

Trabajo Fin de Grado

Adaptación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos clave del aroma del vino mediante un método de desorción térmica y GC-MS.

Autor/es

Tomás Lanzas Pescador

Directores

Mónica Bueno Fernández

Alexis Marsol Vall

Facultad de Ciencias

2021

Índice

Resumen.....	4
Abstract	4
1. Introducción.....	5
1.1. La Importancia de los Compuestos Carbonílicos Traza en el Aroma del Vino	5
1.2. Análisis de los Compuestos Carbonílicos.	6
2. Objetivos y Planteamiento del Trabajo	7
3. Parte Experimental.....	8
3.1. Instrumentos y Aparatos.....	8
3.2. Materiales, Disolventes y Reactivos	13
3.2.1. Disolventes	13
3.2.2. Cartuchos para la SPE.....	13
3.2.3. Reactivos y Estándares Químicos	13
3.2.4. Muestras.....	14
3.3. Procedimiento de Derivatización de compuestos carbonílicos	14
3.4. Optimización del método-análisis por GC-MS de los compuestos derivatizados	14
3.5. Selección del disolvente y el volumen de elución para el cartucho de SPE.....	15
3.6. Optimización de la extracción con Twister	15
3.6.1. Optimización del factor de dilución del extracto con agua.....	16
3.6.2. Optimización de la cantidad de extracto en masa.....	16
3.6.3. Optimización de la concentración de NaCl.....	16
3.6.4. Optimización del Tiempo de Extracción.....	17
3.6.5. Análisis Estadístico	17
4. Resultados y Discusión	17
4.1. Optimización del Método Cromatográfico	17
4.2. Selección del disolvente y el volumen de elución para el cartucho de SPE.....	20
.....	23
4.3. Optimización de la extracción con Twister	23
4.3.1. Optimización del factor de dilución del extracto con agua.....	23
4.3.2. Optimización de la cantidad de extracto en masa.....	24
4.3.3. Efecto de la Fuerza Iónica de la disolución en la extracción	25
4.3.4. Optimización del Tiempo de Extracción.....	26
5. Conclusiones.....	27
6. Bibliografía.....	28

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

7. Anexos	30
Anexo 1: Relación de aminoácidos con su respectivo aldehído de Strecker y sus correspondientes olores.	30
Anexo 2: Compuestos carbonílicos derivados de la oxidación de ácidos grasos	31
Anexo 3: Cálculo de las Concentraciones de las Disoluciones.	32
Anexo 4: Concentraciones de las Disoluciones Madre.	33
Anexo 5: Preparación de las Disoluciones Intermedias.	34
Anexo 6: Composición de la Disolución de Trabajo.	35
Anexo 7: Concentraciones de los compuestos carbonílicos en la muestra de vino sintético.	36
Anexo 8: Mezclas de compuestos a determinar para conocer sus tiempos de retención.	37
Anexo 9: Ejemplos de cromatogramas y espectros de masas de diferentes analitos	38
Anexo 10: Valores de los Log K_{ow} de los compuestos.....	43
Anexo 11: Valores de las Áreas para cada Disolvente.	44
Anexo 12: Porcentajes de las Áreas de los picos obtenidos para cada eluyente.	52
Anexo 13: Porcentajes de las Áreas y sus respectivas sumas para la obtención de las representaciones	60
Anexo 14: Relación entre las Áreas de los picos y la del Patrón Interno (2,3,4-TCA).	64

Resumen

Este estudio presenta la adaptación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos traza del vino. Éstos pueden presentar aromas desagradables, disminuyendo su calidad. La estrategia propuesta se basa en la Extracción por Sorción sobre barra agitadora (SBSE, de sus siglas en inglés) de las oximas previamente generadas de estos compuestos. De esta forma, se llega a tener una elevada sensibilidad que permite detectar los compuestos en GC-MS. Se ha optimizado el método cromatográfico, localizando los tiempos de retención y las principales relaciones m/z de cada uno de los analitos. Se estudiaron disolventes de distinta polaridad y su volumen necesario para la elución de las oximas en la primera etapa del análisis. Entre los disolventes estudiados compatibles con la posterior SBSE se encontraban el etanol, el metanol y mezclas de etanol/hexano. También se realizó la optimización de la extracción con los Twisters, donde se estudiaron varios parámetros como el factor de dilución del extracto en agua, la cantidad de analito en masa a adicionar y el estudio de la necesidad de aumentar o no la fuerza iónica de la disolución. Por último, se estudió el tiempo de extracción óptimo para maximizar la extracción de los analitos con el Twister. En definitiva, las oximas deben eluirse con un volumen optimizado de 1,5 mL de etanol (20% de hexano) para realizar la SBSE. Además, en la extracción con el Twister, las cantidades de agua y de analito óptimas a añadir fueron de 5 mL y de 100 μ L respectivamente. Se llegó a la conclusión, también, de que no era necesario adicionar NaCl a la dilución y que el tiempo de extracción óptimo sería de 2 horas. Estos resultados tienen el potencial de dar lugar a un método analítico validado para la cuantificación de compuestos carbonílicos traza en el vino.

Abstract

This study presents the adaptation of an analytical method for the determination of trace carbonyl compounds in wine. These compounds can present unpleasant aromas in wine, diminishing its quality. The proposed method is based on Sorption Stir Bar Sorption Extraction (SBSE) of the previously generated oximes of these compounds. In this way, a high sensitivity is achieved that allows the compounds to be detected in GC-MS. The chromatographic method has been optimised, locating the retention times and the main m/z ratios of each of the analytes. Solvents of different polarity and their volume necessary for the elution of the oximes in the first stage of the analysis were studied. Among the solvents studied that were compatible with the subsequent SBSE were ethanol, methanol and mixtures of ethanol with hexane. The optimisation of the extraction with Twisters was also carried out, where several parameters were studied, such as the dilution factor of the extract in water, the amount of analyte by mass to be added and the need to increase or not the ionic strength of the solution. Finally, the optimal extraction time was studied to maximise the analyte extraction with the Twister. Ultimately, the oximes should be eluted with an optimized volume of 1.5 mL of ethanol (20% hexane) in order to carry out SBSE. Furthermore, in the Twister extraction, the optimal amounts of water and analyte to add were 5 mL and 100 μ L respectively. It was also concluded that the addition of NaCl to the dilution was unnecessary and that the optimal extraction time would be 2 hours. These results can potentially result into a validated analytical method to analyse trace carbonyls in wine.

1. Introducción

1.1. La Importancia de los Compuestos Carbonílicos Traza en el Aroma del Vino

El vino es uno de los alimentos cuyo aroma está considerado de los más complejos, ya que contiene una gran cantidad de odorantes pertenecientes a distintas familias químicas. De entre ellas, los aldehídos y las cetonas son sin lugar a duda el conjunto más diverso desde el punto de vista sensorial y juegan un papel relevante en la vida útil del mismo debido a su estrecha relación con el consumo de oxígeno por parte del vino ¹.

Algunos compuestos carbonílicos se consideran marcadores de oxidación ya que se perciben olfativamente (tienen umbrales de olfacción en el rango de los $\mu\text{g/L}$ y ng/L ², incluso antes de que comience a notarse el pardeamiento del vino debido a un consumo elevado de oxígeno ³⁻⁴. A estos compuestos los denominamos compuestos carbonílicos traza del vino. Los marcadores de oxidación descritos como más relevantes son el fenilacetaldehído, metional, metilbutanales, (*E*)-2-alquenes, 1-octen-3-ona y 3-metil-2,4-nonadiona con notas descritas en el vino a miel, patata cocida, malta, rancio, champiñón y láctico respectivamente ⁴⁻⁸. Todo esto indica que la información analítica sobre los compuestos carbonílicos traza presentes en el vino es crucial para entender la naturaleza de su aroma y el estado de un vino.

Entre los compuestos carbonílicos traza se encuentran cetonas, alquenes, alcadienales y los llamados aldehídos de Strecker.

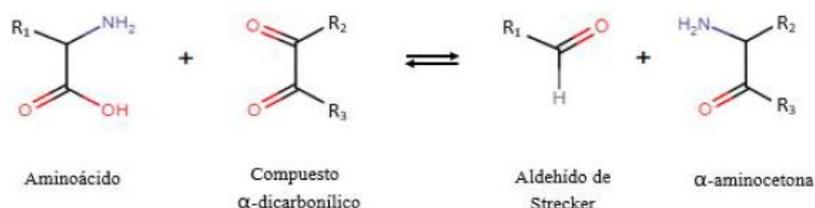


Figura 1: Degradación de Strecker

Isobutanal, 2-metilbutanal, 3-metilbutanal, metional y el fenilacetaldehído, se obtienen principalmente a partir de la degradación de Strecker (Figura 1), de ahí su nombre de aldehídos de Strecker. Este mecanismo requiere que un aminoácido reaccione con un compuesto α -dicarbonílico para producir el aldehído. En el Anexo 1 se recogen los aminoácidos específicos para producir cada aldehído, su aroma correspondiente ⁹ y sus umbrales de olfacción ². En el caso del vino, pueden actuar como compuestos α -dicarbonílicos las *o*-quinonas que proceden de la oxidación directa de algunos polifenoles ¹⁰.

La formación de alquenes, alcadienales y determinadas cetonas se pueden producir por oxidaciones lipídicas de ácidos grasos ¹¹, como se recoge en el Anexo 2. Estos compuestos en general, proporcionan aromas verdes o rancios que consiguen enmascarar otros aromas del vino más positivos.

1.2. Análisis de los Compuestos Carbonílicos.

Como bien se sabe, los compuestos carbonílicos son, en general, muy reactivos, volátiles y polares, lo que conlleva una gran dificultad para su cuantificación. Hay que tener en cuenta también que tienen unas propiedades cromatográficas muy pobres provocando picos con colas y que además sus espectros de masas son de baja especificidad.

En el caso del vino, estas dificultades se ven agravadas por la presencia de otros compuestos carbonílicos volátiles de carácter mayoritario (en concentraciones de mg/l o g/L) como el acetaldehído o el ácido pirúvico, y por componentes que suelen provocar efecto matriz, como el etanol. La presencia de estos compuestos puede incrementar los problemas de solapamientos y enmascarar los analitos a determinar.

Por estas razones, las estrategias para la determinación de compuestos carbonílicos volátiles optan por incluir una etapa de derivatización de los compuestos carbonílicos a cuantificar. Uno de los derivatizantes más usados es la *o*-(2,3,4,5,6-pentafluorobencil)hidroxilamina (PFBHA)¹²⁻¹³. Con este derivatizante se obtienen las oximas por adición nucleófila de la hidroxilamina al grupo carbonílico formándose los isómeros (*E*) y (*Z*) para aquellos carbonilos no simétricos (Figura 2). De esta forma se consigue una alta sensibilidad en varios sistemas de detección, como son la Detección por Captura Electrónica (ECD)¹², la Espectroscopía de Masas por Impacto Electrónico (EI-MS)¹³⁻¹⁴ o el uso de Espectroscopía de Masas por Ionización Química Negativa (NCI-MS)¹³.

