

300627

33

203



**UNIVERSIDAD LA SALLE**

ESCUELA DE QUIMICA

Incorporada a la U. N. A. M.

**EMPLEO DEL SISTEMA ACOPLADO CG/EM  
PARA LA DETERMINACION DE  
CARBAMATO DE ETILO  
EN BEBIDAS ALCOHOLICAS**

**TESIS PROFESIONAL**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A  
**ROSALINA VAZQUEZ ZAVALA**

DIRECTORA DE TESIS : Q. F. B. LETICIA LINARES ESTUDILLO

MEXICO, D. F.

1993

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

# INDICE

## I. Introducción

## II. Carbamato de Etilo.

|   |   |
|---|---|
| II.1 Generalidades.                             | 1 |
| II.2 Producción.                                | 1 |
| II.3 Toxicología.                               | 1 |
| II.4 Métodos de análisis en bebidas alcohólicas | 1 |

## III. Cromatografía de Gases.

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| III.1 Generalidades.            | 7  |
| III.2 Columnas Cromatográficas. | 11 |
| III.3 Desventajas.              | 11 |

## IV. Espectrometría de Masas.

|                     |    |
|---------------------|----|
| IV.1 Generalidades. | 13 |
| IV.2 Desventajas.   | 16 |

## V. Razones fundamentales para acoplar el sistema CG/EM/SD.

17

## VI. Procesos de fragmentación.

|  |    |
|--|----|
|  | 18 |
| VI.1 Fragmentaciones simples           | 19 |
| VI.1.1 Energía del enlace              | 19 |
| VI.1.2 Estabilidad del ion             | 19 |
| VI.2 Fragmentaciones multicentro.      | 20 |
| VI.2.1 Rearreglo Mc Lafferty           | 20 |
| VI.2.2 Fragmentación retro Diels-Alder | 20 |
| VI.2.3 Reacciones de eliminación       | 20 |

## VII. Interpretación de espectros.

|  |    |
|--|----|
| VII.1 Reglas de interpretación de espectros. | 21 |
| VII.1.1 Elementos A+2                        | 22 |

|   |    |
|---|----|
| VII.1.2 Elementos A+1   | 23 |
| VII.1.3 Elementos A   | 23 |
| VII.2 Procedimiento recomendado para el<br>cálculo de la composición elemental. | 23 |
| VII.3 Regla del Nitrógeno.  | 24 |
| <b><u>VIII. Espectrometría de Masas Cuantitativa ( SIM ).</u></b>               |    |
|   | 26 |
| VIII.1 Selectividad   | 27 |
| VIII.2 Sensibilidad   | 27 |
| VIII.3 Calibración  | 27 |
| <b><u>IX. Condiciones Generales.</u></b>  |    |
|   | 29 |
| <b><u>X. Desarrollo.</u></b>  |    |
|   | 29 |
| X.1 Espectros de masas  | 30 |
| X.2 Cromatogramas   | 56 |
| X.3 Curva de Calibración Estándar   | 60 |
| <b><u>XI. Análisis de las muestras.</u></b>                                     |    |
|   | 61 |
| XI.1 Cromatogramas  | 61 |
| XI.2 Curva de Calibración de Tequilas Fortificados                              | 74 |
| <b><u>XII. Desarrollo del método.</u></b>                                       |    |
|   | 70 |
| XII.1 Reproducibilidad  | 74 |
| XII.2 Precisión del método  | 75 |
| <b><u>XIII. Conclusiones.</u></b>   |    |
|   | 77 |
| <b><u>XIV. Bibliografía.</u></b>  |    |

## INTRODUCCIÓN

Conforme han transcurrido los años, la industria vinícola ha tenido un notable auge tanto en producción, como en la calidad de sus productos. Es a raíz de las investigaciones enológicas y en particular de la aplicación de los métodos y procedimientos de la química analítica que se han podido alcanzar esas metas de calidad; lo que se ha traducido en un importante desarrollo agroindustrial.

En el caso particular de México, estos estudios han permitido romper con la dependencia tecnológica que se tenía del exterior, para con ello constituir una industria nacional.

Dentro de los problemas tecnológicos aún no resueltos, se encuentra el de la generación de carbamato de etilo (producto tóxico e indeseable), en algún punto de la producción de bebidas alcohólicas. Este es un problema que desde 1985 plantearon países como Japón, España y Canadá. Es aquí donde el empleo de las más modernas metodologías es importante, primero para determinar con precisión el contenido de esta sustancia en las diversas bebidas alcohólicas y en una segunda etapa para poderlo controlar.

Es dentro del contexto del primer punto, la determinación precisa del contenido de carbamato de etilo, que en este trabajo se propone el empleo de sistemas acoplados Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (CG/EM), que se considera tienen los atributos necesarios -sensibilidad, especificidad y precisión- para dar una respuesta adecuada al problema.

La producción y exportación de bebidas alcohólicas se convierte día a día en una de las ramas industriales más importantes del país. Durante el periodo de 1970-80, la producción de la industria vitivinícola en México aumentó. Si analizamos los datos proporcionados por la Asociación Nacional de Vitivinicultores (24) de producción y exportación de 1970-80:

### Evolución del Mercado de la Industria Vitivinícola

Millones de litros

| Año  | 1970 | 1971 | 1972 | 1973 | 1974 | 1975 | 1976 | 1977 | 1978 | 1979 | 1980 |
|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Prod | 42.5 | 45.5 | 47.8 | 54.8 | 59.8 | 61.7 | 70.2 | 91.1 | 93.2 | 122  | 152  |
| Exp  | 1.0  | 1.8  | 0.8  | 2.9  | 9.1  | 0.2  | 0.7  | 2.9  | 1.7  | 0.9  | 0.8  |

Nota: Se desconocen los datos actuales, debido a que el Inst. Nal. de Estadística e Informática (INEGI) aún no ha publicado los periodos 1980-90 y 1991-92.

podemos ver que las exportaciones aunque fueron irregulares, promediaron 2.1 millones de litros anuales durante el periodo.

Cuando los productos mexicanos salen a competir a los mercados internacionales, requieren de cumplir y comprobar que cumplen con las reglamentaciones internacionales, por lo que se realizó una investigación sobre las Normas que existen sobre el carbamato de etilo en bebidas alcohólicas, encontrando que no existe en México alguna Norma que trate sobre los límites permisibles de éste compuesto, razón por la cual se considera necesario establecer un método analítico confiable que permita determinar a éste compuesto en pequeñas cantidades (ppm) para llevar un mayor control de calidad en bebidas alcohólicas nacionales, y con ello cumplir en sobrada manera con la legislación internacional.

**OBJETIVO :**

Desarrollar un método para la determinación de carbamato de etilo en bebidas alcohólicas.

## PARTE TEÓRICA

### CARBAMATO DE ETILO.

#### a) Generalidades.

El carbamato de etilo también conocido como uretano (P.M. 89.09) cuya

estructura molecular es  $\text{NH}_2\overset{\text{O}}{\underset{|}{\text{C}}}\text{-O-CH}_2\text{CH}_3$ , es un éster del ácido carbámico. Es un sólido cristalino blanco cuyo p.f. es de 48°C.-50°C y su punto de ebullición de 182°C-184°C, sublima, es higroscópico y combustible. Es muy soluble en agua y generalmente es menos soluble en solventes orgánicos ( 23 ).

#### b) Producción.

Aunque desde 1985 se tienen resultados confiables sobre la formación del carbamato de etilo en bebidas alcohólicas ( 7 ), los mecanismos de su formación en éstas no son muy claros. Se encontró que de éstos mecanismos y la justificación de su presencia en bebidas alcohólicas, la de mayor interés además de la vía de la urea, es la etanolisis del carbamil fosfato ya que éste es sintetizado específicamente por *Sacharomyces Cerevisiae* ( 3 ), levadura utilizada en todas las fermentaciones alcohólicas. Se ha reportado que el LD50 de éste compuesto en ratones es de 2.2g/kg.

#### c) Toxicología.

Los productos de descomposición son tóxicos ( monóxido de carbono, dióxido de carbono, y óxidos de nitrógeno ), por lo que se requiere un manejo y almacenamiento cuidadoso. En ingestión aguda es peligroso, al igual que si se inhala o se absorbe a través de la piel, ya que causa irritación, depresión, náusea y vómito. Como efectos crónicos además de ser carcinógeno, provoca depresión de la médula ósea y ocasionalmente una degeneración neuronal en el cerebro ( 1 ).

#### d) Métodos de análisis del carbamato de etilo en bebidas alcohólicas

De la revisión bibliográfica realizada, se encontraron tan sólo 12 métodos de análisis de carbamato de etilo en bebidas alcohólicas por Cromatografía de Gases, donde todos los autores coinciden en el tipo de columna (DB Wax y Carbowax son dos marcas del mismo producto).



**Cuadro sinóptico de las distintas metodologías empleadas  
para determinar el carbamato de etilo en bebidas alcohólicas**

| Ref | Extracción/<br>Recuperación             | Purificación                    | Est. Interno  | Columna      | Detector           | EM | ppb<br>%c.v. |
|-----|---|---------------------------------|---|--------------|--------------------|----|--------------|
| 23  | CHCl <sub>3</sub> /80%                  | ----                            | no  | DB Wax20M    | HALL               | no | 14           |
| 2a) | eter etílico                            | ----                            | Octanol-3   | Carbowax20M  | NPD                | no | ---          |
| 23  | eter etílico/90%                        | ----                            | no  | Carbowax20M  | NPD                | no | 10%          |
| 2b) | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>         | Florisil                        | no  | Carbowax52CB | TEA                | si | 100          |
|     |   |                                 |   |              | HALL<br>EM         |    |              |
| 2c) | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /91-95% | no                              | no  | DB Wax 30W   | NP                 | no | 3.3%         |
|     | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /87-92% |                                 |   |              | HALL               |    | 2.5%         |
|     |   |                                 |   |              |                    |    | 5            |
| 2d) | CHCl <sub>3</sub>                       | no                              | carb. metilo  | DB Wax20M    | ----               | si | ---          |
| 2e) | CHCl <sub>3</sub>                       | no                              | no  | DB Wax20M    | HALL               | si | 21%          |
| 2f) | no                                      | no                              | cicloheptanona<br>undecanoato de metilo<br>nitrobenceno         | Carbowax20M  | EM                 | si | 1-2          |
| 23  | eter etílico                            | no                              | carb. metilo  | Carbowax20M  | NPD                | no | 10%          |
| 2g) | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /97%    | Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | carb. etilo<br>marcado<br>con <sup>13</sup> C y <sup>15</sup> N | DB Wax 30W   | TEA<br>FT-IR<br>EM | si | 1%<br>8      |
| 2h) | CHCl <sub>3</sub> /96%                  | no                              | no  | DB Wax 30W   | FID<br>EM          | si | 64           |
| 2i) | eter dietílico                          | Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | carb. propilo   | DB Wax 30W   | EM                 | si | 11           |

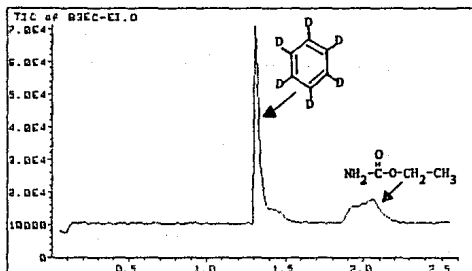
Al tratar de elegir el método más conveniente, surgieron los siguientes hechos:

- El sistema de extracción con cloruro de metileno o cloroformo no es mejor que el éter etílico ya que el primero presenta varios inconvenientes: emulsiones, daño al detector de Hall, a la perla de rubidio del NPD y acorta la vida de la columna (23).
- Algunos autores no indican en sus trabajos el límite de detección (ppb o ppm) y/o el coeficiente de variación (c.v.).

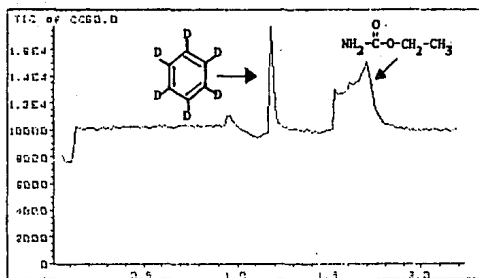
\*Estos métodos de análisis reportan que, usando columnas Carbowax a diferentes temperaturas, se obtienen picos bien definidos y con una buena resolución (23). Se demostró que las columnas Carbowax poseen una capacidad de separación excelente, pero que a las temperaturas en que trabajó, según lo reportado, el carbamato de etilo se condensa o se descompone en la fase estacionaria como se puede apreciar en los siguientes cromatogramas:

Condiciones:

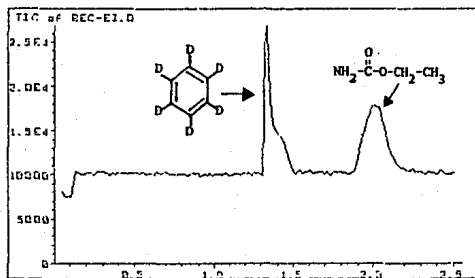
- Inyección de carbamato de etilo y benceno hexadeuterado disueltos en agua.
- Columna Carbowax 20M
- Fase estacionaria: polietilén glicol
- Temperatura isotérmica, marcada debajo de cada cromatograma.



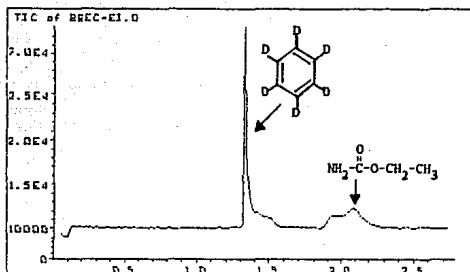
Columna Carbowax a 190°C



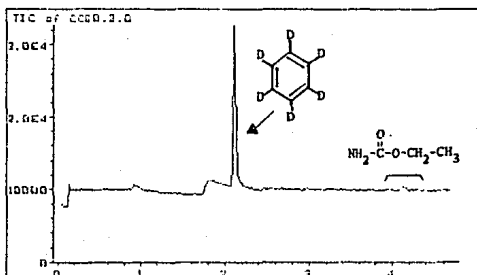
Column Carbowax a 100°C



Column Carbowax a 90°C



Column Carbowax a 60°C

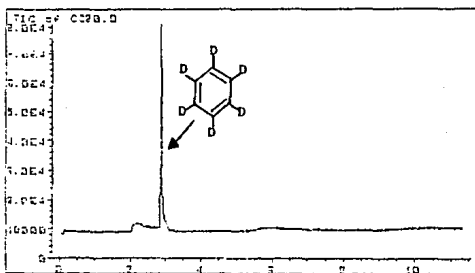


Column Carbowax a 40°C

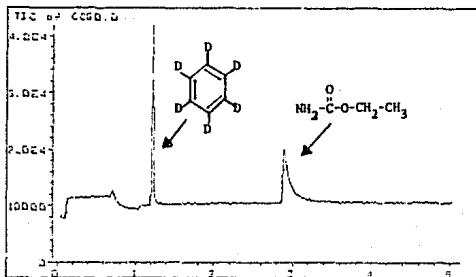
La idea de llegar a detectar hasta 0.001 ppm de carbamato de etilo en bebidas alcohólicas se descartó, ya que el autor que asegura éste hecho (2f) ha utilizado la Columna Carbowax que como pudimos demostrar no funciona.

Por éstos motivos los métodos que han sido publicados hasta ahora no se consideran reproducibles, precisos y por consiguiente confiables.

Después de haber utilizado otras columnas (como la Metil Fenil Silicón), se decidió hacer uso de la columna Metil Silicón, fase estacionaria de mayor selectividad que permitió obtener picos bien resueltos.



Columna Metil Fenil Silicón a 60°C



Columna Metil Silicón a 60°C

## CROMATOGRAFÍA DE GASES.

### Generalidades.

La cromatografía es un proceso fisicoquímico de separación basado en la distribución de los componentes de una muestra entre dos fases. Estas fases son: una fase estacionaria ( que puede ser un sólido o una delgada película líquida que está soportada por un sólido ), y una fase móvil ( ya sea un gas o líquido ) que se filtra a través de la fase estacionaria y alrededor de la misma . Si la fase móvil es un gas, se trata de cromatografía de gases o si la fase móvil es un líquido, se trata de cromatografía de líquidos. Al igual se clasifica a la fase estacionaria: CGS es cromatografía gas-sólido, es decir, que como fase móvil tenemos un gas y como fase estacionaria tenemos un sólido.

La cromatografía de gases ( CG ) se fundamenta en la afinidad de dos compuestos, en donde uno de ellos se encuentra como fase estacionaria y el otro compuesto se encuentra presente con la fase móvil Fig ( 1 ). El compuesto que está en la fase móvil interacciona con la fase estacionaria adsorbiéndose, para después desorberse, de tal modo que se establece un equilibrio adsorción-desorción, teniendo en cuenta que éste compuesto que se encuentra en la fase móvil al adsorberse en la fase estacionaria se retrasa en el viaje que llevan los demás compuestos que están en el gas portador. Así, al haber mayor número de equilibrios presentes, habrá mayor retraso del compuesto para migrar de la columna.

