	2,93	7,67	7,62	4,96	5,00	5,41	5,37	4,55	4,52
	2,87		7,58		5,05		5,33		4,50	
<i>cis</i> -Dihidrojasmonato de metilo	5,15	5,20	19,34	19,42	11,07	11,10	13,65	13,80	10,73	10,68
	5,24		19,50		11,13		13,96		10,62	
$\alpha$ -Santalol	1,09	1,16	3,17	3,22	2,01	2,12	2,09	2,06	1,69	1,75
	1,22		3,26		2,24		2,02		1,81	
<i>trans</i> -Dihidrojasmonato de metilo	11,31	11,23	26,21	26,23	18,37	18,38	16,28	16,31	14,63	14,62
	11,15		26,25		18,40		16,34		14,62	
$\beta$ -Metilionona	2,60	2,67	6,03	6,11	4,29	4,33	3,95	3,91	3,56	3,49
	2,74		6,19		4,37		3,87		3,42	
Salicilato de 2-etilhexilo	0,96	1,04	3,55	3,49	2,15	2,10	2,38	2,44	2,04	1,91
	1,11		3,43		2,06		2,49		1,78	

\* Área en Cuentas x 10<sup>-4</sup>