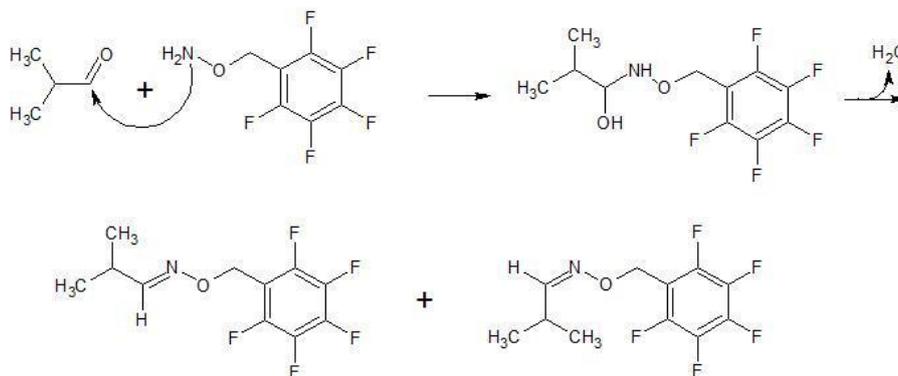


Figura 2: Mecanismo de la formación de Oximas a partir de PFBHA

Para realizar dicha derivatización con PFBHA, los métodos de preconcentración más convencionales para el análisis de compuestos carbonílicos son la Extracción en Fase Sólida (SPE) y la Microextracción en Fase Sólida (SPME). Para la SPE se propuso un método donde se añade directamente la muestra de vino al cartucho y posteriormente se lleva a cabo la derivatización en el propio cartucho antes de la elución de las oximas¹⁴. Los derivados en el caso de la SPME, se forman directamente en la fibra de SPME que previamente ha sido saturada con los vapores del PFBHA y expuesta al espacio de cabeza de la muestra de vino¹³. Sin embargo, estos métodos se han centrado en la cuantificación de los aldehídos de Strecker, sin llegar a proporcionar límites de detección adecuados para alquenales, alcadienales y cetonas.

La Extracción por Sorción sobre barra agitadora (SBSE) asegura altas recuperaciones y sensibilidades debido a un mayor volumen de fase extractiva en comparación a la SPME ¹⁵. En este caso, la extracción se lleva a cabo sobre una barra que tiene el aspecto de una barra magnética agitadora pero que contiene una capa de sorbente de Polidimetilsiloxano (PDMS) o de una mezcla de Etilenglicol y Polidimetilsiloxano (EG-PDMS). Ambas fases son las únicas comercialmente disponibles y se conocen como Twister que es su marca registrada. Su principio de funcionamiento se basa en el coeficiente de reparto existente entre la fase polimérica y los analitos en fase acuosa ya que, mientras se está agitando la muestra, el Twister adsorbe los analitos y los concentra sobre la capa de sorbente con que está recubierta ¹⁶⁻¹⁷. La SBSE ha sido empleada en el análisis del aroma de vino dando límites de detección bajos y buena reproducibilidad ¹⁸. Sin embargo, el único estudio que se llevó a cabo para la determinación directa (sin derivatización) de aldehídos del vino con SBSE, no proporcionó los resultados deseados ¹⁶. Por eso el presente trabajo aborda la utilización de SBSE para la extracción y cuantificación de oximas previamente producidas.

2. Objetivos y Planteamiento del Trabajo

Este estudio intenta alcanzar como objetivo principal mejorar y adaptar un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos volátiles traza presentes en el vino como son los aldehídos de Strecker, alquenales, alcadienales y cetonas (Tabla 1). Para ello, se propone la utilización de la técnica SBSE para la extracción de oximas previamente producidas, introducidas en el sistema cromatográfico por desorción térmica (TD) y analizadas por cromatografía de gases dual y espectrometría de masas.

Tabla 1: Compuestos Carbonílicos volátiles a estudiar

Strecker	Cetonas	Alquenales	Alcadienales
Isobutaldehído	1-Octen-3-ona	(Z)-3-Hexenal	(E,E)-2,4-Hexadienal
2-Metilbutanal	(Z)-1,5-Octadien-3-ona	(E)-2-Hexenal	(E,Z)-2,6-Nonadienal
3-Metilbutanal	3-Metil-2,4-nonadiona	(E)-2-Nonenal	(E,E)-2,4-Nonadienal
Metional		(E)-2-Decenal	(E,E)-2,4-Decadienal
Fenilacetaldehído			

Para poder cumplir el objetivo principal, en este trabajo se estudian varios parámetros para mejorar el método, entre los que se encuentran el tipo de disolvente y el volumen de elución en la SPE previa; además de la mejora de parámetros en la etapa de SBSE como son el volumen a adicionar tanto de agua como de analito en masa, el efecto de la fuerza iónica de la disolución y el propio tiempo de extracción.

En cuanto a los objetivos formativos del trabajo, se encuentran la búsqueda bibliográfica, el diseño básico de experimentos, la ejecución de tareas experimentales, la obtención y

evaluación de datos analíticos, la realización de análisis estadísticos e interpretación de resultados experimentales para la optimización del nuevo método analítico.

3. Parte Experimental

3.1. Instrumentos y Aparatos

En el estudio se han utilizado una gran variedad de instrumentos y aparatos del laboratorio pero hay que destacar, entre todo el conjunto, aquellos que han permitido realizar las optimizaciones, además del cromatógrafo de gases dual acoplado a un espectrómetro de masas.

- **Acondicionador de tubos de sorción**, (Figura 3) modelo TC-20 de la marca comercial Markes® International. Mediante un flujo de nitrógeno y temperatura desorbe térmicamente las impurezas que hayan podido quedar en el Twister. Típicamente se acondicionan durante una hora a 300 °C que es la temperatura recomendada por el fabricante.



Figura 3: Acondicionador de tubos de sorción y flujo de Nitrógeno usados en el estudio

- **Agitadores magnéticos de sorción** (Figura 4): Barras agitadores de sorción comerciales GERSTEL®, conocidas como TWISTER. Estas barras están recubiertas por 126 µL de Polidimetilsiloxano (PDMS, 20 mm de longitud x 1,0 mm de espesor).

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.



Figura 4: Barras "Twister" agitándose a 450 rpm durante el experimento de optimización

- **Sistema de vacío para SPE** (Figura 5), modelo VAC ELUT 20 de la marca comercial Varian® (Walnut Creek, CA, EE.UU) conectado a una bomba de vacío con hueco para 20 cartuchos donde se lleva a cabo la derivatización y extracción de los analitos.



Figura 5: Sistema de vacío semiautomático para SPE.

- **Equipo de cromatografía de gases multidimensional acoplado a espectrometría de masas (MD-GC-MS)** (Figura 6): Las muestras de compuestos carbonílicos volátiles, adsorbidas anteriormente a los twister, se han analizado mediante un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas. El equipo de Cromatografía de Gases usado ha sido el modelo 7890A, y, en el caso del espectrómetro de masas, se ha utilizado el modelo 5975C (Agilent® Technologies).
Para desorber los Twisters, se ha usado una Unidad de Desorción Térmica (TDU) y un Sistema de Inyección en Frío (CIS) con una entrada de Vaporización programable y termostatzada (PTV), todos éstos del fabricante GERSTEL®. Estos elementos del equipo tienen unas determinadas características.

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

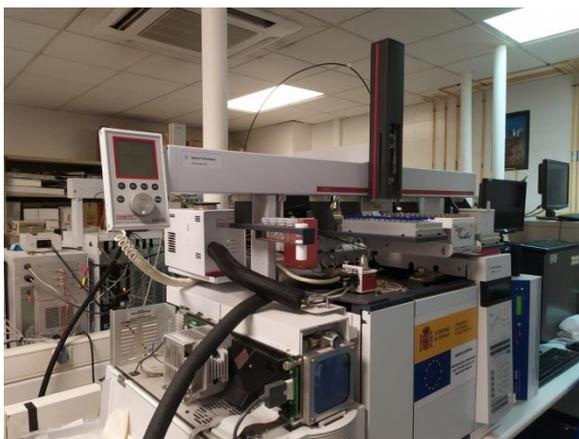


Figura 6: Cromatógrafo de Gases acoplado a un Espectrómetro de Masas.

Para la unidad de Desorción Térmica, el programa de temperatura programado se indica en la Tabla 2.

<i>Tabla 2: TDU Gerstel</i>	
Programa de Temperatura:	
Temperatura Inicial	30°C
Tiempo de retardo	0,20 min
Tiempo Inicial	0,20 min
Velocidad	120°C/min
Temperatura Final	300°C
Tiempo de Espera	10 min

Además, los ajustes de la TDU realizados en el experimento se mencionan en la Tabla 3.

<i>Tabla 3: Ajustes de la TDU</i>	
Modo Tránsito de Temperatura	Pendiente
Modo de Desorción	Splitless
Modo de Muestreo	Tubo de retención – Refrigeración en Standby
Temperatura en Standby	50°C

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

En el caso del CIS, Sistema Criogénico de Inyección, las principales características del programa de temperatura, usando Nitrógeno líquido, se han indicado en la Tabla 4.

<i>Tabla 4: Parámetros del CIS</i>	
Temperatura Inicial	-10°C
Tiempo de Equilibrio	0,20 min
Tiempo Inicial	0,10 min
Primera Rampa	
Velocidad	16°C/s
Temperatura Final	150°C
Tiempo de espera	0,00 min
Segunda Rampa	
Velocidad	12 °C/s
Temperatura Final	300 °C
Tiempo de espera	30 min

Las principales características de la entrada de vaporización termostatazada y programable se señalan en la Tabla 5.

<i>Tabla 5: Características de la entrada de vaporización</i>	
Gas Portador	He
Modo	Venteeo del solvente mediante PTV
Temperatura	250°C
Presión de trabajo	36,01 psi
Flujo total	24,985 mL/min
Flujo de purga del Septum	3 mL/min
Flujo de purga a la ventilación Split	20 mL/min a los 3 min
Flujo de Venteeo	50 mL/min
Presión de venteeo	36,01 psi hasta 0,1 min

El instrumento de cromatografía de gases utilizado está compuesto por dos columnas inmersas en el interior del horno cromatográfico (Figura 7) cuyas características específicas y el programa de Temperatura de éste se indican en la Tabla 6:

<i>Tabla 6: Características y Programa de Temperaturas de las Columnas</i>	
Tiempo de Equilibrio	1 min
Temperatura Máxima	250 °C
Programa de Temperaturas del Horno	
Temperatura Inicial	40 °C durante 4 min
Aumento de la Temperatura	6°C/min durante 30 min
Temperatura Final	250 °C
Tiempo total en funcionamiento	69 min

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

La primera columna era una columna apolar Agilent® J&W DB-5MS, compuesta por un 5% de fenilo y un 95% de dimetilarileno siloxano y cuyas dimensiones eran de 15 metros de longitud, 250 µm de ancho y 0,25 µm de espesor de fase. Está conectada a un conector que la combina con un detector de ionización de llama (FID) y con la segunda columna permitiendo la transferencia de cortes cromatográficos entre éstas.

La unión entre el detector de ionización de llama (FID) y la primera columna se produce mediante una columna secundaria con dimensiones de 6,7 m de longitud y 180 µm de ancho. Además, el detector FID trabajaba a una temperatura constante de 280 °C y con unos flujos constantes de H₂ y de Aire de 40 mL/min y de 450 mL/min respectivamente.

La segunda columna era una columna Agilent® DB-WAXETR, muy polar constituida por polietilenglicol y cuyas dimensiones son de 30 metros de longitud, 250 µm de ancho y 0,5 µm de espesor de fase.

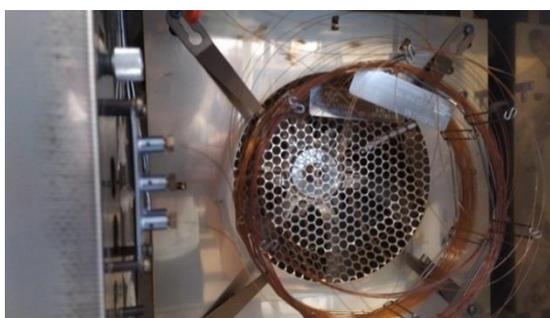


Figura 7: Conjunto de las columnas internas del horno, la primera Agilent® J&W DB-5MS, y la segunda Agilent® DB-WAXETR

Esta última columna está conectada al espectrómetro de masas Agilent® 5975C, con un analizador de masas cuadrupolo que detectaba las relaciones m/z de los iones. Se usó el modo SCAN a unas temperaturas de la fuente y del cuadrupolo de 150°C trabajando con un rango de relación m/z desde 40 hasta 370. Además, la línea de transferencia se mantuvo a una temperatura de 250°C.

Inicialmente, se pensó utilizar como fuente de ionización la NCI pero por problemas técnicos al final se usó la EI.