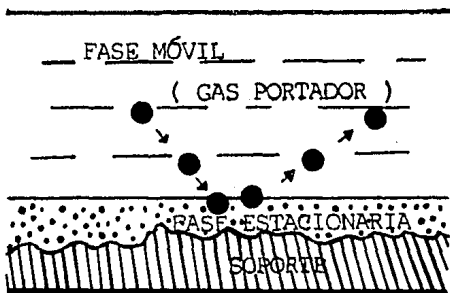


Fig. ( 1 ). Principio de las separaciones cromatográficas.

Cuando se utilizan mezclas que contienen una variedad de componentes con afinidad diferente por la fase estacionaria, es conveniente que éstas fases estacionarias tengan una longitud que permita establecer varios equilibrios y lograr separar a los componentes de la mezcla. Así, para lograr una longitud adecuada de la fase estacionaria, ésta fase está apoyada sobre un tubo flexible que a su vez permite el paso de la fase móvil. Este tubo, que puede ser de acero inoxidable, vidrio o sílica fundida, se le conoce con el nombre de "columna cromatográfica" y es la pieza más importante de un cromatógrafo de gases, ya que permite la separación de los componentes de una mezcla.

Otros elementos que son necesarios para ésta operación son, Figura ( 2 ) :

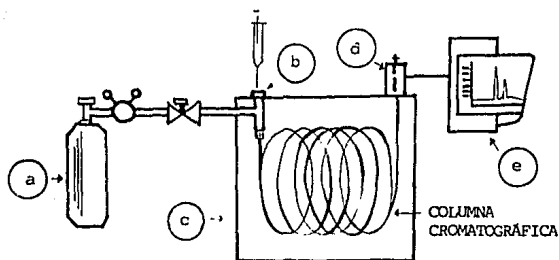


Figura ( 2 ) Cromatógrafo de Gases.

- a) Gas portador.- Comunmente se emplea nitrógeno, helio o hidrógeno como gas portador ( 8 ). Este gas se encuentra en un depósito a presión y se regula su salida para mantener un flujo constante a lo largo de la columna.
- b) Inyector.- Es un dispositivo que permite la introducción de la muestra por medio de una jeringa. Como se necesita vaporizar la muestra para que sea arrastrada por la fase móvil, cuenta con un sistema de calentamiento.
- c) Horno.- Indispensable para mantener cierta temperatura en el interior de la columna con el fin de evitar condensaciones de los componentes de la mezcla.
- d) Detector.-Este dispositivo produce una señal proporcional a la cantidad de cada componente que pasa por él. Existen diferentes tipos de detectores para las más diversas aplicaciones ( 9 ).

e) Registrador.-Dispositivo que permite obtener un registro de la señal generada por el detector, desde el momento de la introducción de la muestra hasta la elución del último componente. Los componentes menos retenidos son los que se registran primero, los componentes más retenidos eluyen después por lo que se registran después. Así, por medio del registro gráfico del análisis de una muestra es como obtenemos un "cromatograma".

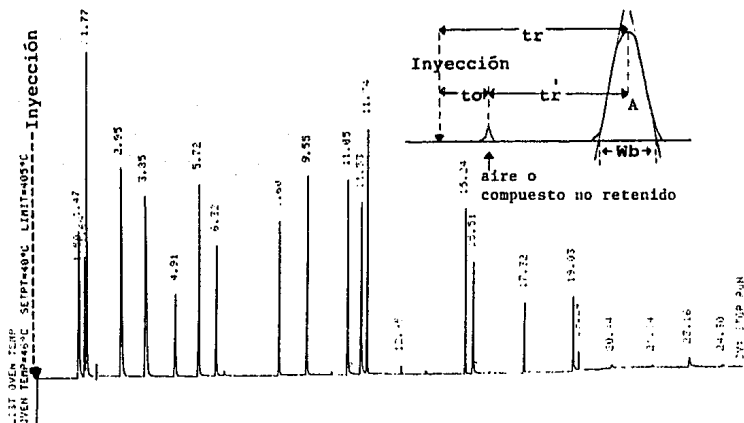


Fig. ( 3 ) Cromatograma de mezcla de alcoholes y glicoles

Son varios los parámetros que se obtienen de un cromatograma y que reflejan la calidad de la separación cromatográfica o que permiten evaluar el desempeño de cada uno de los elementos del sistema cromatográfico:

- \*línea base. Línea generada por el registrador en ausencia de muestra.
- \*punto de inyección. Es el momento en que se introduce la muestra al sistema cromatográfico.
- \*área del pico. Permite determinar la concentración de cada componente separado en la columna (A).
- \*tiempo muerto ( $t_0$ ). Es el tiempo requerido para eluir un componente no retenido en la columna.
- \*tiempo de retención ( $t_r$ ). Es el tiempo que se transcurre desde la inyección de la muestra hasta el punto máximo del pico cromatográfico.



\*tiempo de retención ajustado (  $tr'$  ). Equivale al tiempo de retención corregido por el tiempo de retención del pico del aire, o de un pico no retenido.

$$tr' = tr - t_0$$

\*ancho en la base (  $W_b$  ). Es la porción de la línea base intersectada por las tangentes a los lados del pico.

\*plato teórico (  $N$  ). Es el equilibrio del soluto entre la fase móvil y estacionaria. Se calcula por:

$$N = 16 [ tr' / W_b ]$$

donde  $tr$  y  $W_b$  deben expresarse en las mismas unidades (volumen, tiempo, distancia en el cromatograma) ya que  $N$  es adimensional.

\*altura equivalente a un plato teórico (  $AEPT$  ). Es la longitud de columna (  $L$  ) requerida para que se establezca un plato teórico. Una  $H$  pequeña significa que se establecen varios equilibrios del soluto entre la fase móvil y la fase estacionaria y, por lo tanto, existe mayor eficiencia en la columna.

$$H = L / N$$

\*velocidad lineal promedio del gas (  $\bar{\mu}$  ):

$$\bar{\mu} = L / t_0$$

donde  $L$  es la longitud de la columna - en cm - y  $t_0$  el tiempo muerto - en seg -.

\*coeficiente de reparto (  $k$  ). Característico del soluto en una fase estacionaria; depende de la temperatura y es una medida de las interacciones soluto-fase estacionaria.

$$k = \frac{[\text{Soluto en fase estacionaria}]}{[\text{Soluto en fase móvil}]}$$

\*razón de fases (  $\beta$  ). Es el cociente de los volúmenes de fase móvil y estacionaria en la columna.

$$\beta = \frac{\text{Volumen de fase móvil}}{\text{Volumen de fase estacionaria}}$$

\*factor de capacidad (  $k'$  ). Es la relación entre el tiempo que un soluto permanece en la fase estacionaria y la fase móvil.

$$k' = tr' / t_0$$

está relacionada con el coeficiente de reparto:

$$k' = k / \beta$$

\*resolución (  $R_s$  ). Es una medida cuantitativa del grado de separación entre dos picos. Una resolución de 1.5 es una separación al 99.7 % entre los picos.

$$R_s = 2 ( t_r^2 - t_{r1} ) / ( W_{b1} + W_{b2} )$$

\*selectividad (  $\alpha$  ). Mide las diferencias relativas en las fuerzas de interacción de dos solutos con la fase estacionaria. Un valor mayor de  $\alpha$  significa una columna más selectiva y por lo tanto una mejor resolución.

$$\alpha = t_r^2 / t_{r1}^2 = k'^2 / k'_1 = K^2 / k_1 ( A - 1 )$$

### Columnas Cromatográficas.

Existen dos tipos de columnas cromatográficas:

a) Columnas capilares. El diámetro interno de éstas columnas es muy pequeño ( 0.2 a 0.4 mm ); y

b) Columnas empacadas. La fase estacionaria consiste en un sólido, o un líquido poco volátil soportado por un sólido inerte y por lo general son de diámetro interno grande ( 1/8 " o 1/4" ).

Aunque las columnas capilares tienen poca capacidad en comparación con las columnas empacadas, son las que actualmente se utilizan, debido a que permiten obtener un análisis más rápido y una mayor eficiencia.

### Desventajas.

La principal desventaja de los sistemas cromatográficos es con respecto a la identificación cualitativa de los componentes que logra separar, ya que esta no es absoluta y tan sólo tiene como parámetros de evaluación el tiempo de retención ( $t_r$ ), las características de operación y la fase estacionaria. En esta situación no es difícil imaginar que puedan existir más de dos compuestos, que en una columna dada y a ciertas condiciones de operación, tengan el mismo  $t_r$ .

Comunmente la identificación por CG se hace midiendo los  $t_r$  y comparándolos con los  $t_r$  de compuestos conocidos (patrones), o bien compuestos "puros". Aún procediendo en la forma antes descrita, la identificación no puede ser absoluta y es por ello que se han desarrollado un buen número de detectores, que generan señales intensas para los compuestos.

Para obtener una identificación absoluta por CG lo que se hace, es que al eluir los componentes de la columna cromatográfica, se les analiza empleando alguna metodología espectroscópica ( EM ).

## ESPECTROMETRÍA DE MASAS.

### Generalidades.

La Espectrometría de Masas ( EM ), es un método analítico, en el que se generan espectros característicos y únicos para las moléculas de distintos compuestos ( 13 ).

El espectrómetro de masas realiza, en orden, diferentes operaciones sobre la muestra ( 14 ): vaporizar la muestra, ionizar las moléculas de la muestra, separar los iones formados en función de su masa, detectar la masa de los iones analizados y registrar la señal producida. Fig. (5). Existen dos subsistemas adicionales que apoyan la operación del espectrómetro de masas: el sistema de vacío y el sistema de datos.

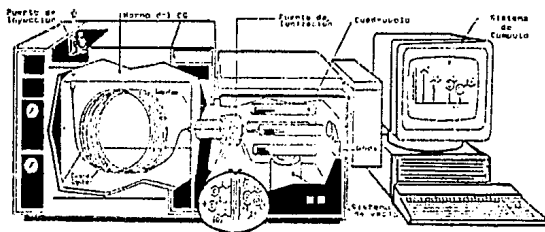


Fig. ( 4 ) Espectrómetro de Masas  
acoplado al Cromatógrafo de Gases y sistema de datos.

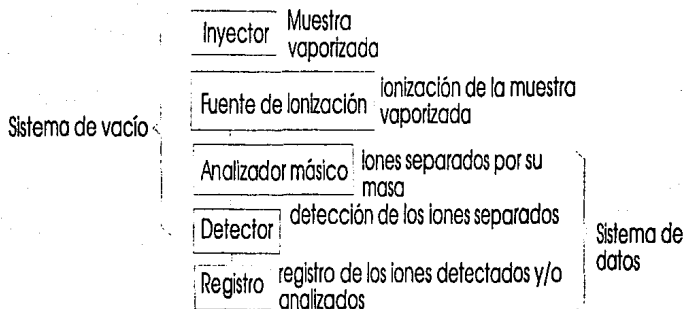


Fig. ( 5 ) Subsistemas de un espectrómetro de masas.

El método más frecuente para ionizar la muestra es por impacto electrónico, en donde la fuente de ionización es un filamento que produce un haz de electrones, en donde la energía de éstos se establece por la diferencia de potencial que se aplica al filamento (70V). Los electrones emitidos viajan a través de una cámara que contiene las moléculas de la muestra gasificada provocando así una interacción. Como resultado de la interacción electrón-molécula, la molécula expulsa un electrón, resultando así un ion con carga positiva al que denominamos ion molecular ( $M^+$ ). Este ion molecular, si adquirió un exceso de energía que no es capaz de estabilizar, se fragmentará expulsando un fragmento neutro ( $m_0$ ) y formando otro ion fragmento ( $A^+$ ) de menor masa.

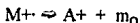


Fig.( 6 ) Proceso de ionización.

si el ion fragmento  $A^+$  aún posee un exceso de energía que no pueda estabilizar, éste continuará fragmentándose, expulsando más fragmentos neutros y produciendo iones de masa cada vez menores:

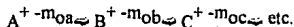


Fig.( 7 ) Mecanismo de Fragmentación.

Se debe tener presente que los iones formados pueden seguir distintos "mecanismos de fragmentación" dependiendo de la cantidad de energía que recibió la molécula durante la ionización. Todos los mecanismos de fragmentación que pueda seguir una molécula constituyen un "patrón de fragmentación" y éste es característico y único para una molécula, como se muestra en la Fig. ( 8 ):

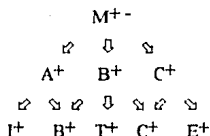


Fig. ( 8 ) Patrón de fragmentación

Los espectrómetros de masas están diseñados para separar los iones de distinta masa que se producen en la ionización, según su relación masa a carga ( $m/z$ ), sin embargo; la mayoría de los iones producidos en este tipo de ionización se forman con una sola carga ( $z=1$ ), por lo que la relación  $m/z=m$  y se tiene una resolución másica.

El otro valor que registran los espectrómetros de masas, es el del número de iones de un mismo valor  $m/z$  que se generan y se define como la intensidad de las señales, el valor de intensidad está en relación directa con la estabilidad del ion formado y esto es un reflejo de la estructura del mismo. Una señal intensa debe corresponder a un ion estable, lo que a su vez implica una estructura estable. Así, un espectro de masas está constituido por una serie de señales en un sistema de dos ejes, uno es la escala másica o de valores  $m/z$  y el otro corresponde a una escala de intensidad de las señales.

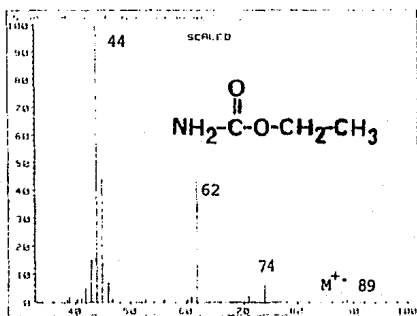


Fig.( 6 ) Espectro de masas del Carbamato de etilo

Se requiere de un alto vacío, con el objeto de minimizar el número de colisiones entre los iones de la muestra y las moléculas del gas en el analizador de masas. También se requiere una presión menor que  $10^{-3}$  Pa (  $10^{-8}$  atm ) en el analizador para disminuir tales colisiones, y es para ello que los espectrómetros de masas cuentan con bombas mecánicas y bombas de difusión o turbomoleculares que permiten alcanzar esos niveles de vacío. El resultado del detector es finalmente adquirido por un sistema de datos en donde podemos obtener los respectivos espectros.

#### Desventajas de los sistemas de espectrometría de masas.

Como se observa, el espectro de masas de un compuesto "puro" es lo suficientemente complejo y difícil de interpretar como para tratar de analizar una mezcla. Es por ello que los equipos de masas resultan inútiles para el análisis de mezclas.

## RAZONES FUNDAMENTALES PARA ACOPLAR EL SISTEMA CG/EM/SD.

Si el cromatógrafo de gases proporciona un método de separación y cuantificación de los componentes de una mezcla y, el espectrómetro de masas información detallada acerca de la identidad y estructura de un componente orgánico desconocido (considerando que este componente es " puro " ), al combinar ambos se tiene un sistema ideal para análisis de compuestos orgánicos, sobre todo a nivel trazas, pues con éstos equipos acoplados es común el registrar sustancias en el nivel de nanogramos. Este nivel de sensibilidad se logra pues se optimiza la relación señal/ruido.

Salvando la incompatibilidad de las presiones entre un espectrómetro de masas ( $10^{-8}$  -  $10^{-5}$  atm ) y un cromatógrafo de gases ( 1 atm ), ésta nueva metodología ha encontrado aplicación en los más diversos campos como pueden ser los de procesos de Sabores y Fragancias, Geoquímica, Bioquímica, Clínica y Química Forense, hasta estudios ecológicos ( 17 ).

Otras ventajas en el acoplamiento CG/EM son:

- a) si la cantidad de muestra de que se dispone es pequeña, CG/EM ofrece el método más eficiente de introducción de muestra,
- b) la velocidad de flujo del gas acarreador en CG/EM es más eficiente que sólo en CG; y
- c) Como ya se encuentra el espectrómetro de masas acoplado al cromatógrafo de gases, la muestra ya llega vaporizada al espectrómetro de masas.

Un problema que surge al acoplar CG/EM, es la cantidad tan grande de datos que éste instrumento genera durante un análisis; pues fácilmente pueden resultar de 50 a 100 espectros por cromatograma. Si los espectros se tuvieran que procesar manualmente, el tiempo que esto llevaría sería enorme, de donde resulta evidente la necesidad de contar con sistemas de cómputo que realicen una buena parte del análisis de resultados.



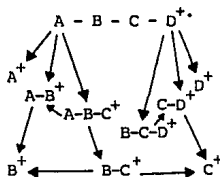
## PROCESOS DE FRAGMENTACIÓN.

Las reacciones de fragmentación en Espectrometría de Masas se pueden englobar en dos grandes grupos:

- fragmentaciones simples, o
- fragmentaciones multicentro.