Además de los principales equipos determinantes para conseguir el objetivo, los principales instrumentos de laboratorio usados han sido los siguientes:

- Agitadores magnéticos.
- Balanza de precisión, modelo HR-200 de la marca comercial A&D Weighing®.
- Botes de cristal de 100 mL y de 250 mL.
- Buretas de 10 mL.
- Erlenmeyer de 10 mL y 25 mL.
- Frascos de plástico de 100 mL.
- Gradilla.
- Jeringas de 50 µL y de 100 µL.
- Jeringas de plástico de 10 mL.
- Matraces de 25 mL y de 50 mL.

- Micropipetas de 25 μ L, 200 μ L, 1 mL y de 5 mL con sus correspondientes puntas de plástico.
- pH-metro, modelo micropH 2002 de la marca Crison®.
- Pipetas pasteur de plástico.
- Pipetas desechables de 10 mL.
- Placa magnética.
- Probetas de 10 mL y de 25 mL.
- Secador.
- Vasos de precipitados de 10 mL, 25 mL y 50 mL.
- Viales "Setup".
- Viales de 150 μ L y de 2 mL.
- Zapatilla de vidrio.

3.2. Materiales, Disolventes y Reactivos

3.2.1. Disolventes

El hexano calidad Organic Trace Analysis, el dietil éter calidad LiChrosolv HPLC se compraron en Merck (Darmstadt, Alemania). El etanol absoluto (EtOH) se compró en VWR Chemicals® (Barcelona, España). El diclorometano y el metanol (MeOH) calidad Distol Pesticide Residue Grade se compraron a la casa comercial Scharlab S.L. Además, se usó agua Mili-Q, obtenida de la purificación del agua destilada a partir del sistema de purificación de la marca comercial Millipore® (Bedford, Alemania).

3.2.2. Cartuchos para la SPE

Se han usado cartuchos comerciales de 100 mg de resinas ENV+ (copolímero de poliestireno-divinilbenceno hidroxilado hiperentrecruzado) en reservorios de 1 mL de volumen interno de la marca comercial ISOLUTE® (MID Glamorgan, Reino Unido).

3.2.3. Reactivos y Estándares Químicos

El hidrógenocarbonato de sodio (99,7%), el ácido tartárico, el hidróxido de sodio y el cloruro de sodio se han obtenido de la casa comercial Panreac® (Barcelona, España). El ácido sulfúrico (95-97%) se obtuvo de Scharlau® (Barcelona, España).

Se preparó vino sintético, que es una disolución acuosa al 12% de etanol, con una concentración de 5 g/L de ácido tartárico y un posterior ajuste del pH hasta un valor de 3,5 añadiendo hidróxido de sodio.

Los estándares químicos usados fueron el (*E,E*)-2,4-decadienal $\geq 89\%$ de la marca comercial Lancaster® (Eastgate, Reino Unido); Isobutiraldehído 99%, 2-metilbutanal 95%, 3-metilbutanal 97%, metional $\geq 97\%$, fenilacetaldehído 90%, (*Z*)-3-hexenal 98%, (*E*)-2-hexenal 98%, (*E*)-2-nonenal 97%, (*E*)-2-decenal 92%, (*E,E*)-2,4-hexadienal 95%, (*E,Z*)-2,6-nonadienal 96%, (*E,E*)-2,4-nonadienal $\geq 85\%$ y 2,3,4-tricloroanisol 99% (usado como estándar interno) se compraron en Aldrich® (Madrid, España). La 1-Octen-3-ona 99% y (*Z*)-1,5-octadien-3-ona 98% son de la marca Fluka® (Madrid, España). La 3-metil-2,4-nonadiona $>97\%$ se compró de la compañía Takasago International Chemicals-Europe (Murcia, España). A partir de estos estándares comerciales, se realizaron disoluciones (Anexo 3) madre individuales de cada compuesto (de 1,5 a 7,8 g/L) en

etanol (Anexo 4), disoluciones intermedias de cada grupo de compuestos (≈ 300 mg/L) en etanol (Anexo 5), y finalmente una disolución de trabajo con todos los compuestos (≈ 25 mg/L) también en etanol (Anexo 6).

Como agente derivatizante de los compuestos carbonílicos, se ha usado *o*-(2,3,4,5,6-pentafluorobencil)hidroxilamina clorhidrato (PFBHA) al 99% de Fluka®. Se preparó diariamente una disolución acuosa de PFBHA de 5 mg/L.

3.2.4. Muestras

Para la optimización del método cromatográfico, se derivatizaron muestras de vino sintético conteniendo 10 mg/L o 250 μ g/L de los compuestos a determinar individualmente y muestras de vinos reales sin dopar y dopados con 100 μ g/L de los analitos.

Para la selección del disolvente, volumen de elución y la optimización de la SBSE se derivatizaron muestras de vino sintético conteniendo ≈ 100 μ g/L de todos los analitos (Anexo 7).

3.3. Procedimiento de Derivatización de compuestos carbonílicos

El proceso de derivatización de la muestra de vino sintético conteniendo los analitos sigue el método descrito por Ferreira y *col.* ⁷. En resumen se pasó a través de cartuchos de 100 mg de resinas ISOLUT ENV+, previamente acondicionados con 2 mL de hexano, metanol y agua/etanol 12% (v/v), 5 mL de la muestra de vino sintético dopado. Después, se les añadió 1 mL de agua mili-Q, 5 mL de disolución acuosa NaHCO₃ 1% para eliminar los compuestos carbonílicos mayoritarios del vino y se volvieron a lavar los cartuchos con 1 mL de agua mili-Q.

Tras el lavado, se adicionó a cada cartucho 1 mL de la disolución del agente derivatizante preparada anteriormente, dejando reaccionar durante 15 minutos a temperatura ambiente. El exceso de agente derivatizante se eliminó pasando 5 mL de H₂SO₄ 0,05 M. Finalmente, se lavó cada cartucho con 1 mL de agua mili-Q y se eluyeron con 1 mL de una mezcla hexano/dietil éter al 10% (v/v).

3.4. Optimización del método-análisis por GC-MS de los compuestos derivatizados

La primera parte del estudio fue la optimización de la separación cromatográfica. Concretamente, se analizaron determinadas muestras de vinos, tanto reales como sintéticos, dopadas con los analitos de interés para identificar los picos y los tiempos de retención de los compuestos que se querían estudiar.

Más específicamente, se analizaron primero tres muestras de vino: Una de vino real, otra de vino real dopado y la última de vino sintético dopado. Para su preparación, se cogieron tres erlenmeyers de 10 mL y se añadieron a cada uno 4 mL de una disolución, preparada anteriormente, de EtOH/H₂O del 13%. Después se le colocó un Twister, previamente acondicionado, a cada uno y, finalmente, con la micropipeta de 200 μ L, se tomaron 40 μ L de cada una y se empaparon cada uno de los Twisters con estos volúmenes. Por último, se dejaron agitando las disoluciones durante 1 hora a 400 rpm para que los compuestos que tenían cada uno de los vinos se adsorbiesen en el Twister.

En caso de que la identificación de los compuestos fue dudosa, se decidió realizar el análisis de compuestos individualmente y de varias mezclas de éstos a partir de los tiempos de retención observados en datos bibliográficos y en las anteriores muestras. Para ello, sobre un erlenmeyer de 10 mL con el Twister optimizado se añadieron 4 mL de la disolución EtOH/H₂O del 13% junto con 40 µL de cada mezcla preparada o compuestos individuales de concentraciones de 100 µg/L (Anexo 8). Se agitaron a 400 rpm durante un tiempo de 50 minutos y se secaron con N₂ a una temperatura de 50°C. Finalmente, los Twisters se insertaron en el equipo GC-MS obteniéndose los cromatogramas y las relaciones *m/z* de cada compuesto. De esta forma, se apreciaron con claridad los picos y tiempos de retención de éstos.

3.5. Selección del disolvente y el volumen de elución para el cartucho de SPE

El procedimiento de la optimización del disolvente se dividió en dos partes: la primera, en la que se realizó la derivatización de los analitos y la elución de los mismos en distintos disolventes; y la segunda, que fue la sorción de las oximas obtenidas en los agitadores Twisters añadiéndoles, antes de agitar, el patrón interno. Los disolventes usados para la elución fueron H₂O/EtOH al 12% (v/v), MeOH, una mezcla EtOH/Hexano al 20% (v/v) y otra mezcla de EtOH/Hexano al 40% (v/v). Cada cartucho se eluyó hasta un volumen máximo de 4 mL de disolvente, recogido en fracciones de 0,5 mL. Cada disolvente se probó por duplicado.

Tras realizar todas las derivatizaciones y eluciones, se procedió a la etapa del uso de Twister en dicha optimización. Antes de realizar las diluciones de la etapa de los Twisters, se tuvo que preparar una disolución del compuesto 2,3,4-TCA como patrón interno. Esta nueva disolución de 2,3,4-TCA se preparó añadiendo 26 µL del patrón puro a 25 mL de EtOH en un erlenmeyer. Finalmente, esta disolución se guardó en dos viales.

El análisis de cada una de las fracciones obtenidas se realizó añadiendo 50 µL del extracto a 4,95 mL de agua (para obtener un volumen total de 5 mL) y se añadió 5 µL del patrón interno (2,3,4-TCA). A partir de aquí, se pudieron obtener las curvas de elución para cada compuesto en cada disolvente estudiado.

3.6. Optimización de la extracción con Twister

Después de conocer que el disolvente que se usaría en el método sería la mezcla de EtOH/Hexano al 20%, se realizó la optimización de la extracción con Twister considerando varios parámetros como son: 1) la dilución del extracto con agua (con un determinado porcentaje de disolvente); 2) la cantidad de extracto en masa; 3) la concentración de NaCl y 4) el tiempo de extracción en el método.

Con el fin de partir siempre de la misma disolución, se hizo un "pool" de las fracciones en un vial de 5 mL, de las réplicas de los extractos de EtOH/Hexano 20% hasta el volumen de 2 mL. Para su preparación, se tomó 400 µL de cada extracto hasta los 2 mL y de cada réplica llegando a tener un volumen total de 3,2 mL para poder optimizar cada parámetro.

3.6.1. Optimización del factor de dilución del extracto con agua

Para saber el volumen de agua que necesitaría el método para producirse la dilución, realizamos una prueba con unos volúmenes variados de ésta, realizando tres réplicas de cada disolución preparada en erlenmeyers de 10 mL. En cada disolución se añadía 25 µL de la disolución combinada junto con 5 µL de 2,3,4-TCA. Se añadió los siguientes volúmenes de agua destilada:

- **Disolución 1:** Se le adicionó 2,475 mL de agua destilada obteniéndose un volumen total de 2,5 mL.
- **Disolución 2:** Se le adicionó 4,975 mL de agua destilada obteniendo un volumen final de 5 mL.
- **Disolución 3:** Se le añadió 7,475 mL de agua destilada obteniéndose un volumen final de 7,5 mL.
- **Disolución 4:** Se le añadió 9,975 mL de agua destilada obteniéndose un volumen final de 10 mL.

Después de preparar las disoluciones, se agitaron los Twisters durante 1 hora a 1000 rpm. Se introdujeron en el equipo para que se analizaran las muestras obteniéndose los cromatogramas.

3.6.2. Optimización de la cantidad de extracto en masa

En este caso, lo que se analizó fue la cantidad de muestra combinada de extractos a añadir en el erlenmeyer. Las disoluciones se prepararon variando el volumen de extracto añadido llegando a un volumen total de 5 mL en cada erlenmeyer. Las disoluciones se prepararon, por triplicado, con las siguientes cantidades de reactivos y disoluciones muestra:

- **Disolución 1:** A éstas se les añadió 10 µL de la muestra combinada junto con 4,99 mL de agua destilada y 5 µL de 2,3,4-TCA.
- **Disolución 2:** Se prepararon con 25 µL de la disolución combinada además de 4,975 mL de agua destilada y 5 µL de 2,3,4-TCA.
- **Disolución 3:** Se prepararon añadiendo 50 µL de la disolución combinada junto con 4,95 mL de agua destilada y 5 µL de 2,3,4-TCA.
- **Disolución 4:** Se prepararon a partir de 100 µL de disolución combinada de los extractos, 4,90 mL de agua destilada y 5 µL de 2,3,4-TCA.
- **Disolución 5:** Se prepararon a partir de 200 µL de disolución combinada de los extractos, 4,80 mL de agua y 5 µL de 2,3,4-TCA.

Se agitaron las disoluciones con los Twisters durante 1 hora a 1000 rpm y se analizaron en el equipo.

3.6.3. Optimización de la concentración de NaCl

Se realizó la optimización de la concentración de NaCl para conocer con que cantidad de ésta funciona perfectamente el método además de conocer la repetitividad de éste. Las disoluciones que se realizaron con 25 µL de la disolución combinada, unos 4,975 mL de agua destilada y 5 µL de 2,3,4-TCA con los porcentajes de NaCl 0%, 5%, 10% y 20%. Éstas se efectuaron por triplicado. En las disoluciones con un 5% de NaCl se tuvo que añadir 1,25 g de NaCl; en las que contiene un 10%, se adicionaron 2,5 g y en aquellas con un 20% de NaCl se

añadió 5 g de NaCl a cada disolución. De esta forma, después de meter los Twisters, se dejaron durante una hora agitando a una velocidad de 1000 rpm.

3.6.4. Optimización del Tiempo de Extracción

Para poder realizar esta optimización, se tuvo que efectuar previamente las integraciones de los cromatogramas de las disoluciones que contenían NaCl y calcular a partir de las áreas sus %DSR. Tras conocer qué disolución con porcentaje de NaCl fue la óptima, se realizó la optimización del tiempo de extracción.

Se prepararon por triplicado 15 disoluciones con 50 μ L de la disolución combinada, junto con 4,95 mL de la disolución de agua destilada sin NaCl, además de añadir 5 μ L de 2,3,4-TCA. Después, se les añadió cada Twister a cada erlenmeyer y se estuvo midiendo el tiempo de extracción para cada uno. Para los tres primeros, la disolución estuvo en movimiento durante 15 minutos. En los siguientes, la disolución se agitó durante 30 minutos, 45 minutos, 1 hora y, por último, 2 horas.

Tras dejar de agitar los Twisters, éstos se añadieron al cromatógrafo de gases y se obtuvieron los cromatogramas para, posteriormente, analizar los resultados.

3.6.5. Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron con el Software estadístico SPSS (SPSS Statistics v.15 IBM) realizando Análisis de las Varianzas (ANOVA) de un factor entre los resultados obtenidos para cada compuesto carbonílico. El valor de probabilidad considerada estadísticamente significativo fue inferior al 0,05 ($p < 0,05$). Los valores medios obtenidos se compararon con la prueba de Tuckey.

4. Resultados y Discusión

4.1. Optimización del Método Cromatográfico

Se detectaron los analitos en un rango de masas desde 30 a 370 (Figura 8). Todas las oximas de los compuestos carbonílicos analizadas, al estar derivatizadas por PFBHA, tenían en común la m/z 181. En el estudio se seleccionaron las relaciones m/z más selectivas para cada uno (normalmente una para cuantificar y otra para completar la identificación), que junto con sus tiempos de retención, se recogen en la Tabla 7. A modo de ejemplo se muestra el cromatograma del (*E*)-2-nonenal obtenido con su m/z seleccionada y su espectro de masas (Figura 9). Ejemplos adicionales para otros compuestos se recogen en el Anexo 9.

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

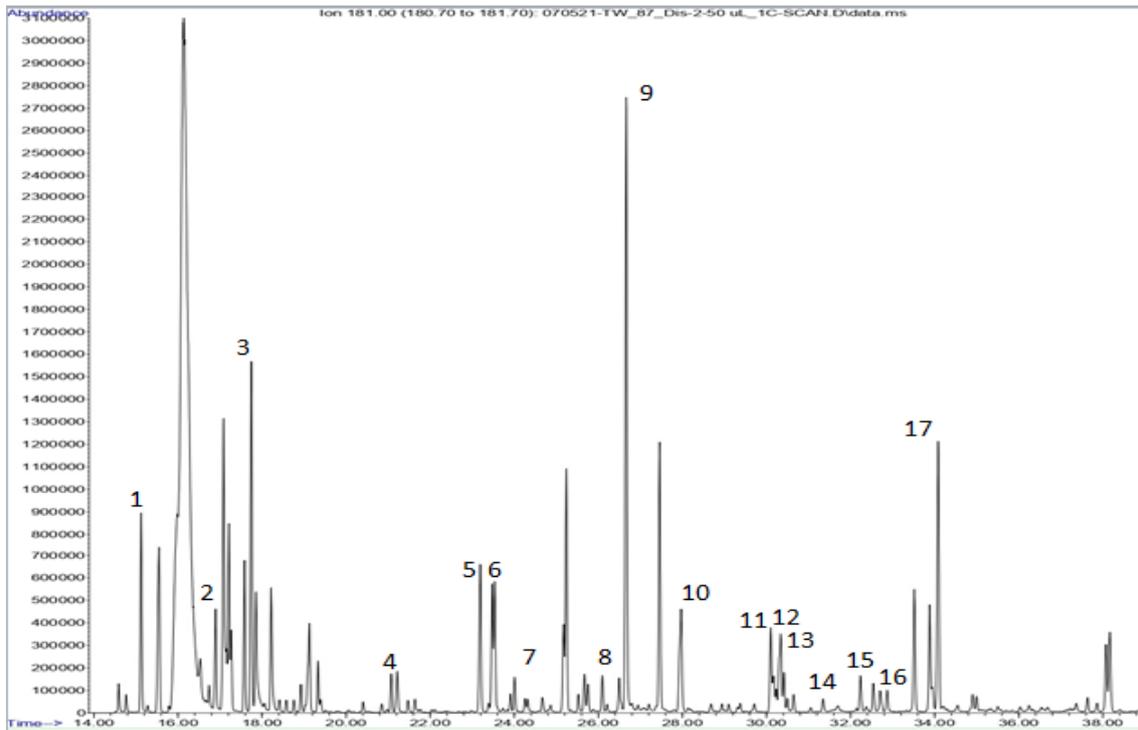


Figura 8: Cromatograma General de las muestras con los compuestos enumerados: 1) Isobutiraldehído; 2) 2-Metilbutanal; 3) 3-Metilbutanal; 4) (Z)-3-Hexenal; 5) 1-Octen-3-ona; 6) (E)-2-Hexenal; 7) (Z)-1,5-Octadien-3-ona; 8) (E,E)-2,4-Hexadienal; 9) Metional; 10) 2,3,4-TCA; 11) (E)-2-Nonenal; 12) 3-Metil-2,4-nonadiona; 13) Fenilacetaldehído; 14) (E,Z)-2,6-nonadienal; 15) (E)-2-decenal; 16) (E,E)-2,4-nonadienal; 17) (E,E)-2,4-decadienal

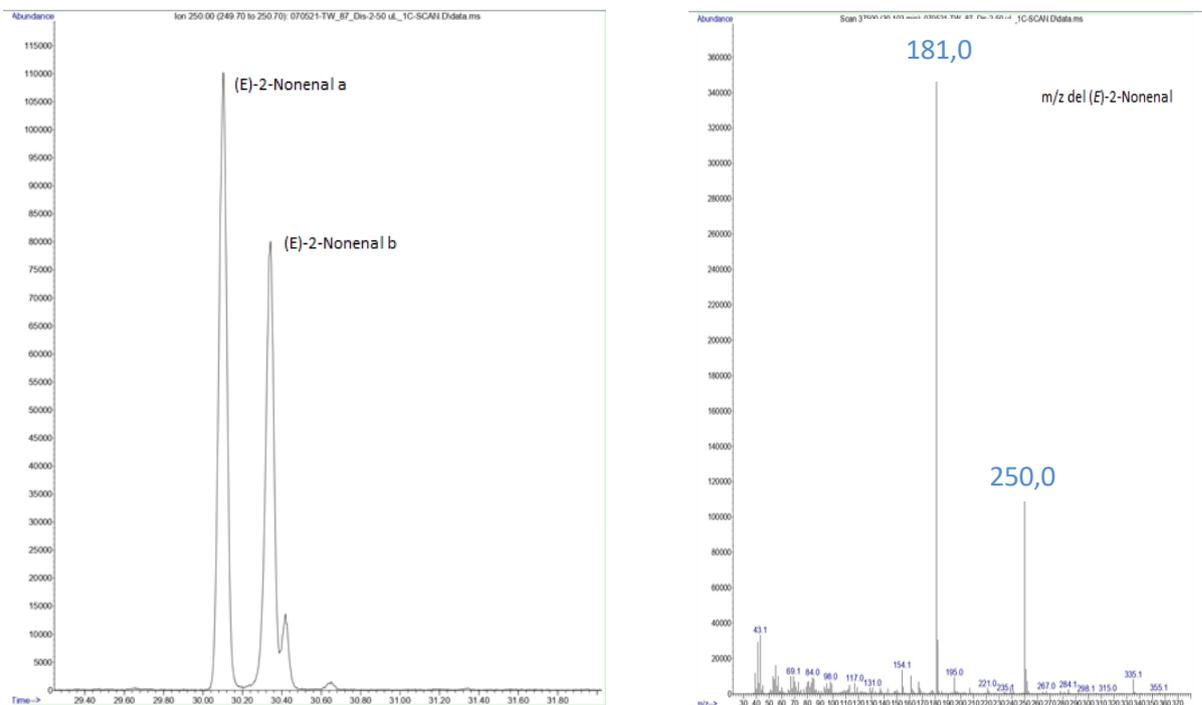


Figura 9: Cromatograma a m/z 250 de las dos oximas del (E)-2-Nonenal cuyos tiempos de retención son 30,45 min (a) y 30,72 min (b) y su espectro

Tabla 7: Relaciones m/z seleccionadas y tiempos de retención para EI				
	Compuesto	m/z 1	m/z 2	Tiempo de Retención (min)
1	Isobutiraldehído	195	250	15,23
2	2-metilbutanal 1	239	266	17,25
	2-metilbutanal 2	239	266	17,30
3	3-metilbutanal 1	239	266	17,68
	3-metilbutanal 2	239	266	17,95
4	(Z)-3-hexenal 1	181		21,57
	(Z)-3-hexenal 2	181		21,86
5	1-octen-3-ona 1	140	321	23,20
	1-octen-3-ona 2	140	321	23,99
6	(E)-2-hexenal 1	250	293	23,56
	(E)-2-hexenal 2	250	293	23,62
7	(Z)-1,5-octadien-3-ona	290	319	24,09
8	(E,E)-2,4-hexadienal 1	276	291	26,21
	(E,E)-2,4-hexadienal 2	276	291	26,60
9	Metional 1	252	299	27,10
	Metional 2	252	299	27,16
10	2,3,4-TCA	195	210	28,10
11	(E)-2-nonenal 1	250	335	30,45
	(E)-2-nonenal 2	250	335	30,72
12	3-metil-2,4-nonadiona	363	239	30,36
13	Fenilacetaldehído	297	315	30,66
14	(E,Z)-2,6-nonadienal1	152	265	30,77
	(E,Z)-2,6-nonadienal2	152	265	31,00
15	(E)-2-decenal 1	250	349	32,70
	(E)-2-decenal 2	250	349	33,05
16	(E,E)-2,4-nonadienal 1	276	333	33,15
	(E,E)-2,4-nonadienal 2	276	333	33,31
17	(E,E)-2,4-decadienal 1	276	347	35,10
	(E,E)-2,4-decadienal 2	276	347	35,19

Las m/z marcadas se usarán para cuantificar. El resto se tratan de relaciones m/z para la confirmación de su identidad.