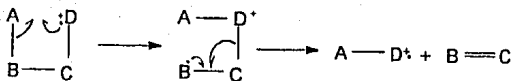
La ruptura simple es la fragmentación de una ligadura sencilla covalente para dar un ion y una partícula neutra. En el siguiente diagrama, vemos que se forman seis productos iónicos generados por una ruptura simple de un ion molecular de cuatro átomos.

Hay que señalar que alguno de los iones pueden ser formados por más de un camino, lo que aumenta el grado de complejidad. Afortunadamente, la probabilidad asociada al rompimiento de cada enlace, es diferente; aquellas rupturas de alta probabilidad generarán un número mayor de iones en el espectro, lo cual podremos emplear para la elucidación de estructuras.



Las fragmentaciones multicentro se clasifican en: Mc Lafferty, retro Diels-Alder, rearrreglos y otras reacciones que involucran la ruptura de más de un enlace y la formación consiguiente de uno o más nuevos enlaces.

En la molécula lineal ABCD, una fragmentación multicentro produce otro ion, con una nueva unión AD. Hay que señalar que la ocurrencia de dichas reacciones puede traer como consecuencia conclusiones erróneas, como considerar que A y D estaban unidos en la estructura original.



Siguiendo la convención que estableció Djerassi (13), se usará una flecha convencional para indicar el paso de un par de electrones (ruptura heterolítica); el paso de un sólo electrón será indicado por una flecha en forma de "anuelo" (ruptura homolítica).

### Fragmentaciones simples.

Son varios los factores que determinan qué unión se va a fragmentar. Entre ellos los más importantes son:

- la energía del enlace
- la estabilidad del ion formado
- la estabilidad del fragmento neutro formado.

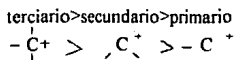
De éstos factores, el más importante es la estabilidad del ion formado (20), sin embargo existe una interacción compleja entre los tres factores lo que genera la dificultad en asignar o predecir cual de ellos será el determinante y que por lo tanto influirá en el curso de la fragmentación.

### Energía del enlace.-

En cuanto a las energías de enlaces, las dobles y triples ligaduras son uniones más fuertes que las uniones sencillas por lo que se requiere una menor energía para romper las uniones sencillas, lo que las hace que sean preferentes para una fragmentación.

### Estabilidad del ion.-

Al ionizarse una molécula, la carga positiva resultante debe deslocalizarse, sobre la molécula entera, pero existe una eliminación inicial de un electrón del enlace más polarizable, produciéndose el ion carbonio más estable.



La incorporación de un heteroátomo (N, O, etc.) provoca una carga localizada, ya que serán los que con la presencia de electrones m (no compartidos), con mayor facilidad

se ionicen, produciendo una disminución en la densidad electrónica del enlace  $\alpha$  provocando su ruptura.

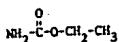
### Fragmentaciones multicentro.

La transferencia de un hidrógeno de un átomo a otro, trasladando el sitio del radical, es el mecanismo más común en éste tipo de reacciones.

#### Rearreglo McLafferty.

Genera una señal casi siempre muy intensa, que en la mayoría de las veces corresponde al pico base del espectro. Este rearreglo involucra una migración de un hidrógeno a un grupo polar (generalmente un carbonilo). Para dicha transferencia es necesaria la existencia de una especie transitoria de seis miembros, en donde el hidrógeno que se encuentra en posición  $\gamma$  al carbonilo, migrará. La migración de un hidrógeno puede también ocurrir a una doble ligadura.

Ejemplo: Uretano, P.M. 89,  $C_3H_7NO_2$



#### Fragmentación retro Diels-Alder.

La reacción inversa a la Diels-Alder es otra fragmentación multicentro que se observa en la Espectrometría de Masas. La presencia de una insaturación en una molécula cíclica, provoca un mecanismo contrario a la reacción señalada, conocida como retro Diels-Alder. La migración de un hidrógeno se presenta preferentemente en aquellas moléculas que contienen anillos o dobles ligaduras (si es que antes no ocurre una ruptura simple para estabilizarlo).

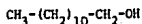
Ejemplo: Benceno hexadeuterado, P.M. 84,  $C_6D_6$



#### Reacciones de eliminación.

En los alcoholes, la eliminación de agua es una de las reacciones más estudiadas, y se reconoce por la presencia de un ion par a 18 unidades por debajo del ion molecular. Es así que un hidrógeno en la posición  $\delta$  al hidroxilo migrará a éste, eliminando agua del sistema.

Ejemplo: alcohol láurico, P.M. 154,  $C_{12}H_{26}O$



## INTERPRETACIÓN DE ESPECTROS.

### Reglas de interpretación de espectros.

Antes de iniciar la interpretación de algún espectro de masas, es recomendable conocer lo más que se pueda de esa muestra como es: de dónde proviene, cómo se le ha conservado, propiedades físicas y químicas y datos espectroscópicos diferentes al espectro de masas que se tiene del compuesto con el fin de tener una mayor información sobre la muestra.

El primer paso en la interpretación de un espectro de masas es, identificar correctamente el ion molecular ( $M^+$ ) ya que, al identificarlo obtenemos la información más importante: el peso molecular del compuesto y así sabemos el tamaño de la molécula, pues suele suceder que luego asignamos erróneamente alguna estructura en un espectro que tiene un patrón de fragmentación parecido al de la molécula original creyendo que ésta era la estructura desconocida. Es por ello que se utilizan reglas para asignar correctamente el ion molecular:

a) El ion molecular será el que tenga una masa mayor en el espectro pero el ion a masa mayor del espectro no siempre es el ion molecular.

b) La masa del ion molecular debe de ser par, a menos de que la molécula contenga un número impar de átomos de nitrógeno (Regla del Nitrógeno).

c) El ion a la masa menor siguiente no debe corresponder a la pérdida de una combinación de átomos. Lógica imposible o improbable.

d) Ninguno de los iones fragmentos, podrá tener átomos distintos o un número mayor de átomos de algún elemento que los que hayan sido asignados para el ion molecular (pérdidas de fragmentos neutros lógicos).

No obstante, existen muchos compuestos, que o no generan un ion molecular o es de tan baja intensidad que no se registra en el espectro, por lo que se han diseñado nuevas fuentes de ionización denominadas "suaves", que logran la ionización con energías menores que la de "impacto electrónico" como son ionización química, desorción de campo... etc. aumentando así la intensidad del ion molecular para su asignación (21).

El ion molecular es un radical, ya que como se mencionó, la ionización de las moléculas ocurren por la salida de un electrón. Este ion, sea molecular o fragmento, con un electrón desapareado se le llama "ion de  $e^-$  impares" ( $e_i^-$ ) y se le designa con el símbolo  $^+$ . El símbolo  $^+$  sólo será usado para los iones de  $e^-$  pares ( $e_p^-$ ).

Ya considerado el ion molecular para interpretar un espectro de masas, hay que tomar en cuenta la presencia de isótopos que, nos facilitan la tarea de deducir la

composición de muchos iones, e interpretar un espectro de masas más fácilmente. Es por ello que se sugiere utilizar un espectrómetro de masas de alta resolución, es decir, que cuenten con analizadores máscicos que permitan distinguir entre  $m/z=100$  y  $m/z=100.0001$ .

En la siguiente tabla, se muestra la abundancia natural de los isótopos de algunos elementos comunes en química orgánica.

| Elemento | A<br>masa | %   | A+1<br>masa | %     | A+2<br>masa | %    | Tipo de<br>elemento |
|----------|-----------|-----|-------------|-------|-------------|------|---------------------|
| H        | 1         | 100 | 2           | 0.015 |             |      | A                   |
| C        | 12        | 100 | 13          | 1.100 |             |      | A+1                 |
| N        | 14        | 100 | 15          | 0.37  |             |      | A+1                 |
| O        | 16        | 100 | 17          | 0.04  | 18          | 0.20 | A+2                 |

Tabla ( 1 ) Abundancia de los isótopos de algunos elementos.

Estos elementos isotópicos son clasificados como:

- " A " : elementos que tienen un isótopo;

- " A+1 " : elementos que tienen dos isótopos, el segundo de los cuales es una unidad de masa más pesada que el isótopo más abundante; y

- " A+2 " : elementos que tienen un isótopo a dos unidades masa más pesada que el isótopo más abundante.

Los elementos " A+2 " son los más fáciles para reconocer, por lo que son los primeros en buscar.

Elementos " A+2 " : Oxígeno, Silicio, Azufre, Cloro y Bromo.

Estos elementos son reconocidos en los espectros por un isótopo característico de los iones separados por dos unidades de masa.

Cabe hacer notar que la abundancia del oxígeno es muy baja ( 0.2% ) por lo que tan sólo una molécula que contuviese un número elevado de átomos de oxígeno produciría una señal significativa. Otro hecho relevante que frecuentemente se obtiene de los espectros de masa es la ausencia de los elementos " A+2 " ( nunca debe descartarse la información negativa ).

Elementos " A+1 ": Carbón y Nitrógeno.

Los tres elementos " A+1 " presentes en la Tabla ( 1 ) son hidrógeno, carbón y nitrógeno, pero la relación  $2H/1H$  es tan baja que se considera al hidrógeno como elemento "A".

El carbono contribuye a la señal a una unidad de masas mayor, con un aumento de la intensidad de 1.1% por cada átomo de carbono que contenga la molécula. El aumento en el número de átomos de carbono aumenta la probabilidad de ocurrencia de átomos  $^{13}C$ , así una molécula  $C_{10}$  la relación  $(A+1)/A=10 \times 1.1\%=11\%$ . Es este hecho el que nos permite calcular el número de átomos de carbono que contiene una molécula o ion que genera una señal en el espectro de masas.

Elementos " A ": hidrógeno, flúor, yodo y fósforo.

Ya identificados los elementos " A+2 " y " A+1 ", el balance másico de la señal estudiada puede hacerse con los elementos "A" monoisotópicos.

#### Procedimiento recomendado para el cálculo de la composición elemental.

a) Usar las señales de mayor masa. Se deben utilizar las señales que permitan la máxima precisión y utilidad en la asignación de una fórmula mínima. La menor contaminación isotópica se da en las señales de mayor masa.

b) Usar las señales de mayor intensidad. De manera que si la intensidad del ion molecular es alta ésta será la que deberá usarse para calcular la composición elemental. En el caso de que la intensidad del ion molecular sea pequeña y se puedan producir errores por no poder medir con precisión, será conveniente usar el siguiente grupo de señales a menor masas y así sucesivamente.

c) Selección del pico A. Por definición el peso molecular de un compuesto ( en Espectrometría de Masas ) se define por aquel que contiene a los isótopos más abundantes.

Para la mayoría de los elementos que conforman a las moléculas orgánicas, el isótopo mayoritario siempre es el de menor masa; por lo que se deberá buscar el pico más intenso y a menor masa dentro del grupo de señales que se encuentren a la mayor masa del espectro.

d) Buscar congruencia con otros grupos de señales; ya asignado el pico A para el grupo de señales a la mayor masa del espectro se deberán analizar otros grupos de señales de menor masa para confirmar la asignación hecha.

### Regla del Nitrógeno.

Como se sabe, el carbamato de etilo contiene nitrógeno, por lo que se tiene que considerar una regla que lo involucra: la Regla del Nitrógeno.

De los elementos que constituyen a las moléculas orgánicas, la mayoría presentan una relación entre la masa de su isótopo más abundante y su valencia; o ambos son números pares o ambos impares, pero, si un compuesto contiene un número par de átomos de nitrógeno su ion molecular tendrá un valor másico par; y si tiene un número impar de átomos de nitrógeno tendrá su ion molecular un valor másico impar. Esto es válido no sólo para el  $M^+$  sino para todas las señales del espectro, por lo que la Regla del Nitrógeno se enuncia como:

Un ion de electrones impares ocurrirá a un valor másico par  
-si solo si-no contiene nitrógeno o el número de estos es par.

Pérdidas de fragmentos neutros lógicos.

Son tan sólo unos cuantos los fragmentos neutros que una molécula puede perder por descomposición del ion molecular, de manera que la presencia de iones fragmento a valores anormales del ion de valor  $m/z$  más alto, son indicativos de que este no es un ion molecular o bien que la muestra está impura.

En la siguiente tabla, se muestran los fragmentos más pequeños que pierde un ion molecular que son los que se encuentran unidos por un enlace simple. De esta manera se pueden considerar como pérdidas lógicas.

| M-X | Elemento Perdido   |
|-----|--|
| -1  | H  |
| -2  | 2H   |
| -3  | 3H   |
| -14 | muy poco probable ver la pérdida de 4H o 5H<br>nunca se ha visto la pérdida de -CH <sub>2</sub> - o N <sub>2</sub> |
| -15 | CH <sub>3</sub>  |
| -16 | O, CH <sub>4</sub> , NH <sub>2</sub>   |
| -17 | OH   |
| -18 | H <sub>2</sub> O   |
| -19 | F  |
| -20 | HF   |
|     | de M-21 a M-25 no existen formas simples o lógicas de perder<br>elementos  |
| -26 | C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> del benceno  |

Tabla ( 2 ) Pérdidas de fragmentos neutros.



## ESPECTROMETRÍA DE MASAS CUANTITATIVA ( SIM ).

Se ha desarrollado una técnica especial de captura de datos llamada SIM ( Monitoreo Selectivo de Iones ).

En los análisis CG-EM de trazas se hace uso de la técnica monitoreo selectivo de iones (SIM ), ya que ésta técnica usa al espectrómetro de masas como un sensitivo pero selectivo detector para el cromatógrafo de gases con el fin de cuantificar ( hasta niveles ppm ) componentes.

El ion seleccionado debe representar a una molécula en particular o a un ion fragmento que representa la especie (22). Ejemplos de algunos iones que son indicativos de grupos funcionales específicos están enlistados en la siguiente Tabla.

| Masa | Clase                    | Estructura    |
|------|--------------------------|---------------|
| 29   | Hidrocarburos alifáticos | $C_xH_{2x+1}$ |
| 30   | Aminas alifáticas        | $CH_2NH_2$    |
| 31   | Alcoholes                | ROH           |
| 91   | Aromáticos               | $C_6H_5CH_2$  |

Tabla ( 3 ) Iones indicativos de grupos funcionales

Para realizar un análisis cuantitativo por medio del SIM se necesita que:

- 1) Cada componente debe exhibir por lo menos un pico que difiera marcadamente de los demás.
- 2) Saber qué compuestos están presentes en el cromatograma.
- 3) Desarrollar la mejor cromatografía posible.
- 4) Usar estándares internos, D-2 o C-13 ( isótopos ).
- 5) Seleccionar los iones más específicos; para ello ya se conoce antes el espectro y se compara con un espectro patrón. Se busca la señal más intensa para cuantificar.
- 6) Usar un método consistente ( utilizar la misma columna, temperaturas...etc.)
- 7) Optimizar el EM para lograr una buena selectividad y sensibilidad.

### Selectividad.

En SIM, debido al número limitado de iones registrados existen varias medidas que, individuales o en diferentes combinaciones permiten un grado de selectividad en los análisis cuantitativos ( 21 ). Algunas de ellas son:

- a) consideración del tr característico en CG/EM;
- b) selección de iones que ofrecen la información estructural más amplia ( por ejemplo, el ion molecular). Para obtener una mayor especificidad, debe haber un mayor número de iones seleccionados,
- c) aumento de estos iones por técnicas de ionización suaves cuando sus abundancias relativas se registran bajas por ionización de impacto electrónico; y,
- d) la más reciente, uso de alta resolución ( HRMS ) y ( EM/EM ) que pueden ser usadas para obtener información de picos sobrepuestos.

### Sensibilidad.

El desarrollo de nuevas técnicas de ionización han hecho de la espectrometría de masas una de las técnicas analíticas más sensibles y útiles para la cuantificación de compuestos a niveles bajos.

Para obtener una mayor sensibilidad, debe haber un menor número de iones monitoreados.

### Calibración.

Cumpliendo con los requisitos anteriores, se necesita realizar una calibración del EM con estándares de tal manera que las alturas de los picos sean directamente proporcionales a las presiones parciales de los componentes. La calibración del espectrómetro de masas siempre se realiza antes de iniciar cualquier análisis.

En caso de no encontrar un pico único para cada componente se tiene que resolver una serie de ecuaciones simultáneas, utilizándose normalmente para esto computadoras.( 21 )

Ya calibrado el aparato, se procede a realizar una curva de calibración con los estándares internos. Esta curva debe incluir como mínimo cuatro diferentes concentraciones además un blanco. Si la respuesta es lineal, es decir, que se obtiene una buena correlación (0.999), con toda seguridad descartamos las interferencias.

Se considera " calibración estándar ideal " si la relación muestra/estándar es mantenida dentro del 10% de la relación.

Así, para realizar medidas cuantitativas en espectrometría de masas se requiere un estándar interno adecuado ( 21 ) y un ion característico ( o varios ) en la muestra que son seleccionados. La intensidad de la señal de la muestra está relacionada a una cantidad conocida de estándar. Para obtener resultados confiables es necesario:

- a) repetir el experimento y
- b) correr blancos para determinar el origen de la señal de las masas que están siendo monitoreadas.

Cuatro tipos de estándares son usualmente utilizados para medidas cuantitativas:

- 1.- Un compuesto marcado isotópicamente,
- 2.- Un homólogo próximo,
- 3.- Un isómero y
- 4.- Un compuesto de la misma ( o similar ) funcionalidad química.

Para ser usado como estándar interno en SIM debe cumplir con:

- 1) el  $t_r$  del estándar interno debe ser cercano al  $t_r$  de la muestra en el cromatograma,
- 2) que las eficiencias de recobro sean idénticas,
- 3) que sea estable, esto es, que tenga una larga vida de anaquel,
- 4) que la referencia másica sea idéntica a la de la muestra ( 1-10 ),
- 5) que tenga una intensidad semejante a la de la muestra, y
- 6) que esté libre de interferencias.

Con el uso de estándares isotópicamente marcados existen ventajas, ya que la muestra y el estándar casi tienen el mismo  $t_r$  cromatográfico y si existiera alguna variación de los parámetros en CG/EM con el tiempo, la relación de los errores entre la muestra y el estándar serían mínimos.

En los análisis cuantitativos se debe utilizar un blanco para valorar las contribuciones de ruidos de fondo que se presentan debido a interferencias en la fase estacionaria o por el gas transportador, solventes, reactivos, etc. Estos efectos pueden ser minimizados incrementando la resolución del EM, cambiando cada ion por otro en SIM o los otros derivados, o bien, usando un modo de ionización diferente.

## **PARTE EXPERIMENTAL**

De las condiciones reportadas en la literatura, como se pudo demostrar, ninguna dió resultados satisfactorios, lo que condujo a desarrollar un método cromatográfico.

### **CONDICIONES GENERALES.**

Sistema acoplado CG/EM: Cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890, Espectrómetro de Masas Hewlett Packard 5988A.

Columna: Capilar, longitud 25m x 0.31mm de diámetro interno, espesor de la película 0.52micras, flujo de la columna: 2.18ml / min., flujo de purga de septum: 5.8ml / min., relación de flujos: 11.47ml / min., presión de la columna: 5.5 Psi,  $t_0$ : 0.015min.

Fase estacionaria: Metil Silicón

División de flujo: 25:1

Gas acarreador:  $H_2$

Temperatura isotérmica: 60°C

Tiempo de corrida de cada cromatograma: 5min.

Temperatura del inyector: 200°C

Temperatura de la línea de transferencia: 275°C

Fuente de ionización: Impacto Electrónico

Voltaje al filamento: 70eV

Corriente de ionización: 300  $\mu A$

Temperatura de la fuente de ionización: 280°C

Modo de operación: SIM

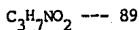
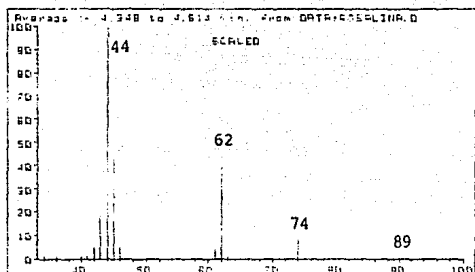
### **DESARROLLO.**

Dada la alta sensibilidad que puede alcanzar el sistema acoplado CG/EM en el modo de operación SIM, para detectar pequeñas cantidades ( ppm ), se obtuvo el espectro de masas del carbamato de etilo y del benceno hexadeuterado ( compuesto elegido para ser usado como estándar interno ) para seleccionar las señales que se iban a registrar.

El benceno hexadeuterado aunque no cumple con todos los requisitos para ser estándar interno, fué elegido por las siguientes razones:

- es tan volátil, que al saber usarlo facilitará el dominio de otros estándares internos en otros análisis,
- es barato (2.5ml.:\$8.7),
- los glicoles y alcoholes generan señales iguales a las que produce el carbamato de etilo, en cambio el benceno hexadeuterado genera señales características que no produce el carbamato de etilo.

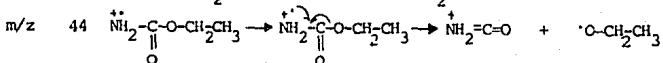
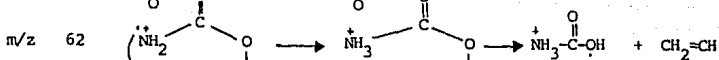
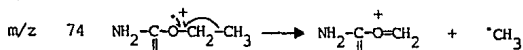
### Espectro del carbamato de etilo



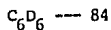
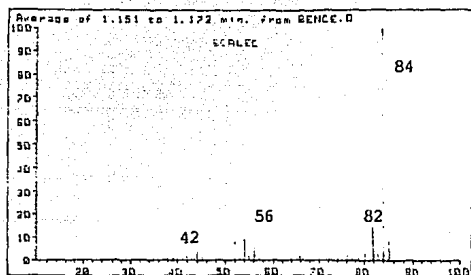
Average of 4.348 to 4.614 min. from DATA:FOSEALINA.D  
 CARBAMATO DE ETILO

| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| 34.00 | 1      | 41.00 | 2      | 45.00 | 44     | 63.00 | 1      |
| 36.00 | 1      | 42.00 | 5      | 46.00 | 5      | 71.00 | 1      |
| 38.00 | 1      | 43.00 | 19     | 61.00 | 4      | 74.00 | 8      |
| 40.00 | 1      | 44.00 | 100    | 62.00 | 44     | 89.00 | 1      |

m/z 89  $M^+$

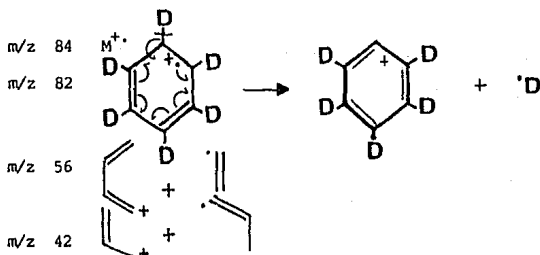


## Espectro del benceno hexadeuterado



Average of 1.151 to 1.172 min. from BENCE.D  
BENCENO HEXADEUTERADO

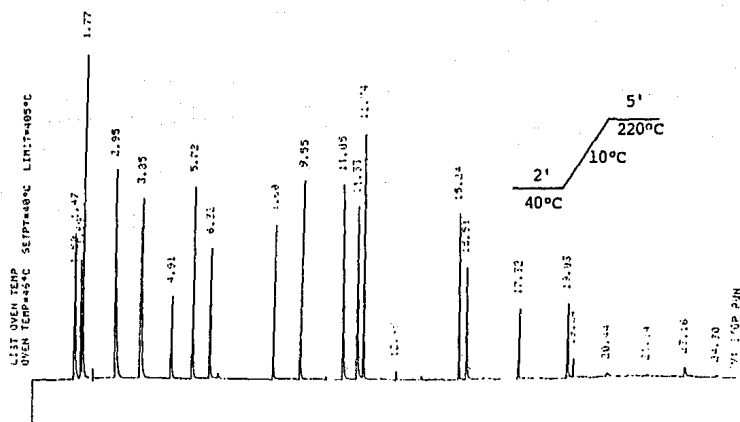
| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| 38.00 | 1      | 45.00 | 2      | 57.15 | 1      | 78.25 | 1      |
| 39.00 | 1      | 49.50 | 1      | 64.00 | 1      | 80.00 | 4      |
| 40.00 | 1      | 52.00 | 8      | 66.00 | 2      | 82.00 | 15     |
| 41.00 | 1      | 53.00 | 1      | 74.15 | 1      | 83.15 | 4      |
| 42.00 | 7      | 54.00 | 9      | 76.00 | 2      | 84.15 | 100    |
| 43.15 | 2      | 55.00 | 1      | 77.00 | 1      | 85.15 | 8      |
| 44.00 | 6      | 56.00 | 13     |       |        |       |        |



Los iones 62, 74 y 89 del carbamato de etilo y, 82 y 84 del benceno hexadeuterado, fueron elegidos por dos razones:

- por ser los iones característicos de el compuesto y,
- porque ninguno de los componentes presentes en bebidas alcohólicas los generan.

Para comprobar esto, se obtuvieron los espectros de masa de los compuestos presentes en el siguiente cromatograma:

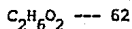
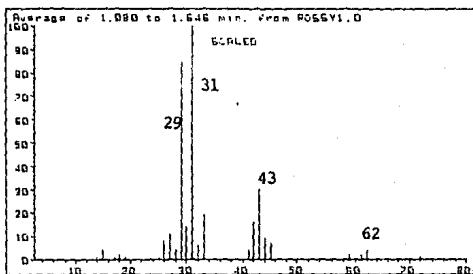


Cromatograma de alcoholes y glicoles

| Pico | tr   | Compuesto      | Pico | tr    | Compuesto          |
|------|------|----------------|------|-------|--------------------|
| #1   | 1.47 | Tert-butanol   | #12  | 11.05 | Propilén Glicol    |
| #2   | 1.50 | Metanol        | #13  | 11.53 | Etilén Glicol      |
| #3   | 1.69 | Isopropanol    | #14  | 11.74 | Nonanol            |
| #4   | 1.77 | Etanol         | #15  | 12.95 | Decanol            |
| #5   | 2.95 | Propanol       | #16  | 15.24 | Láurico            |
| #6   | 3.85 | Isobutanol     | #17  | 15.51 | Dietylén Glicol    |
| #7   | 4.91 | Butanol        | #18  | 17.32 | Tridecanol         |
| #8   | 5.72 | Isoamilico     | #19  | 19.03 | Trietylén Glicol   |
| #9   | 6.32 | Amilico        | #20  | 19.24 | Isómero o impureza |
| #10  | 8.6  | Caprilico      | #21  | 20.44 | Isómero o impureza |
| #11  | 9.55 | 2-Etil-Hexanol | #22  | 23.16 | Tetraetylén Glicol |

NOTA. El espectro de cada compuesto, fué obtenido con las condiciones del método y no con el programa de temperatura marcado en el cromatograma anterior, por lo que varían los tr marcados en cada espectro.

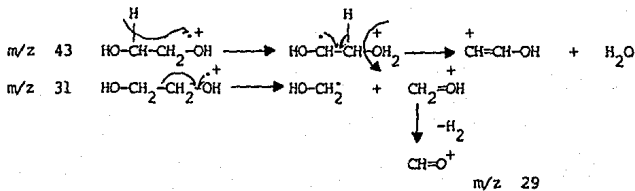
### Espectro del etilén glicol



Average of 1.080 to 1.546 min. from ROSSY1.D  
ETILEN GLICOL

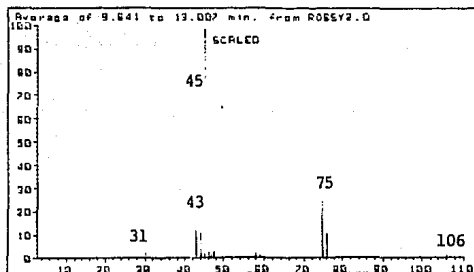
| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| 14.00 | 1      | 26.00 | 6      | 32.00 | 6      | 45.00 | 7      |
| 15.00 | 4      | 27.00 | 11     | 33.00 | 19     | 59.00 | 2      |
| 17.00 | 1      | 28.00 | 4      | 41.00 | 4      | 61.00 | 2      |
| 18.00 | 2      | 29.00 | 85     | 42.00 | 16     | 62.00 | 4      |
| 19.00 | 1      | 30.00 | 14     | 43.00 | 30     | 72.00 | 1      |
| 25.00 | 1      | 31.00 | 100    | 44.00 | 9      |       |        |

m/z 62  $M^+$



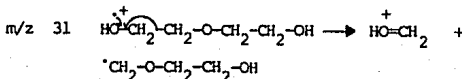
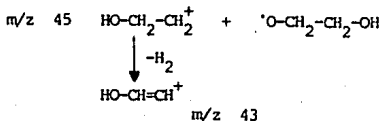
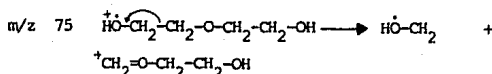
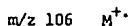


### Espectro del dietilén glicol

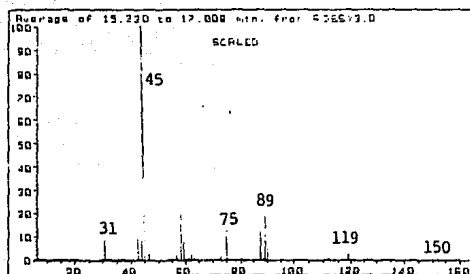


Average of 9.641 to 13.007 min. from ROSSV2.D  
DIETILEN GLICOL

| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z    | abund. |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------|--------|--------|
| 31.00 | 6      | 45.00 | 100    | 47.00 | 3      | 75.00  | 29     |
| 43.00 | 17     | 46.00 | 2      | 58.00 | 2      | 76.00  | 13     |
| 44.00 | 12     | 46.45 | 1      | 59.00 | 1      | 106.00 | 1      |



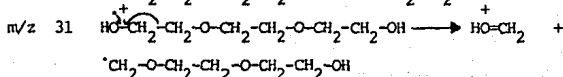
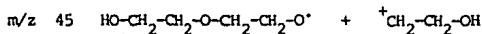
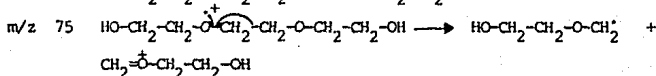
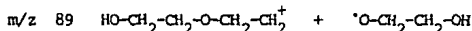
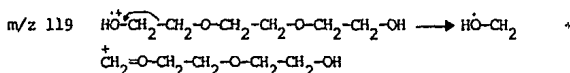
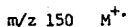
### Espectro del trietilén glicol



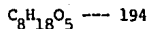
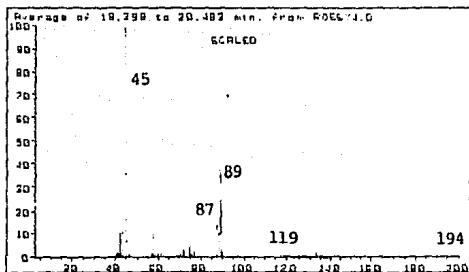
$C_6H_{14}O_4$  --- 150

Average of 15.220 to 17.008 min. from ROSSY3.D  
TRIEYLEN GLICOL

| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z    | abund. |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------|--------|--------|
| 31.00 | 8      | 57.00 | 1      | 82.00 | 1      | 89.00  | 20     |
| 43.00 | 10     | 58.00 | 19     | 73.00 | 1      | 90.00  | 5      |
| 44.00 | 9      | 59.00 | 7      | 75.00 | 12     | 101.00 | 1      |
| 45.00 | 100    | 60.00 | 1      | 87.00 | 10     | 102.00 | 1      |
| 46.00 | 2      | 61.00 | 1      | 88.00 | 4      | 115.00 | 2      |

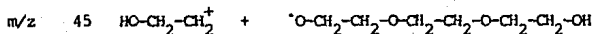
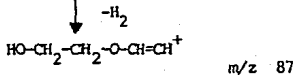
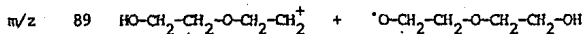
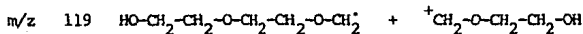
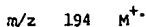


### Espectro del tetraetilén glicol

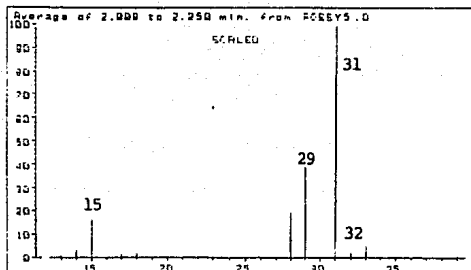


Average of 18.298 to 20.483 min. from ROSSY4.D  
TETRA ETILEN GLICOL

| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z    | abund. |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------|--------|--------|
| 41.00 | 1      | 58.00 | 11     | 75.00 | 7      | 90.00  | 2      |
| 42.00 | 1      | 59.00 | 11     | 76.00 | 1      | 101.00 | 2      |
| 43.00 | 11     | 60.00 | 1      | 77.00 | 2      | 102.00 | 2      |
| 44.00 | 12     | 61.00 | 1      | 87.00 | 17     | 103.00 | 2      |
| 45.00 | 100    | 71.00 | 1      | 88.00 | 12     | 119.00 | 3      |
| 46.00 | 2      | 72.00 | 1      | 89.00 | 38     | 133.00 | 1      |
| 57.00 | 2      | 73.00 | 6      |       |        |        |        |

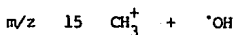
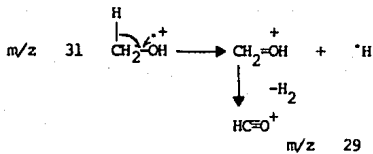
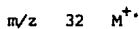