4.2. Selección del disolvente y el volumen de elución para el cartucho de SPE

Antes de realizar la parte experimental de dicha optimización, se tuvo en cuenta cómo de polares iban a ser las oximas de los analitos, ya que para una correcta SBSE, sólo se adsorben en el PDMS del Twister, aquellos compuestos volátiles no polares con un log K_{OW} superior al valor de 4¹⁸. Además, esta propiedad era clave para realizar la comparación de las eluciones con los diferentes disolventes para las diferentes oximas. Para ello, se buscó los valores de log K_{OW} teóricos o experimentales para cada uno de ellos (Anexo 10)¹⁹. Además, esta búsqueda de los log K_{OW} permitió hacer una estimación.

A partir de las áreas de cada analito en cada cromatograma (Anexo 11), se calcularon los porcentajes de cada analito en cada fracción respecto de la suma total de ese analito en todas las fracciones de una misma réplica (Anexo 12).

Para conocer el disolvente y el volumen de elución adecuados, se representaron los porcentajes medios acumulados de cada compuesto eluido indicándose en la ecuación 1 y en el Anexo 13 para cada tipo de disolvente (Gráficas 1). Los compuestos y disolventes se indican en la leyenda.

Ecuación 1:

$$\% \text{ Volumen medio Acumulado} = \% \text{ Volumen medio de } n + \% \text{ Volumen medio de } (n + 1)$$

Donde n es la fracción de volumen que se eluye y $(n+1)$ es la siguiente que se eluirá.

Se observó que, cada vez que aumentaba el volumen de elución, el porcentaje de compuesto eluido disminuía para todos los disolventes, como era de esperar. De esta forma, cuando la curva llega a una zona plana, indica que todo el compuesto se ha eluido con el disolvente correspondiente.

Lo primero que se observa en las Gráficas 1, es un comportamiento diferente de los disolventes de elución para cada analito. A modo de ejemplo, se observa que para el isobutiraldehído (Gráfica 1a), sus oximas se eluían a un volumen de 2 mL tanto con etanol como con metanol mientras que, para las oximas del (*E,E*)-2,4-Decadienal (Gráfica 1ñ), usando estos disolventes, sus oximas necesitaban un volumen de elución superior a 4 mL para poder ser eluidos. Esto se debía a la polaridad de los compuestos: mientras el log K_{OW} del isobutiraldehído es de 0,74 (muy polar), el log K_{OW} del (*E,E*)-2,4-Decadienal es de 3,33 (más apolar). De esta forma, el isobutiraldehído necesitaba un volumen menor tanto de etanol como de metanol para ser eluido, comparando con el (*E,E*)-2,4-Decadienal.

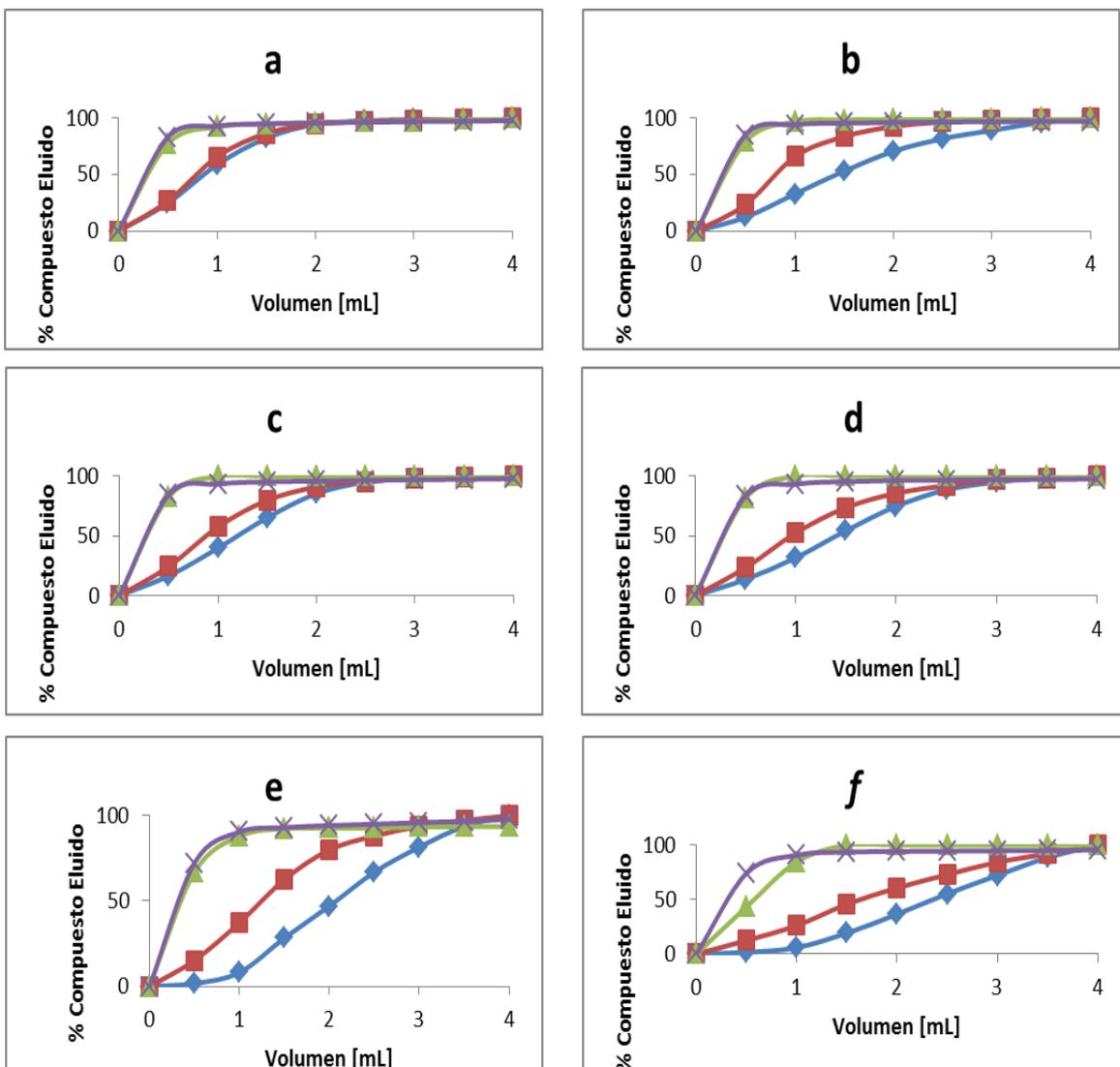
Por esta razón, se decidió añadir un determinado porcentaje de hexano al etanol, formando mezclas de etanol tanto al 20% como al 40% de hexano. De esta forma, la polaridad del disolvente disminuyó permitiendo una mayor elución de los analitos (oximas apolares) con un volumen menor para ambos eluyentes. Siguiendo la comparación anterior entre el isobutiraldehído y el (*E,E*)-2,4-Decadienal, se observó que el isobutiraldehído pasó a reducir su volumen de elución a 1 mL con las dos mezclas etanol/hexano. Con respecto al (*E,E*)-2,4-Decadienal, su volumen de elución disminuyó hasta los 1,5 mL usándose las mezclas etanol/hexano. Para 13 de los 16 analitos estudiados, se comprobó que con 1,5 mL se

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

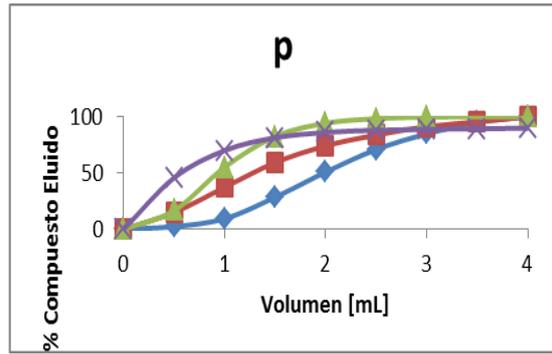
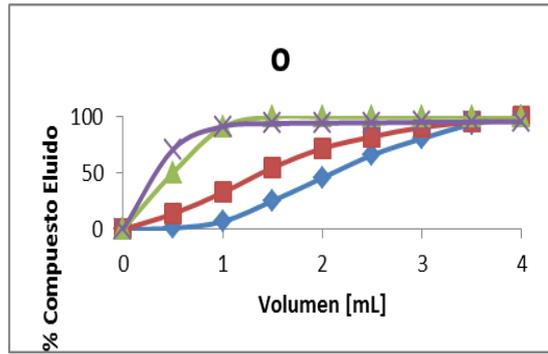
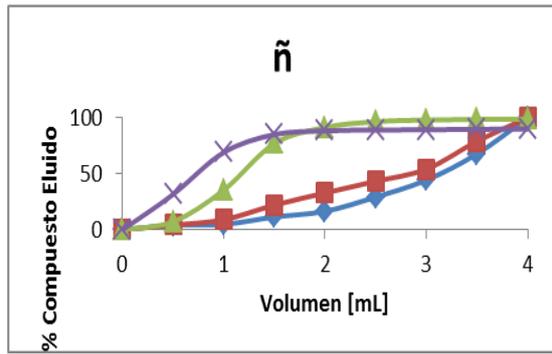
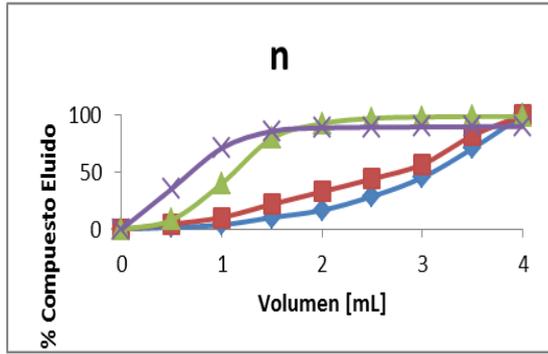
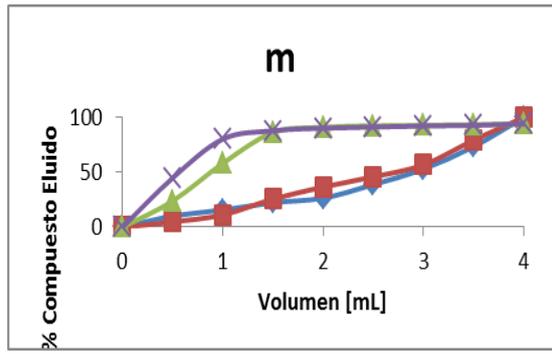
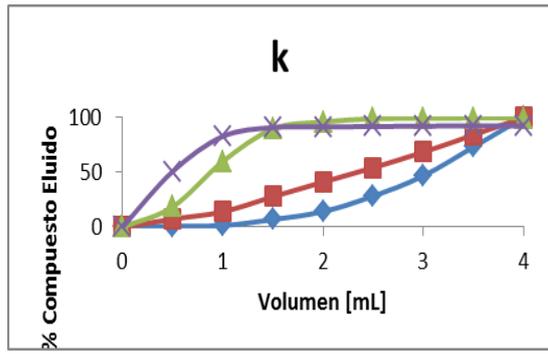
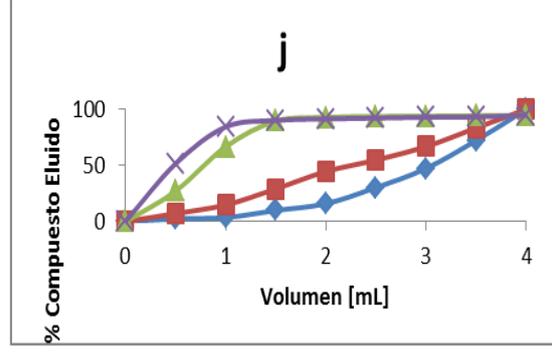
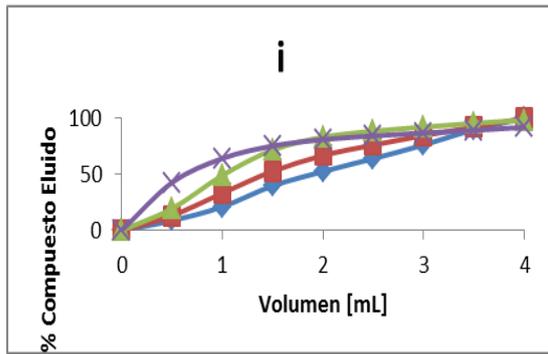
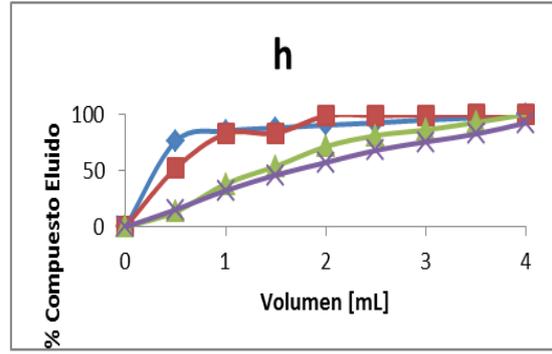
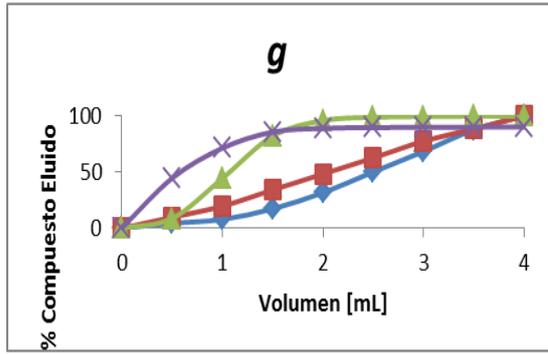
conseguía eluir más del 80% con ambas mezclas etanol/hexano. Este porcentaje mejora al aumentar el volumen, sin embargo, hay que tener en cuenta que a mayor volumen más diluidos estarán los analitos y empeorarán los límites de detección. Por eso el volumen de elución elegido con etanol/hexano ha sido de 1,5 mL.