# Espectro del metanol

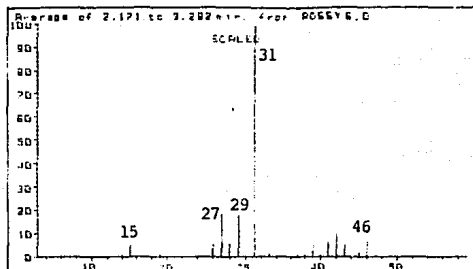


Average of 2.008 to 2.250 min. from ROSEYS.D  
METANOL

| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| 13.00 | 1      | 17.00 | 1      | 29.00 | 38     | 33.00 | 6      |
| 14.00 | 4      | 18.00 | 2      | 31.00 | 100    |       |        |
| 15.00 | 16     | 28.00 | 20     | 32.00 | 1      |       |        |



# Espectro del etanol

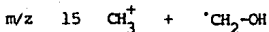
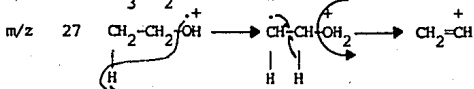
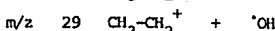
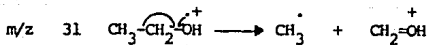


$C_2H_6O$  --- 46

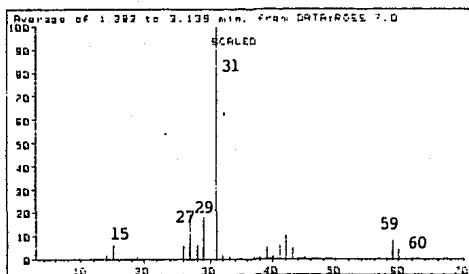
Average of 2.171 to 3.292 min. from ROESY6.E  
ETANOL

| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| 14.00 | 2      | 26.00 | 5      | 37.00 | 1      | 42.00 | 10     |
| 15.00 | 5      | 28.00 | 15     | 38.00 | 1      | 43.00 | 15     |
| 19.00 | 1      | 31.00 | 100    | 39.00 | 1      | 45.00 | 15     |
| 26.00 | 5      | 33.00 | 2      | 40.00 | 1      | 46.00 | 15     |
| 27.00 | 15     | 35.00 | 1      | 41.00 | 1      |       |        |

m/z 46  $M^+$



### Espectro del propanol

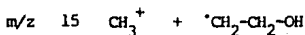
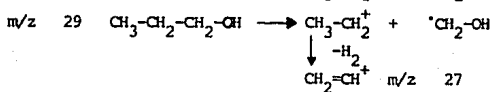
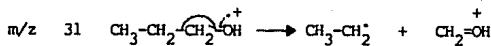
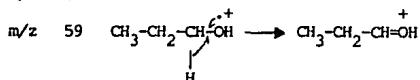


$C_3H_8O$  --- 60

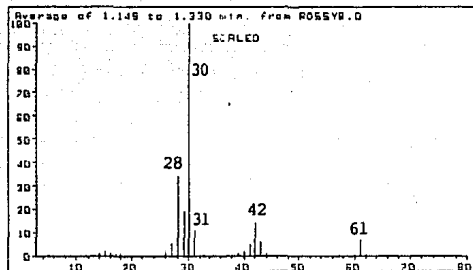
Average of 1.282 to 3.139 min. from DATA:ROSSY7.0  
PROPANOL

| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| 14.00 | 2      | 28.00 | 6      | 37.00 | 1      | 42.00 | 10     |
| 15.00 | 6      | 29.00 | 18     | 38.00 | 1      | 43.00 | 5      |
| 19.00 | 1      | 31.00 | 100    | 39.00 | 5      | 45.00 | 1      |
| 26.00 | 6      | 32.00 | 2      | 40.00 | 1      | 59.00 | 8      |
| 27.00 | 19     | 33.00 | 1      | 41.00 | 6      | 60.00 | 4      |

m/z 60  $M^+$

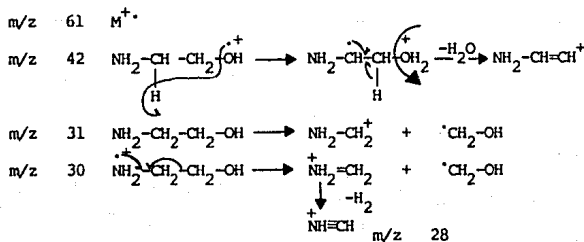


# Espectro del 2-amino etanol

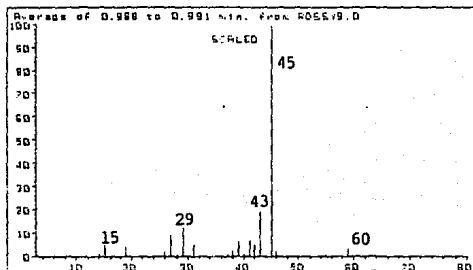


Average of 1.149 to 1.330 min. from ROSSYS6.D  
2-AMINO ETANOL

| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| 14.00 | 1      | 26.00 | 2      | 31.00 | 11     | 43.00 | 6      |
| 15.00 | 2      | 27.00 | 6      | 39.00 | 1      | 44.00 | 1      |
| 16.00 | 1      | 28.00 | 34     | 40.00 | 2      | 60.00 | 1      |
| 17.00 | 1      | 29.00 | 19     | 41.00 | 5      | 61.00 | 7      |
| 18.00 | 1      | 30.00 | 100    | 42.00 | 14     | 62.00 | 1      |



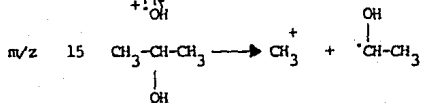
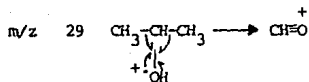
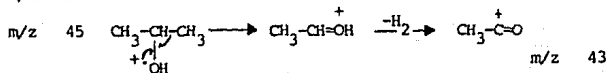
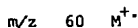
# Espectro del isopropanol



Average of 0.968 to 0.991 min. from ROSSV9.D

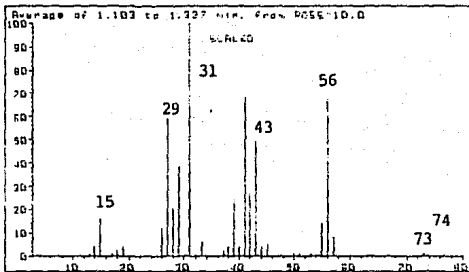
ALCOHOL ISOPROPILICO

| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| 14.00 | 1      | 28.00 | 1      | 39.00 | 6      | 43.00 | 19     |
| 15.00 | 5      | 29.00 | 12     | 40.00 | 1      | 45.00 | 100    |
| 19.00 | 4      | 31.00 | 5      | 41.00 | 7      | 46.00 | 2      |
| 26.00 | 2      | 37.00 | 1      | 42.00 | 5      | 59.00 | 3      |
| 27.00 | 9      | 38.00 | 2      |       |        |       |        |





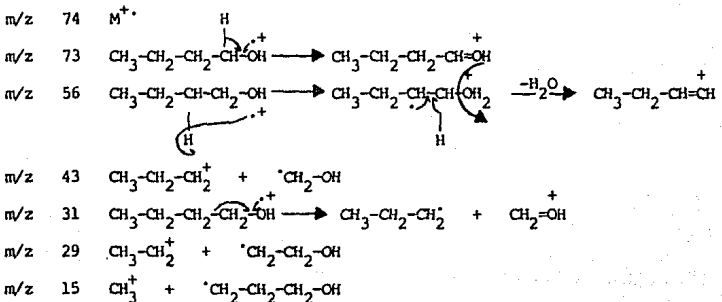
Espectro del n-butanol



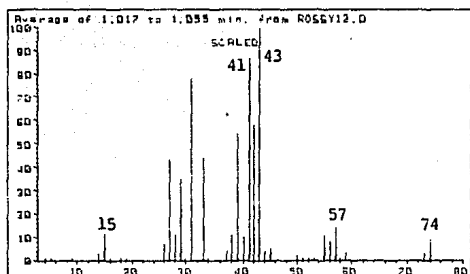
$C_4H_{10}O$  --- 74

Average of 1.103 to 1.327 min. from R05510.D  
BUTANOL

| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| 13.00 | 1      | 28.00 | 20     | 39.00 | 24     | 50.00 | 1      |
| 14.00 | 4      | 29.00 | 38     | 40.00 | 4      | 51.00 | 1      |
| 15.00 | 16     | 31.00 | 100    | 41.00 | 68     | 53.00 | 1      |
| 17.00 | 1      | 32.00 | 1      | 42.00 | 27     | 55.00 | 14     |
| 18.00 | 2      | 33.00 | 6      | 43.00 | 49     | 56.00 | 67     |
| 19.00 | 4      | 37.00 | 2      | 44.00 | 4      | 57.00 | 6      |
| 26.00 | 12     | 38.00 | 4      | 45.00 | 5      | 73.00 | 1      |
| 27.00 | 59     |       |        |       |        |       |        |



### Espectro del isobutanol

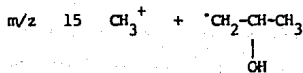
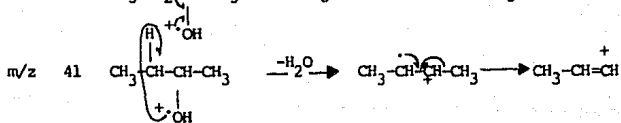
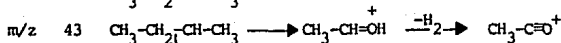
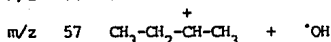
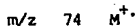


$C_4H_{10}O$  --- 74

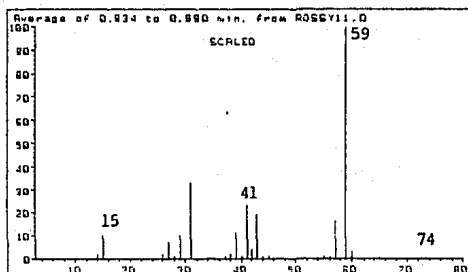
Average of 1.017 to 1.055 min. from ROSSY12.D

ALCOHOL ISOBUTILICO

| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| 4.00  | 1      | 27.00 | 43     | 39.00 | 54     | 52.00 | 1      |
| 5.00  | 1      | 28.00 | 11     | 40.00 | 10     | 53.00 | 1      |
| 9.00  | 1      | 29.00 | 35     | 41.00 | 87     | 55.00 | 11     |
| 14.00 | 3      | 30.00 | 1      | 42.00 | 58     | 56.00 | 3      |
| 15.00 | 11     | 31.00 | 78     | 43.00 | 100    | 57.00 | 15     |
| 16.00 | 1      | 33.00 | 44     | 44.00 | 4      | 58.00 | 1      |
| 18.00 | 1      | 34.00 | 1      | 45.00 | 5      | 59.00 | 3      |
| 19.00 | 1      | 37.00 | 4      | 50.00 | 2      | 73.00 | 3      |
| 26.00 | 7      | 38.00 | 11     | 51.00 | 1      | 74.00 | 9      |



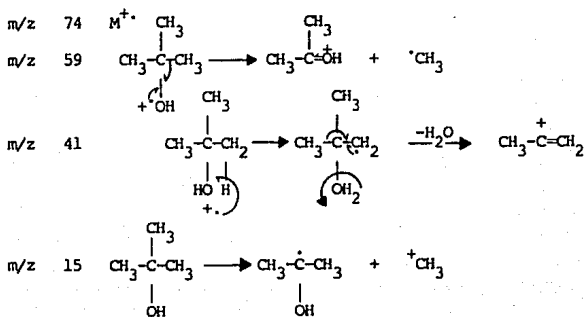
### Espectro del tert-butanol



$C_4H_{10}O$  --- 74

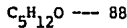
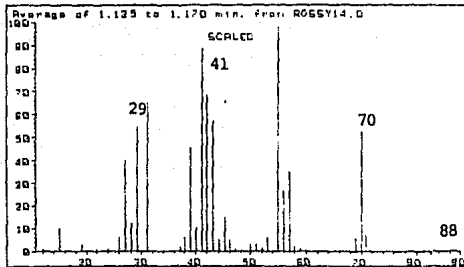
Average of 0.934 to 0.990 min. from ROSSY11.D  
TERT-BUTANOL

| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| 14.00 | 2      | 31.00 | 33     | 41.00 | 23     | 55.00 | 1      |
| 15.00 | 10     | 37.00 | 1      | 42.00 | 4      | 56.00 | 1      |
| 26.00 | 2      | 38.00 | 2      | 43.00 | 19     | 57.00 | 16     |
| 27.00 | 7      | 39.00 | 11     | 44.00 | 1      | 59.00 | 100    |
| 28.00 | 1      | 40.00 | 1      | 45.00 | 1      | 60.00 | 3      |
| 29.00 | 10     |       |        |       |        |       |        |



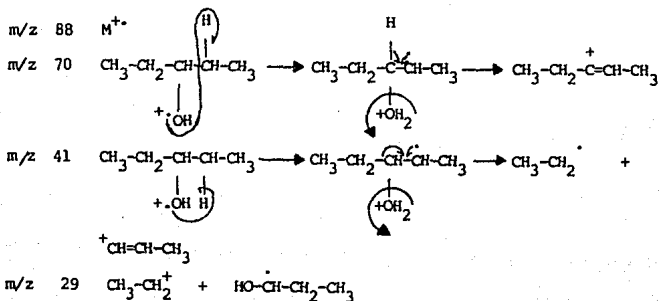


Espectro del alcohol isoamilico

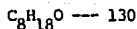
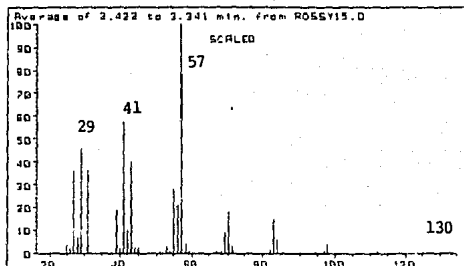


Average of 1.125 to 1.170 min. from ROSSY14.D  
ALCOHOL ISOAMILICO

| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| 12.00 | 1      | 28.00 | 12     | 43.00 | 57     | 55.00 | 100    |
| 15.00 | 10     | 29.00 | 55     | 44.00 | 5      | 56.00 | 26     |
| 19.00 | 3      | 31.00 | 65     | 45.00 | 15     | 57.00 | 35     |
| 20.00 | 1      | 37.00 | 2      | 46.00 | 5      | 58.00 | 2      |
| 21.00 | 1      | 38.00 | 6      | 47.00 | 1      | 59.00 | 1      |
| 22.00 | 1      | 39.00 | 45     | 50.00 | 3      | 69.00 | 7      |
| 24.00 | 1      | 40.00 | 10     | 51.00 | 3      | 70.00 | 52     |
| 26.00 | 6      | 41.00 | 89     | 52.00 | 1      | 71.00 | 7      |
| 27.00 | 40     | 42.00 | 68     | 53.00 | 6      |       |        |



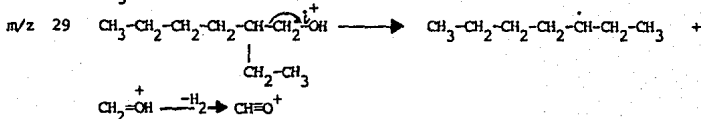
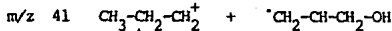
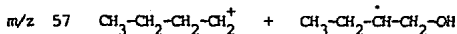
### Espectro del 2-etil hexanol



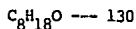
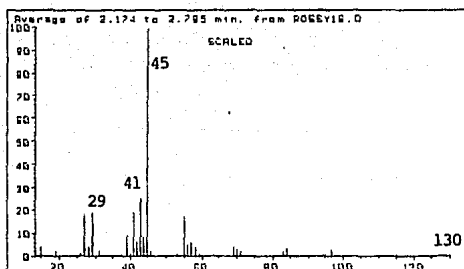
Average of 2.422 to 3.341 min. from ROSEY15.D  
2-ETIL HEXANOL

| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z    | abund. |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------|--------|--------|
| 25.00 | 4      | 41.00 | 57     | 55.00 | 28     | 70.00  | 18     |
| 26.00 | 2      | 42.00 | 10     | 56.00 | 21     | 71.00  | 3      |
| 27.00 | 36     | 43.00 | 40     | 57.00 | 100    | 82.00  | 2      |
| 28.00 | 7      | 44.00 | 2      | 58.00 | 4      | 83.00  | 15     |
| 29.00 | 46     | 45.00 | 2      | 59.00 | 1      | 84.00  | 6      |
| 31.00 | 36     | 51.00 | 1      | 67.00 | 1      | 97.00  | 1      |
| 39.00 | 19     | 53.00 | 3      | 68.00 | 1      | 98.00  | 4      |
| 40.00 | 2      | 54.00 | 1      | 69.00 | 9      | 112.00 | 1      |

m/z 130  $M^+$

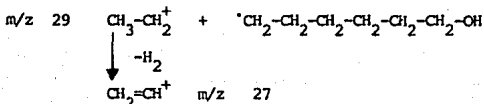
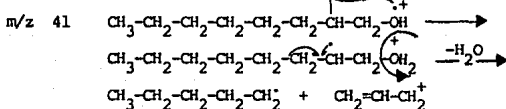
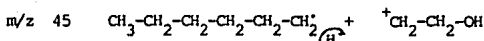
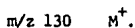


### Espectro del caprilico

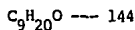
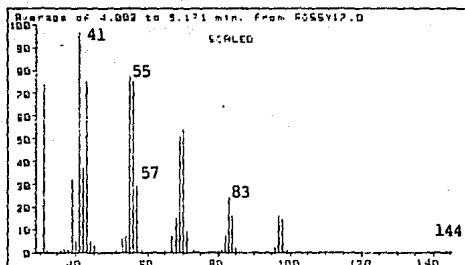


Average of 2.174 to 2.795 min. from ROSSY16.D  
ALCOHOL CAPRILICO

| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z    | abund. |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------|--------|--------|
| 15.00 | 4      | 39.00 | 9      | 46.00 | 2      | 69.00  | 4      |
| 19.00 | 2      | 40.00 | 1      | 53.00 | 1      | 70.00  | 3      |
| 25.00 | 1      | 41.00 | 19     | 55.00 | 17     | 71.00  | 2      |
| 27.00 | 18     | 42.00 | 6      | 56.00 | 5      | 83.00  | 2      |
| 28.00 | 4      | 43.00 | 25     | 57.00 | 6      | 84.00  | 3      |
| 29.00 | 19     | 44.00 | 8      | 58.00 | 4      | 97.00  | 3      |
| 31.00 | 2      | 45.00 | 100    | 59.00 | 1      | 115.00 | 1      |



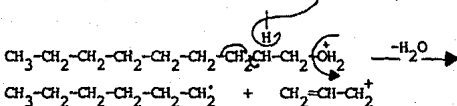
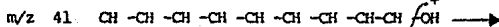
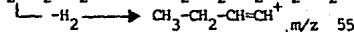
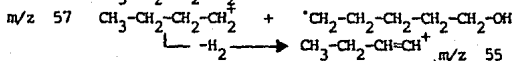
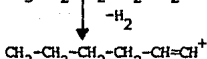
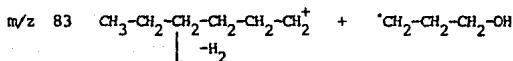
### Espectro del nonanol



Average of 4.002 to 5.171 min. from ROSSV17.D  
NONANOL

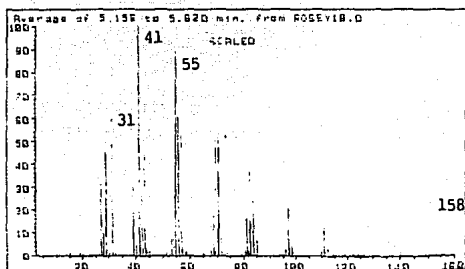
| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| 31.00 | 74     | 41.00 | 100    | 57.00 | 29     | 81.00 | 1      |
| 32.00 | 1      | 42.00 | 37     | 58.00 | 1      | 82.00 | 7      |
| 33.00 | 1      | 43.00 | 75     | 65.00 | 1      | 83.00 | 24     |
| 34.00 | 1      | 44.00 | 5      | 67.00 | 7      | 84.00 | 16     |
| 35.00 | 1      | 45.00 | 3      | 69.00 | 15     | 85.00 | 2      |
| 36.00 | 1      | 51.00 | 1      | 69.00 | 51     | 96.00 | 2      |
| 37.00 | 2      | 53.00 | 6      | 70.00 | 54     | 97.00 | 16     |
| 38.00 | 1      | 54.00 | 7      | 71.00 | 9      | 98.00 | 15     |
| 39.00 | 32     | 55.00 | 77     | 73.00 | 1      | 99.00 | 1      |
| 40.00 | 5      | 56.00 | 75     |       |        |       |        |

m/z 144  $M^{+}$





# Espectro del decanol

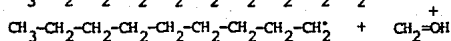
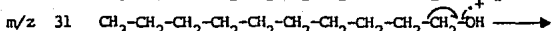
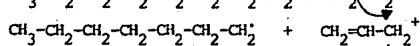
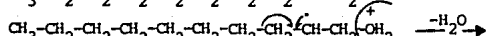
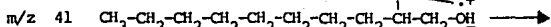
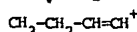
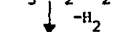
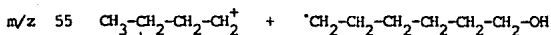


$C_{10}H_{22}O$  --- 158

Average of 5.156 to 5.620 min. from ROSEY18.D  
DECANOL

| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z    | abund. |
|-------|--------|-------|--------|-------|--------|--------|--------|
| 15.00 | 1      | 41.00 | 100    | 55.00 | 1      | 83.00  | 45     |
| 19.00 | 1      | 42.00 | 30     | 65.00 | 1      | 84.00  | 28     |
| 26.00 | 2      | 43.00 | 71     | 67.00 | 11     | 85.00  | 5      |
| 27.00 | 35     | 44.00 | 4      | 68.00 | 19     | 96.00  | 3      |
| 28.00 | 9      | 45.00 | 3      | 69.00 | 58     | 97.00  | 21     |
| 29.00 | 46     | 51.00 | 1      | 70.00 | 60     | 98.00  | 8      |
| 30.00 | 1      | 53.00 | 8      | 71.00 | 10     | 110.00 | 1      |
| 31.00 | 60     | 54.00 | 8      | 73.00 | 1      | 111.00 | 11     |
| 32.00 | 1      | 55.00 | 88     | 79.00 | 1      | 112.00 | 13     |
| 39.00 | 32     | 56.00 | 61     | 81.00 | 2      | 113.00 | 1      |
| 40.00 | 6      | 57.00 | 36     | 82.00 | 16     | 140.00 | 1      |

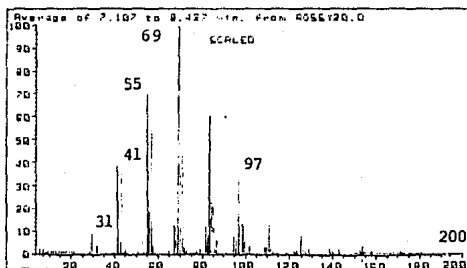
m/z 158  $M^+$







### Espectro del tridecanol

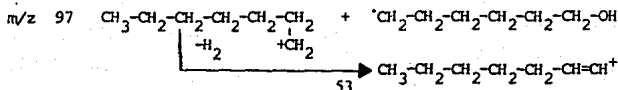


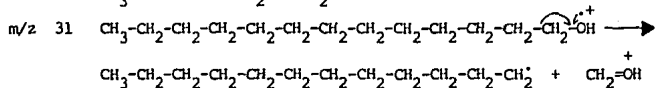
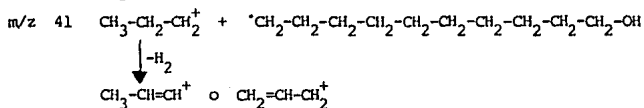
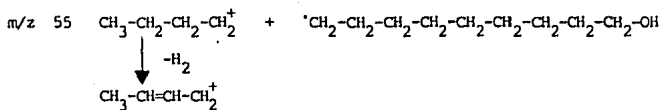
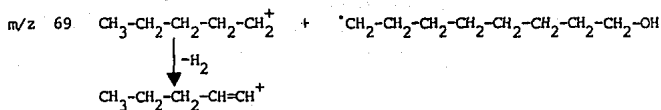
$C_{13}H_{28}O$  --- 200

Average of 7.107 to 8.427 min. from ROESY20.0  
TRIDECANOL

| m/z   | abund. | m/z   | abund. | m/z    | abund. | m/z    | abund. |
|-------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 4.00  | 2      | 31.00 | 6      | 70.00  | 36     | 109.00 | 3      |
| 5.00  | 2      | 39.00 | 7      | 71.00  | 42     | 110.00 | 3      |
| 6.00  | 1      | 40.00 | 1      | 72.00  | 3      | 111.00 | 17     |
| 7.00  | 1      | 41.00 | 41     | 73.00  | 1      | 112.00 | 6      |
| 8.00  | 1      | 42.00 | 6      | 77.00  | 1      | 113.00 | 2      |
| 9.00  | 1      | 43.00 | 36     | 79.00  | 2      | 115.00 | 2      |
| 10.00 | 1      | 44.00 | 2      | 81.00  | 11     | 123.00 | 1      |
| 11.00 | 1      | 45.00 | 2      | 82.00  | 7      | 124.00 | 2      |
| 12.00 | 1      | 51.00 | 1      | 83.00  | 60     | 125.00 | 6      |
| 13.00 | 1      | 53.00 | 5      | 84.00  | 23     | 126.00 | 3      |
| 14.00 | 1      | 54.00 | 1      | 85.00  | 22     | 127.00 | 1      |
| 15.00 | 1      | 55.00 | 72     | 86.00  | 2      | 129.00 | 2      |
| 16.00 | 1      | 56.00 | 19     | 87.00  | 6      | 139.00 | 2      |
| 17.00 | 1      | 57.00 | 64     | 95.00  | 7      | 140.00 | 1      |
| 19.00 | 1      | 59.00 | 3      | 96.00  | 6      | 143.00 | 2      |
| 21.00 | 1      | 59.00 | 1      | 97.00  | 37     | 153.00 | 1      |
| 22.00 | 1      | 65.00 | 1      | 98.00  | 12     | 154.00 | 4      |
| 27.00 | 2      | 67.00 | 12     | 99.00  | 5      | 157.00 | 1      |
| 28.00 | 1      | 68.00 | 5      | 101.00 | 3      | 171.00 | 1      |
| 29.00 | 8      | 69.00 | 100    |        |        |        |        |

m/z 200  $M^+$





comprobándose que ninguno de ellos generaba las señales elegidas, o que, el 1<sub>r</sub> era diferente al del carbamato de etilo o benceno hexadeuterado.

Señales de alcoholes y glicoles comparadas con las señales elegidas del carbamato de etilo y benceno hexadeuterado

| IONES        | 62      | 74       | 82 | 84 | 89       |
|--------------|---------|----------|----|----|----------|
| Et Glicol    | si (4%) | no       | no | no | no       |
| Diet Glicol  | no      | no       | no | no | no       |
| Triet Glicol | no      | no       | no | no | si (18%) |
| Tetraet Glic | no      | no       | no | no | no       |
| Metanol      | no      | no       | no | no | no       |
| Etanol       | no      | no       | no | no | no       |
| Propanol     | no      | no       | no | no | no       |
| 2-Amino Et   | no      | no       | no | no | no       |
| Isopropanol  | no      | no       | no | no | no       |
| n-Butanol    | no      | no       | no | no | no       |
| Isobutanol   | no      | si (10%) | no | no | no       |
| tert-Butanol | no      | no       | no | no | no       |
| Amilico      | no      | no       | no | no | no       |
| Isoamilico   | no      | no       | no | no | no       |
| 2-Etil Hexa  | no      | no       | no | no | no       |
| Caprilico    | no      | no       | no | no | no       |
| Nonanol      | no      | no       | no | no | no       |
| Decanol      | no      | no       | no | no | no       |
| Láurico      | no      | no       | no | no | no       |
| Tridecanol   | no      | no       | no | no | no       |

(%) : indica la intensidad de la señal.

## Cromatogramas.

Se prepararon disoluciones estándar que contenían en un volumen de 10ml. de agua: benceno hexadeuterado (10ppm) y carbamato de etilo ( de 10ppm hasta 60ppm ). El disolvente fué agua destilada.

Con las condiciones antes dadas, en el cromatógrafo de gases se inyectó cinco veces 2 µl de cada disolución estándar por medio de una microjeringa de vidrio.

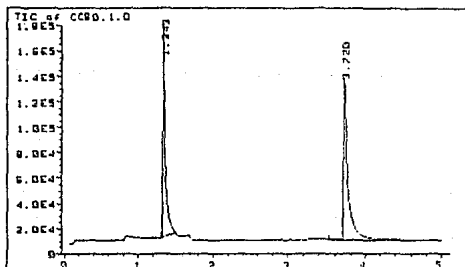
Los siguientes seis cromatogramas, corresponden a las diferentes concentraciones de las disoluciones estándar. Los parámetros de integración para todos los cromatogramas fueron:

\*\*\* Integration Parameters \*\*\*

FALSE : Shoulder Detection Enabled  
0.020 : Expected Peak Width (Min)  
11 : Initial Peak Detection Threshold

0.000 THRESHOLD 10.000  
0.000 PEAK\_WIDTH 0.100  
3.000 THRESHOLD 11.000

### Cromatograma #1

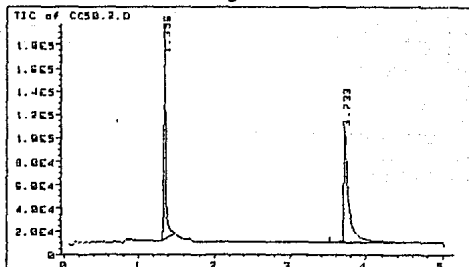


TIC of CCG0.1.D  
SOL. EC60ppm-E110ppm

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.343    | 3046726 | 1.299      | 1.502    |
| 2     | 3.720    | 5263008 | 3.516      | 4.575    |

Disolución estándar #1: benceno hexadeuterado ( 9.97ppm )  $t_r$ : 1.343min.  
carbamato de etilo ( 61.34ppm )  $t_r$ : 3.720min.

### Cromatograma #2

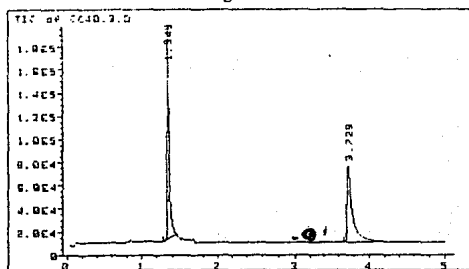


TIC of CC50.2.D  
SOL: EC40ppm-EI10ppm

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.356    | 2342068 | 1.314      | 1.478    |
| 2     | 3.733    | 4112592 | 3.531      | 4.295    |

Disolución estándar #2: benceno hexadeuterado (9.97ppm)  $t_r$ : 1.356min.  
 carbamato de etilo (51.12ppm)  $t_r$ : 3.733min.

### Cromatograma #3



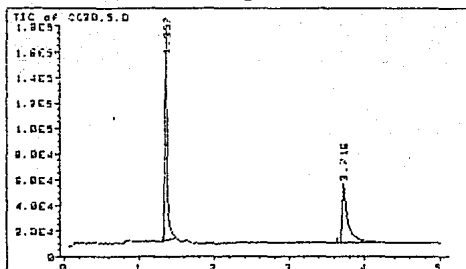
TIC of CC40.3.D  
SOL: EC40ppm-EI10ppm

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.349    | 2545313 | 1.299      | 1.454    |
| 2     | 3.729    | 3267244 | 3.671      | 4.347    |

Disolución estándar #3: benceno hexadeuterado (9.97ppm)  $t_r$ : 1.349min.  
 carbamato de etilo (40.9ppm)  $t_r$ : 3.729min.



### Cromatograma #4

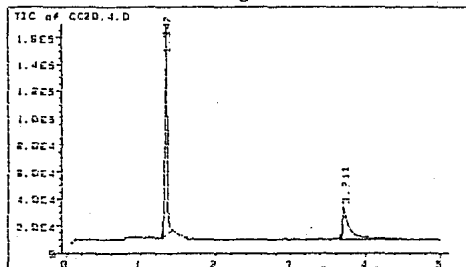


TIC of CC20.5.D  
SOL: EC30ppm-E110ppm

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.357    | 2444039 | 1.314      | 1.486    |
| 2     | 3.716    | 2315073 | 3.642      | 4.201    |

Disolución estándar #4: benceno hexadeuterado (9.97ppm)  $t_r$ : 1.357min.  
 carbamato de etilo (30.67ppm)  $t_r$ : 3.716min.

### Cromatograma #5

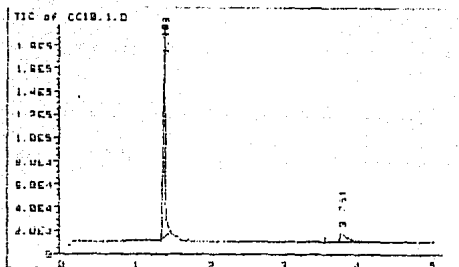


TIC of CC20.4.D  
SOL: EC20ppm-E110ppm

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.347    | 2074751 | 1.299      | 1.439    |
| 2     | 3.711    | 1477128 | 3.656      | 4.442    |

Disolución estándar #5: benceno hexadeuterado (9.97ppm)  $t_r$ : 1.347min.  
 carbamato de etilo (20.45ppm)  $t_r$ : 3.711min.