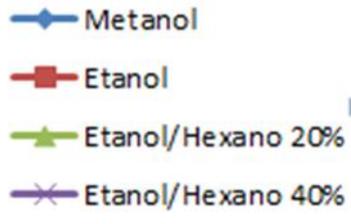
El único caso singular fue el del metional, que siendo el compuesto más polar se eluye mejor con etanol o metanol que con las mezclas con hexano. De todas formas, las áreas de este compuesto son las que más afectadas se ven por la falta de reproducibilidad, debida a que este compuesto no se derivatiza bien en vino sintético ¹³.

Además, se observó que, entre los porcentajes añadidos de hexano, no hay diferencias apreciables. Como la barra de Twister tiende a adsorber el hexano debido a su apolaridad, hincha la barra y puede impedir su entrada en el TDU, interfiriendo así en la medida de los analitos, se decidió finalmente escoger como disolvente la mezcla de etanol con menor porcentaje de hexano, el 20%.



Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.



Compuestos	Disolventes
a) Isobutiraldehído	
b) 2-Metilbutanal	
c) 3-Metilbutanal	
d) (Z)-3-Hexenal	
e) 1-Octen-3-ona	
f) (E)-2-Hexenal	
g) (E,E)-2,4-Hexadienal	
h) Metional	
i) Fenilacetaldehído	
j) (E)-2-Nonenal	
k) (E,Z)-2,6-Nonadienal	
m) (E)-2-Decenal	
n) (E,E)-2,4-Nonadienal	
ñ) (E,E)-2,4-Decadienal	
o) (Z)-1,5-Octadien-3-ona	
p) 3-Metil-2,4-nonadiona	

Gráficas 1: Representación del % de compuesto eluido por el volumen para cada analito y disolvente usado (Leyenda).

4.3. Optimización de la extracción con Twister

Para conocer los parámetros óptimos de la extracción se decidió realizar Análisis de las Varianzas (ANOVA), con una probabilidad inferior a 0,05 ($p < 0,05$); entre las relaciones Áreas de los analitos/Área del 2,3,4-TCA para cada uno de ellos (Anexo 14).

4.3.1. Optimización del factor de dilución del extracto con agua

Con respecto al cálculo del factor de dilución del extracto con agua, el volumen influyó en 5 de los 16 analitos, como se observa en la tabla 8, indicando la presencia de diferencias significativas en éstos. Se eligió como volumen óptimo 5 mL de agua, ya que si se incrementa el volumen de disolvente, éste proporciona una señal mayor.

Tabla 8: Área relativa (promedio \pm desviación estándar) en función del volumen de agua en la extracción con Twister.

	Volumen de H ₂ O			
	2,5 mL	5 mL	7,5 mL	10 mL
Isobutiraldehído	2,28 \pm 0,23	2,42 \pm 0,22	2,43 \pm 0,13	2,84 \pm 0,26
2-Metilbutanal	5,99 \pm 0,64	6,31 \pm 0,58	5,68 \pm 0,39	7,32 \pm 0,63
3-Metilbutanal	5,25 \pm 0,56	5,57 \pm 0,41	5,05 \pm 0,36	6,38 \pm 0,46
(Z)-3-Hexenal	2,61 \pm 0,22	2,60 \pm 0,21	2,27 \pm 0,22	2,67 \pm 0,23
1-Octen-3-ona	4,40 \pm 0,49 ^a	4,35 \pm 0,88 ^a	2,24 \pm 0,32 ^b	5,06 \pm 0,44 ^a
(E)-2-Hexenal	7,50 \pm 0,84	8,04 \pm 0,67	6,50 \pm 0,34	8,41 \pm 0,65
(Z)-1,5-Octadien-3-ona	1,46 \pm 0,16 ^{ab}	1,58 \pm 0,18 ^a	1,11 \pm 0,09 ^b	1,74 \pm 0,13 ^a
(E,E)-2,4-Hexadienal	6,15 \pm 0,58	6,76 \pm 0,43	5,82 \pm 0,31	6,87 \pm 0,67
Metional	0,57 \pm 0,09	0,75 \pm 0,16	0,93 \pm 0,10	0,76 \pm 0,13
3-Metil-2,4-nonadiona	4,04 \pm 0,22 ^{ab}	4,66 \pm 0,17 ^a	4,06 \pm 0,13 ^{ab}	3,79 \pm 0,37 ^b
Fenilacetaldehído	0,54 \pm 0,04	0,63 \pm 0,04	0,57 \pm 0,02	0,56 \pm 0,04
(E)-2-Nonenal	7,94 \pm 0,71 ^a	8,32 \pm 1,21 ^a	4,16 \pm 1,37 ^b	7,33 \pm 1,10 ^{ab}
(E,Z)-2,6-Nonadienal	0,50 \pm 0,05	0,53 \pm 0,06	0,37 \pm 0,05	0,47 \pm 0,08
(E)-2-Decenal	3,50 \pm 0,35	3,72 \pm 0,23	1,54 \pm 0,88	2,85 \pm 0,43
(E,E)-2,4-Nonadienal	7,01 \pm 0,66	7,73 \pm 0,90	4,74 \pm 1,13	6,71 \pm 1,17
(E,E)-2,4-Decadienal	7,01 \pm 0,61 ^a	7,39 \pm 0,52 ^a	3,51 \pm 1,77 ^b	5,78 \pm 0,99 ^{ab}

^{a, b}: Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos.

4.3.2. Optimización de la cantidad de extracto en masa

Para conocer la cantidad ideal de disolución problema que habría que añadir para realizar la extracción, se detectó que todos los resultados obtenidos eran diferentes y significativamente mayores al añadir una cantidad de masa mayor según el ANOVA (Tabla 9). De esta manera, se optó por seleccionar la mayor masa añadida de la disolución problema (100 μ L) ya que proporciona una mayor señal y, por lo tanto, permitiría obtener unos límites de detección mucho más bajos, factor crítico a la hora de analizar los compuestos carbonílicos en vino ya que son relevantes a niveles de concentración de ng/L.

Tabla 9: Área relativa (promedio \pm desviación estándar) en función del volumen de la disolución problema en la extracción con Twister.

	Volumen de Dis. problema			
	10 μ L	25 μ L	50 μ L	100 μ L
Isobutiraldehído	1,10 \pm 0,10	2,42 \pm 0,22	4,69 \pm 0,43	5,43 \pm 0,53
2-Metilbutanal	2,53 \pm 0,27	6,31 \pm 0,58	14,17 \pm 0,54	22,26 \pm 2,16
3-Metilbutanal	2,28 \pm 0,19	5,57 \pm 0,41	12,21 \pm 0,53	20,11 \pm 1,77
(Z)-3-Hexenal	1,10 \pm 0,11	2,60 \pm 0,21	5,44 \pm 0,18	10,05 \pm 0,97
1-Octen-3-ona	1,72 \pm 0,22	4,35 \pm 0,88	8,69 \pm 1,31	17,58 \pm 0,15
(E)-2-Hexenal	3,11 \pm 0,30	8,04 \pm 0,67	17,22 \pm 0,37	31,87 \pm 3,71
(Z)-1,5-Octadien-3-ona	0,62 \pm 0,05	1,58 \pm 0,18	3,33 \pm 0,27	6,13 \pm 0,19
(E,E)-2,4-Hexadienal	2,47 \pm 0,22	6,76 \pm 0,43	13,77 \pm 0,38	24,26 \pm 2,23
Metional	0,57 \pm 0,09	0,75 \pm 0,16	0,57 \pm 0,05	0,89 \pm 0,13
3-Metil-2,4-nonadiona	1,86 \pm 0,24	4,66 \pm 0,17	8,70 \pm 0,33	14,81 \pm 0,71
Fenilacetaldehído	0,29 \pm 0,04	0,63 \pm 0,04	1,22 \pm 0,06	2,10 \pm 0,11
(E)-2-Nonenal	2,93 \pm 0,64	8,32 \pm 1,21	14,48 \pm 3,85	30,64 \pm 1,07
(E,Z)-2,6-Nonadienal	0,21 \pm 0,02	0,53 \pm 0,06	0,97 \pm 0,11	1,88 \pm 0,01
(E)-2-Decenal	1,25 \pm 0,44	3,72 \pm 0,23	5,61 \pm 1,88	13,64 \pm 0,88
(E,E)-2,4-Nonadienal	2,77 \pm 0,39	7,73 \pm 0,90	13,51 \pm 2,29	27,31 \pm 0,23
(E,E)-2,4-Decadienal	2,49 \pm 0,68	7,39 \pm 0,52	11,69 \pm 3,28	27,01 \pm 1,10

4.3.3. Efecto de la Fuerza Iónica de la disolución en la extracción

La sal es un compuesto que se añade a la disolución para poder mejorar la fuerza iónica de ésta (efecto salting-out). Para ello, se puede usar cualquier compuesto iónico pero, debido a la fácil disponibilidad en cualquier laboratorio, se suele utilizar NaCl. Si hay una determinada concentración de sal en la fase acuosa, permite la disminución de la solubilidad de la mezcla permitiendo una mayor adsorción para el PDMS del Twister. Mientras que si la concentración es elevada, la viscosidad de la disolución tiende a aumentar, reduciendo la eficiencia de la extracción¹⁷. Para conocer la cantidad de NaCl necesaria, se realizó el ANOVA y se detectó diferencias significativas en varios compuestos (Tabla 10) según la cantidad de NaCl. Se observó que en la disolución sin adición de NaCl, los resultados eran mayores que el resto de disoluciones. Además, en éstas últimas que contenían NaCl, los resultados eran constantes e inferiores indicando que no hacía falta el uso de NaCl en la extracción. Se llegó a la conclusión de que, como los compuestos derivatizados eran ya muy apolares, su afinidad por el PDMS era muy elevada sin la necesidad de adicionar NaCl.

Tabla 10: Área relativa (promedio \pm desviación estándar) en función del porcentaje de NaCl en la extracción con Twister.