### Cromatograma #6



TIC of CC10.1.D  
 SOL. EC10ppm-EI10ppm

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.363    | 2450775 | 1.321      | 1.470    |
| 2     | 3.751    | 653295  | 3.526      | 4.238    |

Disolución estándar #6: benceno hexadeuterado ( 9.97ppm )  $t_r$ : 1.363min.  
 carbamato de etilo ( 10.22ppm )  $t_r$ : 3.751min.

La curva de calibración se elaboró con la relación de áreas de los picos de los cromatogramas anteriores.

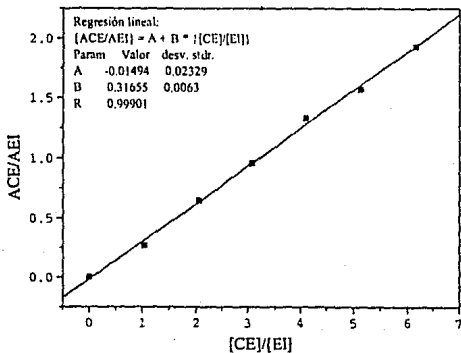
|  | 60ppm | 50ppm | 40ppm | 30ppm | 20ppm | 10ppm |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Relación<br>de<br>áreas<br>( $A_{CE}/A_{Et}$ ) | 1.73  | 1.58  | 1.36  | 1.1   | 0.65  | 0.27  |
|  | 2.09  | 1.56  | 1.24  | 0.98  | 0.56  | 0.25  |
|  | 1.75  | 1.50  | 1.28  | 0.86  | 0.63  | 0.27  |
|  | 2.31  | 1.65  | 1.53  | 0.91  | 0.71  | 0.27  |
|  | 1.78  | 1.57  | 1.25  | 0.95  | 0.69  | 0.29  |
| $\bar{x}$                                      | 1.93  | 1.57  | 1.33  | 0.96  | 0.65  | 0.27  |
| $\sigma$                                       | 0.23  | 0.05  | 0.11  | 0.08  | 0.05  | 0.01  |

| Disolución estándar | [ CE ] | [ EI ] | $x = [ CE ] / [ EI ]$ | $y = \bar{x}$ de $A_{CE}/A_{EI}$ |
|---------------------|--------|--------|-----------------------|----------------------------------|
| #1                  | 61.34  | 9.97   | 6.15                  | 1.93                             |
| #2                  | 51.12  | 9.97   | 5.13                  | 1.57                             |
| #3                  | 40.90  | 9.97   | 4.10                  | 1.33                             |
| #4                  | 30.67  | 9.97   | 3.08                  | 0.96                             |
| #5                  | 20.45  | 9.97   | 2.05                  | 0.65                             |
| #6                  | 10.22  | 9.97   | 1.03                  | 0.27                             |

[ CE ]: Concentración del carbamato de etilo en ppm

[ EI ]: Concentración del estándar interno ( benceno hexadeuterado ) en ppm

Curva de Calibración Estándar



Si la correlación es una estimación de la linealidad entre las variables aleatorias, se considera que se obtuvo una correlación buena (0.999), indicándonos que todas las probabilidades se encuentran concentradas a lo largo de la recta y entonces, hay una relación lineal perfecta entre las dos variables aleatorias.

## ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS.

En éste trabajo, se analizaron 15 tequilas nacionales. Se agradece a la Cámara Nacional Tequilera de Jalisco por la valiosa colaboración en facilitarnos las muestras.

Los tequilas fueron identificados con una clave de trabajo:

| <u>Clave de trabajo</u> | <u>Procedencia</u>  |
|-------------------------|---------------------|
| Teq 1                   | Tequila, Jalisco    |
| Teq 2                   | Atotonilco, Jalisco |
| Teq 3                   | Tequila, Jalisco    |
| Teq 4                   | Atotonilco, Jalisco |
| Teq 5                   | Tepatitlán, Jalisco |
| Teq 6                   | Tototlán, Jalisco   |
| Teq 7                   | Tequila, Jalisco    |
| Teq 8                   | Tequila, Jalisco    |
| Teq 9                   | -                   |
| Teq 10                  | Tequila, Jalisco    |
| Teq 11                  | Tequila, Jalisco    |
| Teq 12                  | Atotonilco, Jalisco |
| Teq S                   | -                   |
| Teq C                   | -                   |
| Teq CA                  | -                   |

A las bebidas alcohólicas se les determinó el grado alcohólico, dado que éste parámetro es una buena evaluación del proceso de destilación y fermentación, y porque es conveniente saber lo más posible acerca de las muestras a analizar.

El procedimiento que se siguió para determinar el grado alcohólico en los tequilas fué:

- Se realizó una curva patrón, utilizando como estándar interno acetona (6%).
- Se prepararon cuatro disoluciones estándar conteniendo diferentes concentraciones de etanol (de 4,6,8 y 10%).
- En un cromatógrafo HP 3390A se inyectó con una microjeringa de vidrio, cinco veces las disoluciones estándar con las siguientes condiciones: Columna Carbowax 20M, T° detector:180°C, T° inyector:170°C, T° Columna:70°C, gas acarreador:N<sub>2</sub>

d) Se sacó el Factor de respuesta relativo (Frr) de cada área de los

$$\text{picos: } Frr = \frac{A_{et}}{A_{acet}} \times \frac{[acet]}{[et]}$$

e) Ya obtenida la  $\bar{x}$  Frr, se prepararon soluciones conteniendo cada una a un tequila diferente con el mismo estándar interno antes usado. Se inyectó en el cromatógrafo las soluciones conteniendo a la muestra y se procedió a determinar el grado alcohólico, utilizando:

$$[et] = (A_{et} / A_{acet}) \times ([acet] / Frr)$$

f) Resultados:

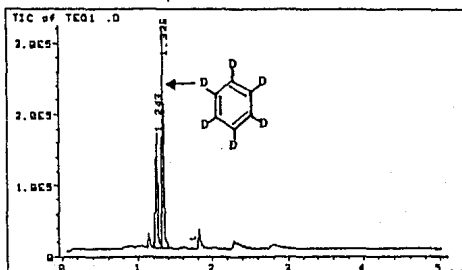
|                   |                   |                    |
|-------------------|-------------------|--------------------|
| Tequila #1: 41.5% | Tequila #5: 41.4% | Tequila #9: 53.3%  |
| Tequila #2: 54.7% | Tequila #6: 54.9% | Tequila #10: 47.2% |
| Tequila #3: 54.2% | Tequila #7: 23.3% | Tequila #11: 56.5% |
| Tequila #4: 51.6% | Tequila #8: 38.5% | Tequila #12: 55.3% |

Con las condiciones ya establecidas, se analizaron las muestras, a las cuales se les añadió 10ppm de benceno hexadeuterado.

Cromatogramas.

Cada cromatograma corresponde a un tequila diferente al que se le ha añadido estándar interno. Se pudo comprobar que ninguna muestra contenía carbamato de etilo por arriba de 10ppm. Este valor resultó ser el límite de detección del método.

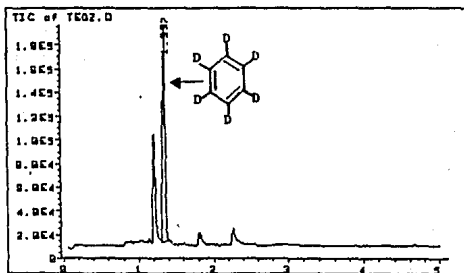
Teq 1 con estándar interno



TIC of TEQ1.D  
SOL: EI10ppm-tequila #1

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.243    | 2757396 | 1.189      | 1.306    |
| 2     | 1.326    | 4095762 | 1.306      | 1.431    |

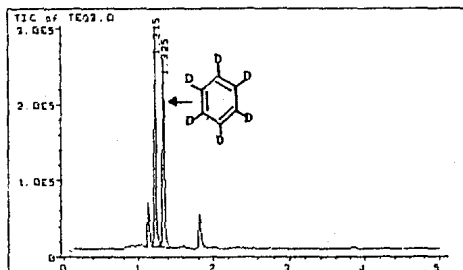
Teq 2 con estándar interno



TIC of TEQ2.D  
SOL. E110ppm-tequila #2

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.337    | 2807032 | 1.307      | 1.408    |

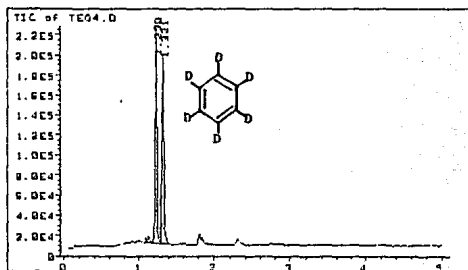
Teq 3 con estándar interno



TIC of TEQ3.D  
SOL. E110ppm-tequila #3

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.215    | 3681496 | 1.181      | 1.289    |
| 2     | 1.325    | 2964058 | 1.289      | 1.423    |

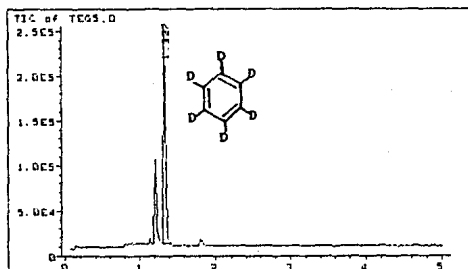
Teq 4 con estándar interno



TIC of TEQ4.D  
SOL. E110ppm-tequila #4

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.230    | 2699022 | 1.087      | 1.291    |
| 2     | 1.321    | 3025107 | 1.291      | 1.392    |

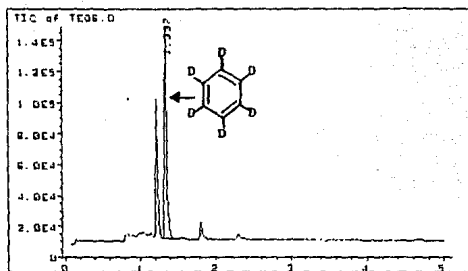
Teq 5 con estándar interno



IC of TEQ5.D  
SOL. E110ppm-tequila #5

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.327    | 3013088 | 1.307      | 1.408    |

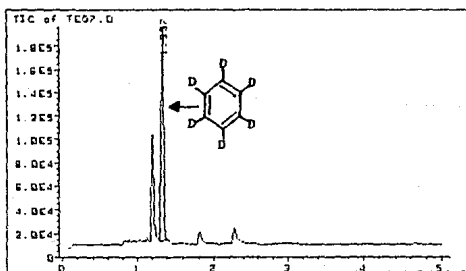
Teq 6 con estándar interno



TIC of TE06.C  
SOL. E110ppm-tequila #6

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.337    | 2400505 | 1.306      | 1.424    |

Teq 7 con estándar interno

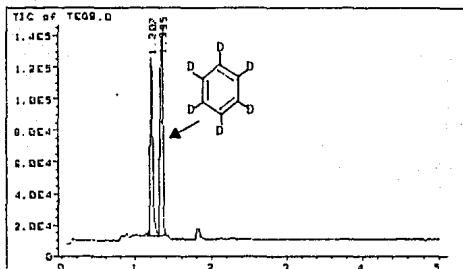


TIC of TE07.D  
SOL. E110ppm-tequila #7

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.337    | 2807032 | 1.307      | 1.408    |



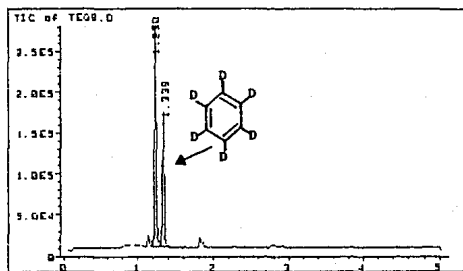
Teq 8 con estándar interno



TIC of TEQ8.D  
SOL. E110ppm-tequila #8

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.207    | 2486570 | 1.166      | 1.306    |
| 2     | 1.335    | 2260031 | 1.306      | 1.400    |

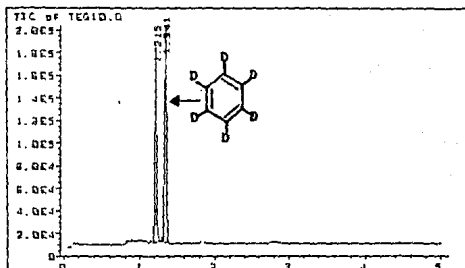
Teq 9 con estándar interno



TIC of TEQ9.D  
SOL. E110ppm-tequila #9

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.230    | 3104479 | 1.189      | 1.306    |
| 2     | 1.339    | 2120955 | 1.306      | 1.408    |

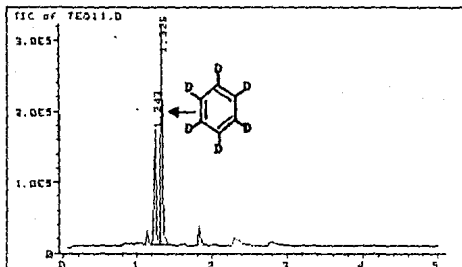
Teq 10 con estándar interno



TIC of TEQ10.D  
 SOL. E110ppm-tequila #10

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.215    | 2187457 | 1.174      | 1.299    |
| 2     | 1.341    | 2206963 | 1.307      | 1.408    |

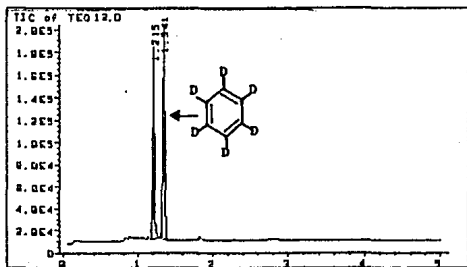
Teq 11 con estándar interno



TIC of TEQ11.D  
 SOL. E110ppm-tequila #11

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.243    | 2757396 | 1.189      | 1.306    |
| 2     | 1.326    | 4095762 | 1.306      | 1.431    |

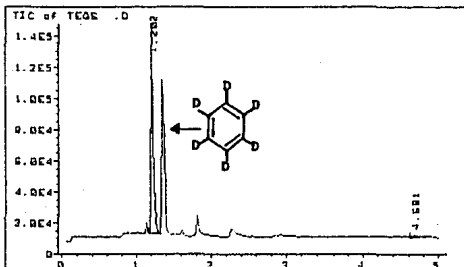
Teq 12 con estándar interno



TIC of TEQ12.D  
SOL. EI10ppm-tequila #12

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.215    | 2167457 | 1.174      | 1.299    |
| 2     | 1.341    | 2206963 | 1.307      | 1.408    |

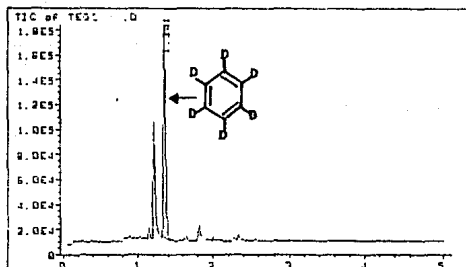
Teq S con estándar interno



TIC of TEQS .D  
SOL. EI10ppm-tequila SAUZA

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.202    | 2478956 | 1.166      | 1.322    |
| 2     | 4.681    | 41739   | 4.622      | 4.888    |

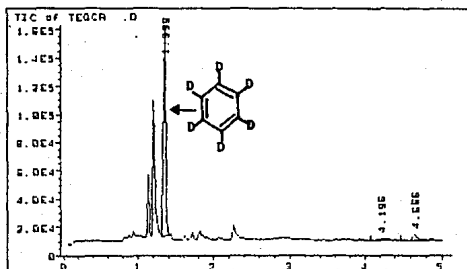
Teq C con estándar interno



TIC of TEQC .D  
SOL. E110ppm-tequila CUERVO

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.341    | 1994241 | 1.299      | 1.416    |

Teq CA con estándar interno



TIC of TEQCA .D  
SOL. E110ppm-tequila CAZADORES

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.339    | 2061273 | 1.307      | 1.408    |
| 2     | 4.196    | 66443   | 4.077      | 4.349    |
| 3     | 4.666    | 203181  | 4.482      | 4.979    |

Se pudo observar que, aunque los tequilas contienen un compuesto que genera un ión característico igual al carbamato de etilo, ninguno aparece en el  $t_r$  de este compuesto ( $3.465 \pm 0.05 \text{ min.}$ ).

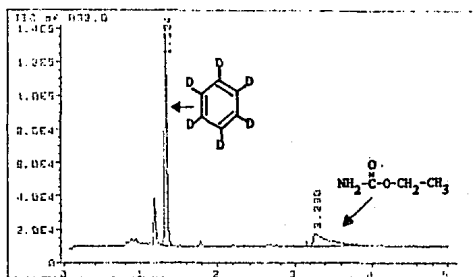
## DESARROLLO DEL METODO.

Para comprobar que el método puede discriminar, se fortificaron los tequilas con diferentes cantidades de carbamato de etilo (de 2.5ppm hasta 30ppm).

Se inyectó cada solución de tequila fortificada con la microjeringa de vidrio. Se obtuvieron los cromatogramas respectivos y se integraron con los parámetros antes establecidos.

Cromatogramas.