	% de NaCl			
	0%	5%	10%	20%
Isobutiraldehído	2,52 \pm 0,19	2,01 \pm 0,15	1,91 \pm 0,24	1,95 \pm 0,27
2-Metilbutanal	6,25 \pm 0,45	5,54 \pm 0,45	4,69 \pm 0,99	4,50 \pm 0,74
3-Metilbutanal	5,39 \pm 0,38	4,88 \pm 0,35	4,16 \pm 0,74	4,02 \pm 0,55
(Z)-3-Hexenal	2,34 \pm 0,13	2,59 \pm 0,24	2,22 \pm 0,31	2,02 \pm 0,27
1-Octen-3-ona	2,77 \pm 0,61 ^{ab}	4,34 \pm 0,30 ^a	1,37 \pm 0,06 ^b	1,05 \pm 0,11 ^b
(E)-2-Hexenal	6,98 \pm 0,50	7,60 \pm 0,65	6,74 \pm 1,13	5,09 \pm 1,13
(Z)-1,5-Octadien-3-ona	1,24 \pm 0,21 ^{ab}	1,55 \pm 0,23 ^a	0,81 \pm 0,44 ^b	0,61 \pm 0,42 ^b
(E,E)-2,4-Hexadienal	5,65 \pm 0,45	6,18 \pm 0,42	6,25 \pm 0,40	5,30 \pm 0,47
Metional	0,57 \pm 0,09	0,75 \pm 0,15	0,70 \pm 0,05	0,57 \pm 0,09
3-Metil-2,4-nonadiona	3,88 \pm 0,27	4,21 \pm 0,09	4,33 \pm 0,20	4,12 \pm 0,25
Fenilacetaldehído	0,54 \pm 0,05	0,61 \pm 0,06	0,68 \pm 0,10	0,62 \pm 0,04
(E)-2-Nonenal	3,62 \pm 1,09 ^{ab}	7,55 \pm 0,01 ^a	2,69 \pm 0,83 ^b	2,21 \pm 0,51 ^b
(E,Z)-2,6-Nonadienal	0,34 \pm 0,08 ^{ab}	0,48 \pm 0,01 ^a	0,23 \pm 0,03 ^a	0,19 \pm 0,03 ^b
(E)-2-Decenal	1,09 \pm 0,35 ^{ab}	2,91 \pm 0,05 ^a	1,04 \pm 0,50 ^b	0,87 \pm 0,18 ^b
(E,E)-2,4-Nonadienal	4,01 \pm 1,14 ^{ab}	6,71 \pm 0,13 ^a	2,73 \pm 0,82 ^{ab}	2,37 \pm 0,39 ^b
(E,E)-2,4-Decadienal	2,62 \pm 0,84 ^{ab}	5,99 \pm 0,04 ^a	2,22 \pm 1,08 ^{ab}	1,86 \pm 0,39 ^b

^{a, b}: Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos.

4.3.4. Optimización del Tiempo de Extracción

El tiempo de extracción se estudió desde los 15 minutos hasta las 2 horas con el objetivo de conseguir el mínimo tiempo posible para dicho proceso. Realizado el ANOVA, se observaron diferencias significativas para el isobutiraldehído, (Z)-1,5-octadien-3-ona, (E,E)-2,4-hexadienal, 3-metil-2,4-nonadiona y el fenilacetaldehído con respecto a los diferentes tiempos estudiados, señaladas en la tabla 11. Dado que los resultados de mayor valor se han dado para las 2 horas, éste sería el tiempo óptimo de extracción de la técnica. Se detectó un incremento en los valores con respecto al tiempo de extracción, sin embargo la gran variabilidad observada en las réplicas hizo que el análisis estadístico fuera poco fiable para llegar a una conclusión definitiva.

Tabla 11: Área relativa (promedio \pm desviación estándar) en función del tiempo de extracción en la extracción con Twister.

	Tiempo de Extracción				
	15 min	30 min	45 min	60 min	120 min
Isobutiraldehído	3,56 \pm 0,26 ^b	4,13 \pm 0,41 ^{ab}	4,02 \pm 0,10 ^{ab}	3,88 \pm 0,18 ^{ab}	4,38 \pm 0,09 ^a
2-Metilbutanal	9,59 \pm 1,61	10,84 \pm 0,55	11,78 \pm 0,17	10,36 \pm 1,40	12,70 \pm 0,29
3-Metilbutanal	8,26 \pm 1,30	9,23 \pm 0,55	10,11 \pm 0,37	8,95 \pm 1,15	10,95 \pm 0,18
(Z)-3-Hexenal	3,62 \pm 0,42	4,18 \pm 0,25	4,66 \pm 0,27	3,98 \pm 0,86	5,22 \pm 0,53
1-Octen-3-ona	6,95 \pm 2,48	4,24 \pm 1,95	6,56 \pm 1,37	5,61 \pm 1,75	7,43 \pm 1,30
(E)-2-Hexenal	11,90 \pm 1,85	12,29 \pm 0,77	13,99 \pm 0,65	11,85 \pm 2,35	15,24 \pm 1,09
(Z)-1,5-Octadien-3-ona	2,49 \pm 0,66 ^b	1,90 \pm 0,46 ^b	2,58 \pm 0,32 ^b	2,23 \pm 0,48 ^b	12,00 \pm 0,29 ^a
(E,E)-2,4-Hexadienal	9,07 \pm 1,03 ^b	10,91 \pm 0,80 ^{ab}	11,45 \pm 0,66 ^{ab}	9,34 \pm 1,61 ^{ab}	12,47 \pm 0,74 ^a
Metional	0,82 \pm 0,07	0,67 \pm 0,14	0,62 \pm 0,09	0,64 \pm 0,14	0,59 \pm 0,06
3-Metil-2,4-nonadiona	6,54 \pm 0,62 ^b	7,19 \pm 0,27 ^{ab}	7,40 \pm 0,12 ^{ab}	7,26 \pm 0,55 ^{ab}	8,04 \pm 0,10 ^a
Fenilacetaldehído	0,93 \pm 0,06 ^b	1,06 \pm 0,05 ^{ab}	1,11 \pm 0,01 ^a	1,06 \pm 0,07 ^{ab}	1,18 \pm 0,01 ^a
(E)-2-Nonenal	12,54 \pm 4,17	8,22 \pm 4,31	12,01 \pm 4,64	9,72 \pm 4,07	12,20 \pm 3,60
(E,Z)-2,6-Nonadienal	0,79 \pm 0,19	0,57 \pm 0,22	0,80 \pm 0,16	0,71 \pm 0,17	0,87 \pm 0,13
(E)-2-Decenal	5,31 \pm 1,78	3,47 \pm 2,15	5,14 \pm 2,18	4,01 \pm 2,08	4,56 \pm 2,16
(E,E)-2,4-Nonadienal	11,11 \pm 3,04	7,91 \pm 3,74	11,33 \pm 3,40	9,67 \pm 3,27	12,00 \pm 2,63
(E,E)-2,4-Decadienal	10,85 \pm 3,33	7,34 \pm 4,23	10,61 \pm 4,16	8,45 \pm 3,88	12,00 \pm 3,84

^{a, b}: Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos.

5. Conclusiones

Tras realizar el estudio, se ha llegado a la conclusión de que el uso de la técnica SBSE-GC-MS con una previa derivatización era ideal para detectar compuestos carbonílicos traza en el vino, obteniéndose unos resultados satisfactorios con respecto a los parámetros estudiados y optimizados.

Con respecto a las optimizaciones del tipo de disolvente y el volumen de elución, se llegó a un compromiso debido a las diversas polaridades de los compuestos a estudiar. Se eligió como disolvente óptimo etanol con un 20% de hexano y un volumen de elución de 1,5 mL ya que los analitos en el vino sintético se extraen casi por completo.

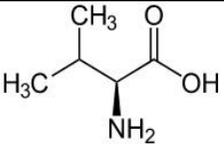
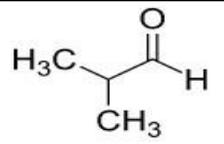
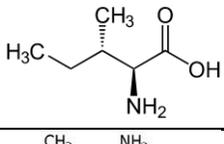
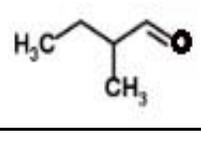
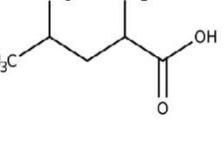
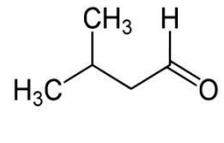
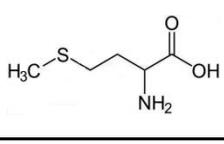
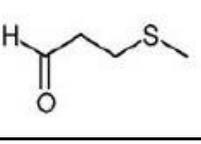
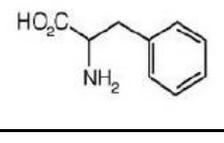
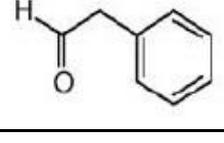
En la optimización de la etapa de extracción con el Twister se estudiaron parámetros relevantes como el factor de dilución del extracto con agua, la cantidad de extracto a añadir, la necesidad o no de añadir NaCl a las diluciones u obtener el tiempo de extracción, realizándose un profundo estudio estadístico que permitió optimizar éstos. De esta manera, se obtuvieron los valores ideales para realizar poder realizar un análisis de estos compuestos proporcionando una elevada señal y permitiendo obtener, más adelante, una validación del método.

6. Bibliografía

1. Bueno, M.; Culleré, L.; Cacho, J.; Ferreira, V., Chemical and sensory characterization of oxidative behavior in different wines. *Food Research International* **2010**, *43* (5), 1423-1428.
2. Leffingwell and Associates. <http://www.leffingwell.com/odorthre.htm> (accessed June).
3. Escudero, A.; Asensio, E.; Cacho, J.; Ferreira, V., Sensory and chemical changes of young white wines stored under oxygen. An assessment of the role played by aldehydes and some other important odorants. *Food Chemistry* **2002**, *77* (3), 325-331.
4. Silva Ferreira, A. C.; Oliveira, C.; Hogg, T.; Guedes de Pinho, P., Relationship between Potentiometric Measurements, Sensorial Analysis, and Some Substances Responsible for Aroma Degradation of White Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2003**, *51* (16), 4668-4672.
5. Culleré, L.; Cacho, J.; Ferreira, V., An Assessment of the Role Played by Some Oxidation-Related Aldehydes in Wine Aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2007**, *55* (3), 876-881.
6. Escudero, A.; Hernández-Orte, P.; Cacho, J.; Ferreira, V., Clues about the Role of Methional As Character Impact Odorant of Some Oxidized Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2000**, *48* (9), 4268-4272.
7. Ferreira, V.; Bueno, M.; Franco-Luesma, E.; Culleré, L.; Fernández-Zurbano, P., Key Changes in Wine Aroma Active Compounds during Bottle Storage of Spanish Red Wines under Different Oxygen Levels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2014**, *62* (41), 10015-10027.
8. Pons, A.; Lavigne, V.; Darriet, P.; Dubourdieu, D., Role of 3-Methyl-2,4-nonanedione in the Flavor of Aged Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2013**, *61* (30), 7373-7380.
9. Aragón-Capone, Á. M. Estudio de los Factores que inciden en la Formación de Aldehídos de Strecker en la Fermentación Alcohólica. Trabajo de Fin de Máster, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, 2020.
10. Singleton, V. L., Oxygen with Phenols and Related Reactions in Musts, Wines, and Model Systems: Observations and Practical Implications. *American Journal of Enology and Viticulture* **1987**, *38* (1), 69.
11. Whitfield, F. B.; Mottram, D. S., Volatiles from interactions of Maillard reactions and lipids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **1992**, *31* (1-2), 1-58.
12. Cancho, B.; Ventura, F.; Galceran, M. T., Determination of aldehydes in drinking water using pentafluorobenzylhydroxylamine derivatization and solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A* **2002**, *943* (1), 1-13.
13. Zapata, J.; Mateo-Vivaracho, L.; Cacho, J.; Ferreira, V., Comparison of extraction techniques and mass spectrometric ionization modes in the analysis of wine volatile carbonyls. *Analytica Chimica Acta* **2010**, *660* (1), 197-205.
14. Cullere, L.; Cacho, J.; Ferreira, V., Analysis for wine C5–C8 aldehydes through the determination of their O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)oximes formed directly in the solid phase extraction cartridge. *Analytica Chimica Acta* **2004**, *524*, 201-206.
15. David, F.; Ochiai, N.; Sandra, P., Two decades of stir bar sorptive extraction: A retrospective and future outlook. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2019**, *112*, 102-111.
16. Espada, L. Desarrollo y Aplicación de un Método de Análisis para la Determinación de Aldehídos Volátiles en Vino. Trabajo de Fin de Máster, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, 2018.
17. Marsol-Vall, A.; Balcells, M.; Eras, J.; Canela-Garayoa, R., Development of a SBSE-TD method coupled to GC–MS and chemometrics for the differentiation of variety and processing conditions in peach juices. *Food Chemistry* **2018**, *239*, 119-125.
18. GERSTEL soluciones personalizadas para la preparación de muestras, GC-MS y LC-MS.
19. ChemSpider, Search and Share Chemistry. <http://www.chemspider.com> (accessed Abril 2021).