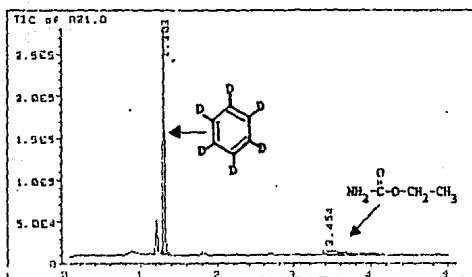
Cromatograma de tequila fortificado con 30ppm de carbamato de etilo



TIC of A22.D  
TEQ.#10 EC30PPM-E110PPM

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.324    | 1481167 | 1.282      | 1.399    |
| 2     | 3.290    | 994657  | 3.151      | 4.018    |

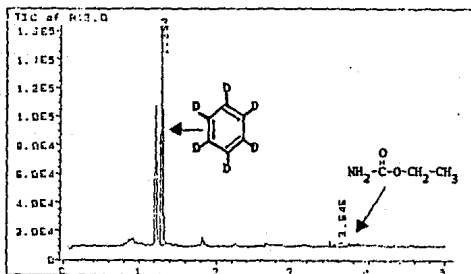
Cromatograma de tequila fortificado con 20ppm de carbamato de etilo



TIC of A21.0  
TEO. #10 EC20PPM-E110PPM

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.309    | 2821931 | 1.275      | 1.332    |
| 2     | 3.454    | 660334  | 3.370      | 4.121    |

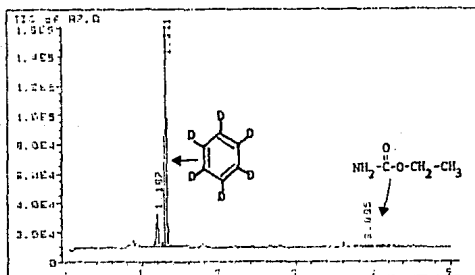
Cromatograma de tequila fortificado con 10ppm de carbamato de etilo



TIC of A13.0  
TEO. #10 EC10PPM-E110PPM

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.294    | 1517563 | 1.275      | 1.361    |
| 2     | 3.646    | 292333  | 3.594      | 3.996    |

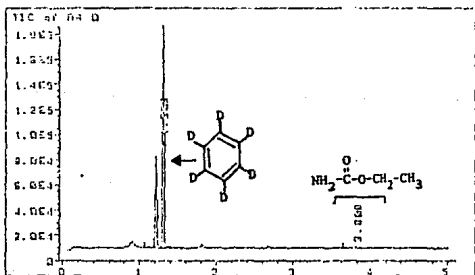
Cromatograma de tequila fortificado con 5ppm de carbamato de etilo



TIC of A7.D  
TEQ.410 EC5 PPM-EI10PPM

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.197    | 350960  | 1.143      | 1.264    |
| 2     | 1.311    | 1655948 | 1.264      | 1.415    |
| 3     | 3.895    | 147379  | 3.611      | 4.435    |

Cromatograma de tequila fortificado con 2.5ppm de carbamato de etilo



TIC of A4.D  
TEQ.310 EC2 PPM-EI10PPM

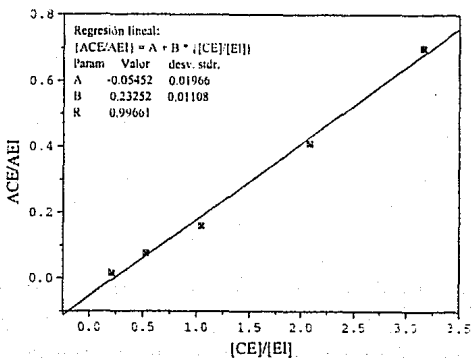
| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.302    | 2801958 | 1.061      | 1.587    |
| 2     | 3.908    | 14715   | 3.621      | 3.942    |

Nuevamente, al sacar la relación de las áreas de los picos, se elaboró una curva de calibración de tequilas fortificados, para observar si existe alguna variación significativa en el valor de la pendiente con respecto a la pendiente de la curva de calibración estándar

|                 | 30ppm | 20ppm | 10ppm | 5ppm  | 2.5ppm |
|-----------------|-------|-------|-------|-------|--------|
| Relación        | 0.78  | 0.41  | 0.12  | 0.032 | 0.005  |
| de              | 0.67  | 0.46  | 0.16  | 0.082 | 0.019  |
| áreas           | 0.64  | 0.41  | 0.13  | 0.089 | 0.005  |
| $A_{CE}/A_{EI}$ | 0.70  | 0.40  | 0.22  | 0.068 | 0.019  |
|                 | 0.70  | 0.38  | 0.16  | 0.11  | 0.032  |
| $\bar{x}$       | 0.70  | 0.41  | 0.16  | 0.076 | 0.016  |
| $\sigma$        | 0.05  | 0.09  | 0.04  | 0.02  | 0.01   |

| Disolución estándar | [ CE ] | [ EI ] | $x = [ CE ] / [ EI ]$ | $y = \bar{x}$ de $A_{CE}/A_{EI}$ |
|---------------------|--------|--------|-----------------------|----------------------------------|
| #1                  | 31.17  | 9.86   | 3.16                  | 0.70                             |
| #2                  | 20.51  | 9.86   | 2.08                  | 0.41                             |
| #3                  | 10.30  | 9.86   | 1.05                  | 0.16                             |
| #4                  | 5.20   | 9.86   | 0.53                  | 0.076                            |
| #5                  | 2.08   | 9.86   | 0.21                  | 0.016                            |

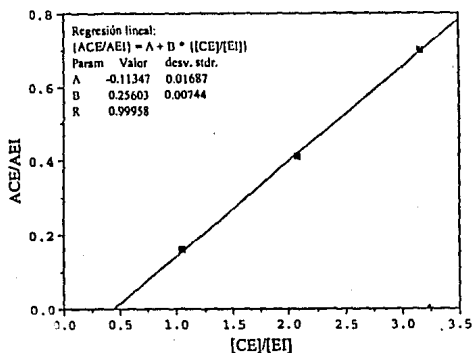
Curva de Calibración de Tequilas Fortificados





Como no se obtuvo una buena correlación, se sacó el coeficiente de variación de cada concentración, encontrando que 5ppm y 2.5ppm tienen un % de variación mayor a cinco, lo que hace que el límite de detección de este método sea 10ppm. Sin considerar estas concentraciones en la curva de calibración de tequilas fortificados, nos queda:

### Curva de Calibración de Tequilas Fortificados

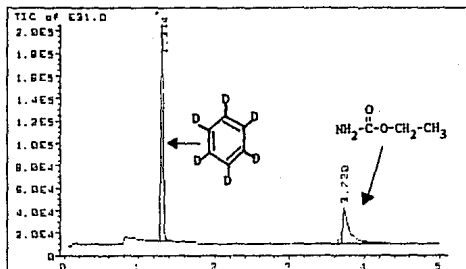


Obteniendo una relación lineal casi perfecta entre las dos variables.

### REPRODUCIBILIDAD DEL METODO.

Se preparó de nuevo una disolución estándar de 30ppm de carbamato de etilo. Entre inyecciones de las soluciones de tequila fortificado, se inyectó varias veces 2 $\mu$ l de la nueva disolución estándar, con el fin de demostrar que el método es reproducible.

Cromatograma de la nueva disolución de 30ppm  
de carbamato de etilo



TIC of E31.0  
SOL.EST.EC30PPM-E110PPM

| peak# | ret time | area    | start time | end time |
|-------|----------|---------|------------|----------|
| 1     | 1.314    | 2893187 | 1.275      | 1.384    |
| 2     | 3.720    | 2022323 | 3.651      | 4.519    |

**PRECISIÓN.**

Si nos apegamos a las especificaciones que publica el EPA ( Environmental Protection Agency ), la precisión de un método que involucre al espectro de masas no debe tener una variación mayor del 30%. Por consiguiente, fué necesario sacar la precisión del método, para ver si la variación obtenida entraba en el límite permisible.

Se preparó por separado tres soluciones de igual concentración ( 30ppm de carbamato de etilo-10ppm de benceno hexadeuterado ). De nuevo, en el cromatógrafo de gases se inyectó cada solución para obtener la relación de áreas de los dos picos de cada

cromatograma y así sacar, el factor de respuesta relativo ( Frr ) de cada solución y obtener la media (  $\bar{x}$  ) y desviación estándar (  $\sigma$  ).

$$F_{rr} = \frac{A_{CE}}{A_{EI}} \cdot \frac{[EI]}{[CE]}$$

| Solución                 | #1       | #2       | #3       |
|--------------------------|----------|----------|----------|
| [ EI ]                   | 10.74ppm | 10.74ppm | 10.74ppm |
| [ CE ]                   | 35.2ppm  | 30.6ppm  | 32.4ppm  |
| Frr de cada cromatograma | 0.30     | 0.35     | 0.33     |
|                          | 0.31     | 0.32     | 0.31     |
|                          | 0.34     | 0.34     | 0.31     |
|                          | 0.25     | 0.31     | 0.27     |

$$\bar{x} = 0.31$$

$$\sigma = 2.764 \times 10^{-2}$$

coeficiente de variación ( c.v. ):  $\frac{\bar{x}}{\sigma} \cdot 100$

sustituyendo valores, nos queda que el c.v. del método es: 8.9% a lo que se traduce que el método tiene una muy buena precisión.

## CONCLUSIONES

Es un método que involucra una sencilla interpretación de espectros, ya que, al estudiar por separado los compuestos que tienen estructura semejante, se encontró que tienen patrones comunes en la fragmentación.

De acuerdo a la bibliografía, con el ión  $m/z$  44 se cuantifica, pero se concluyó que era con el ión  $m/z$  62 con el que se iba a cuantificar, ya que al ión  $m/z$  44 aunque es el pico más abundante, lo producen los glicoles y la mayoría de los alcoholes presentes en las bebidas alcohólicas.

Al realizar la curva de calibración de tequilas fortificados, se observó que varió el valor de la pendiente con respecto a la pendiente de la curva de calibración estándar, a lo que se concluye que existe una baja sensibilidad en el método al momento de analizar las muestras, pues se cree que durante la ionización, las muchas moléculas de etanol que se ionizaron, provocaron una menor probabilidad de que se ionizaran las moléculas de carbamato de etilo presentes en el tequila, lo que provocó que los valores de las áreas disminuyeran con respecto a los de la curva de calibración estándar.

El método tiene una buena precisión, ya que al obtener 8.9% de variación, entra muy bien en el límite permisible que es 30%.

Al desarrollar un método consistente, se demostró que éste método es reproducible y que permite detectar carbamato de etilo en bebidas alcohólicas por arriba de 10ppm. Estos resultados, abren las posibilidades de efectuar estudios médicos con el fin de evaluar el efecto cancerígeno a cierta cantidad de carbamato de etilo ya que, no existen datos clínicos que traten sobre los límites permisibles de éste compuesto en éste tipo de bebidas.

El método ofrece una linealidad excelente, a lo que se concluye que reuniendo todas éstas características obtenemos un método preciso y confiable.

## Bibliografia

- ( 1 ) Ough C. S., " Ethyl Carbamate in fermented beverages and foods", J.Agric. Food Chem., 1976, Vol. 24, num. 2 y Vol. 54 p. 323-328.
- ( 2 ) a) Bertrand et. al., "Le Carbamate de Ethyle dans les eaux de vie de vin, Connaissance de la Vigne et du Vin, 1986, num. 2.
- b) M.J.Dennis et. al., "Method for the analysis of ethyl carbamate in alcoholic beverages by capillary gas chromatography", Journal of Chromatography, 1986, Vol. 369, p. 193-198.
- c) R.Bailey et.al., "Determination of ethyl carbamate in alcoholic beverages by methylation and gas chromatography with nitrogen-phosphorus thermionic detection", Journal of Chromatography, 1986, Vol. 369, p.199-202.
- d) Gaetano G. Matta, "Dosage du carbamate de ethyle dans les vins et spiritueux par chromatographie en phase gazeuse/spectrometrie de masse", bulletin de l'OIV, 1987, num.671,672.
- e) Henry B.S. Conacher, B. Denis Page, Ruth Bailey " Capillary Column Gas Chromatographic determination of Ethyl Carbamate in alcoholic Beverages with confirmation by Gas Chromatography / Mass Spectrometry ". Journal of AOAC,1987, Vol. 70, Num.4.
- f) Dr.Patrick et.al., " Analysis of Ethyl Carbamate in Brandy " AB 87-1. Hewlett Packard internal communication. HP Scientific Instruments Division, 1987.
- g) William C. Brumley et. al., "Quantitation of Ethyl Carbamate in alcoholic beverages by Gas Chromatography usin a triple quadropole Mass Spectrometer", Anal. Chemistry, 1988, Vol. 60, p. 975-978.
- h) B.J.Canas et. al., "Application og Gas Chromatography/Matrix Isolation/Fourier Transform Infrared Spectrometry to the determination of Ethyl Carbamate in alcoholic beverages and foods", Anal. Chemistry, 1988, Vol. 60, p. 945-948.
- i) C.Fauhl and R. Wittkowski, "Determination of Ethyl Carbamate in wine by GC-SIM-MS after continuous extraction with diethyl ether", Journal of High Resolution Chromatography, 1992, Vol. 15, p. 203-205.
- ( 3 ) Lacroute, F., Pierard, A., Grenson, M., Wiame, J.M., Journal General Microbioly, Vol. 40, 127 (1965).
- ( 4 ) Jerry March, "Advanced Organic Chemistry", Mc Graw-Hill, first edition, 1968, p.817,819.
- ( 5 ) Jerry March, "Advanced Organic Chemistry; Reactions, Mechanisms and Structure", third Edition, Ed. Board,1985.
- ( 6 ) Department of Health, Education and Welfare, " Studies on the Formation of Ethyl Carbamate as a Reaction Product of Diethyl Dicarbonate and Ammonium Ion in Acidic Beverages ", Final Report Sections C10, C32, C33, C35, submitted to Bureau of Foods, Washington, D.C., May 4, 1972.

- ( 7 ) B. Zimmerli and J. Schlatter. " Ethyl Carbamate: analytical methodology, occurrence, formation, biological activity and risk assessment ". Mutation Research, 1991.
- ( 8 ) Harold Mc Nair, H.M. and Bonelli, " Gas Chromatography ", 1981, Ed. OEA.
- ( 9 ) Habart H. Willard et al. " Instrumental Methods of Analysis ", Seventh Edition, 1988 by Wadsworth, Inc. Belmont, California. p. 513-537, 580-591.
- ( 10 ) Hans. F. Stich, "Carcinogens and Mutagens in the environment ", Vol. I, Food Products, 1982 by CRC Press, Inc, USA, p. 136.
- ( 11 ) Sandra, P. and Bicchi, C., "Capillary Gas Chromatography Methods ", Huethig N.Y. 1987.
- ( 12 ) Grob, Konrad; " Classical split and splitless injection in capillary GC Chromatography Methods ", Huethid N.Y. 1988.
- ( 13 ) F.W. Mc Lafferty, " Interpretación de los espectros de masas ", Ed. Reverté, 1960 and, 2nd ed. W.A. Benjamin, Reading, MA, 1973, p. 19.
- ( 14 ) Michael A. Grayson, " The Mass Spectrometer as a Detector for Gas Chromatography ", Journal of Chromatographic Science, 1986, Vol. 24, Mc Donell Douglas Research Laboratory, St. Louis, Missouri 63166, p. 529-541.
- ( 15 ) W.L. Budde and J.W. Eichelberger, " The mass spectrometer as a substance-selective detector in chromatography ". J. Chromatography, 1977, p. 134:147-58.
- ( 16 ) A.M. Lawson, C.K. Lim and W. Richmond " Current Developments in the Clinical Applications of HPLC, GC and MS ". 1980, Ed. Academic Prees, p. 177, 243-245, 277-279.
- ( 17 ) MC. Lafferty, F.W.; Wachs, T.; Lifshitz, Ch.; J. Am. Chem. Soc. 92 (23) 1970.
- ( 18 ) Williams, D.H.; Beynon, J.H.; Organic Mass Spectrometry 11, 1976, p. 103-116.
- ( 19 ) Kami, M.; Mandelbaum, A. Organic Mass Spectrometry 15, (2) 1980m p. 53-63.
- ( 20 ) Shrader, S.R., " Introduction Mass Spectrometry ", Allyn and Bacon Inc. Boston 1971, p. 53-132.
- ( 21 ) Howe, Ian, " Mass Spectrometry: principles and applications ", New York, Ed. McGraw-Hill 1981, p. 201-219.
- ( 22 ) White, Frederick Andrew, et al, " Mass Spectrometry: applications in Science and Engineering ", New York, Ed. J. Wiley 1986, p. 211-213.

( 23 ) Canadá, Bertrand, Viader Guixa Ramón. " Revisión histórica y estudio del Etilcarbamato ", Sevilla, "Sevi", Núm.2.305/6, 1990

( 24 ) Asociación Nacional de Vitivinicultores; S.P.P., Anuarios Estadísticos de Comercio Exterior y DGARE, Investigación Directa.