7. Anexos

Anexo 1: Relación de aminoácidos con su respectivo aldehído de Strecker y sus correspondientes olores.

Aminoácido Precursor	Aldehído de Strecker	Olor destacable ^a	Umbral de olfacción en agua (µg/L) ^b
Valina 	Isobutanal (2-metilpropanal)		Malta/Tostado 0,1-2,3
Isoleucina 	2-Metilbutanal		Rancio/Malta 1
Leucina 	3-Metilbutanal (Isovaleraldehído)		Grasa/Malta 0,2-2
Metionina 	Metional		Patata cocida 0,2
Fenilalanina 	Fenilacetaldehído		Miel/Fruta pasa 4

^a Aragón-Capone, Á.M., Estudio de los Factores que inciden en la Formación de Aldehídos de Strecker en la Fermentación Alcohólica, in Departamento de Química Analítica 2020, Universidad de Zaragoza: Zaragoza.

^b Leffingwell and Associates. [cited 2021 June]; Available from: <http://www.leffingwell.com/odorthre.htm>

Anexo 2: Compuestos carbonílicos derivados de la oxidación de ácidos grasos

Ácido graso precursor	Compuesto carbonílico derivado	Olor destacable ^a	Umbral de olfacción en agua (µg/L) ^b
Ácido linoleico	1-octen-3-ona	Hierba, mantequilla, resina	0,005
	(E)-2-nonenal	Pepina, graso, verde	0,08-0,1
	(E,E)-2,4-nonadienal	Graso, cera, verde	0,09
	(E,E)-2,4-decadienal	Graso, frito, cera	0,07
Ácido linolénico	(E)-2-hexenal	Graso, rancio	17
	(Z)-3-hexenal	Hoja, verde	0,25
	(E,Z)-2,6-nonadienal	Pepino, grasa, verde	0,01
Ácido oléico	(E)-2-decenal	Naranja	0,3-0,4
Otros	(Z)-1,5-Octadien-3-ona	Geranio, metal	0,1
	(E,E)-2,4-Hexadienal	Verde	10-60
	3-Metil-2,4-nonadiona	Paja, fruta	0,1

^a "Flavornet and human odor space." Retrieved Junio, 2021, from <https://www.flavornet.org/>

^b Leffingwell and Associates. [cited 2021 June]; Available from: <http://www.leffingwell.com/odorthre.htm>

Anexo 3: Cálculo de las Concentraciones de las Disoluciones.

Ecuación 1:

$$\text{Conc. Madre} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{\text{mg compuesto}}{\text{g disolución}} * \text{Densidad del disolvente} \left(\frac{\text{g}}{\text{ml}} \right) * 1000 \text{ ml/L}$$

Ecuación 2:

$$\text{Conc. Int.} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{\frac{\text{g Dis. Madre}}{\text{Densidad Disolvente Madre} \left(\frac{\text{g}}{\text{ml}} \right)} * \text{Concentración Madre} \left(\frac{\text{g}}{\text{L}} \right)}{\text{g Disolución Diluida (Suma de todos los compuestos de la dis. + el disolvente)}} * \text{Densidad Dis. Diluida} \left(\frac{\text{g}}{\text{ml}} \right)$$

Anexo 4: Concentraciones de las Disoluciones Madre.

Compuestos	mg/L
(Z)-3-hexenal	4228
(E)-2-hexenal	4301
(E)-2-nonenal	4863
(E)-2-decenal	7826
1-octen-3-ona	4244
(Z)-1,5-octadien-3-ona	1518
3-metil-2,4-nonadiona	4240
Isobutiraldehído	3718
2-metilbutanal	4295
3-metilbutanal	3993
Metional	5320
Fenilacetaldehído	5423
(E,E)-2,4-Hexadienal	7694
(E,Z)-2,6-Nonadienal	4975
(E,E)-2,4-nonadienal	4214
(E,E)-2,4-decadienal	4822

Anexo 5: Preparación de las Disoluciones Intermedias.

Disoluciones Intermedias		mg/L
M-1	(Z)-3-hexenal	247
	(E)-2-hexenal	371
	(E)-2-nonenal	362
	(E)-2-decenal	335
M-2	1-octen-3-ona	334
	(Z)-1,5-octadien-3-ona	316
	3-metil-2,4-nonadiona	339
Dis. Hecha	Isobutiraldehído	303
	2-metilbutanal	294
	3-metilbutanal	298
	Metional	301
	Fenilacetaldehído	305
M-3	(E,E)-2,4-Hexadienal	289
	(E,Z)-2,6-Nonadienal	308
	(E,E)-2,4-nonadienal	292
	(E,E)-2,4-decadienal	300

Anexo 6: Composición de la Disolución de Trabajo.

Disolución Trabajo	mg/L
(Z)-3-hexenal	22
(E)-2-hexenal	33
(E)-2-nonenal	33
(E)-2-decenal	30
1-octen-3-ona	30
(Z)-1,5-octadien-3-ona	28
3-metil-2,4-nonadiona	31
Isobutiraldehído	30
2-metilbutanal	29
3-metilbutanal	30
Metional	30
Fenilacetaldehído	31
(E,E)-2,4-Hexadienal	29
(E,Z)-2,6-Nonadienal	31
(E,E)-2,4-nonadienal	29
(E,E)-2,4-decadienal	30

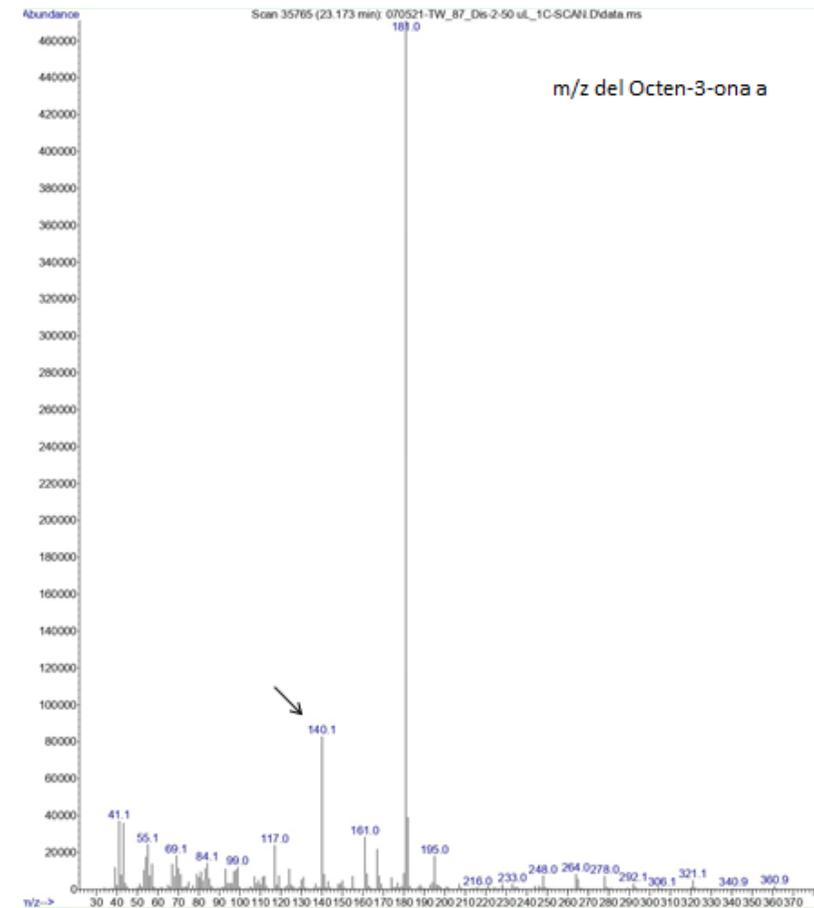
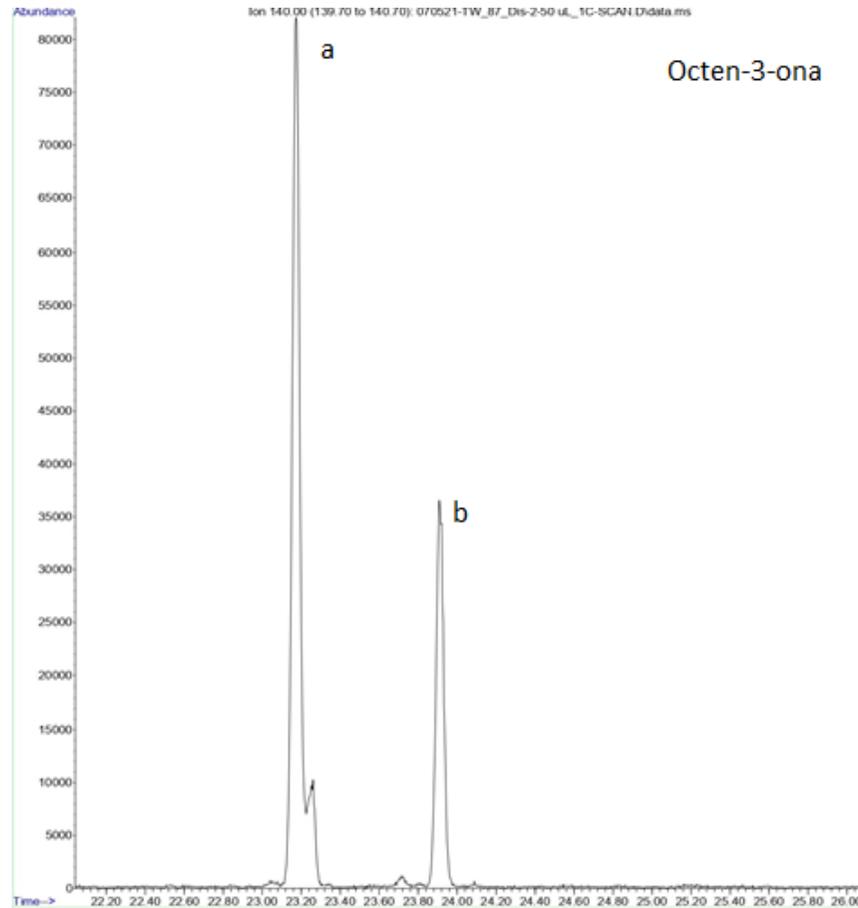
Anexo 7: Concentraciones de los compuestos carbonílicos en la muestra de vino sintético.

Vino Sintético	µg/L
Z-3-hexenal	89
(Z)-3-hexenal	134
(E)-2-hexenal	130
(E)-2-nonenal	120
(E)-2-decenal	120
1-octen-3-ona	114
(Z)-1,5-octadien-3-ona	122
3-metil-2,4-nonadiona	121
Isobutiraldehído	118
2-metilbutanal	119
3-metilbutanal	121
Metional	122
Fenilacetaldehído	116
(E,E)-2,4-Hexadienal	123
(E,Z)-2,6-Nonadienal	117
(E,E)-2,4-nonadienal	120
(E,E)-2,4-decadienal	

Anexo 8: Mezclas de compuestos a determinar para conocer sus tiempos de retención.

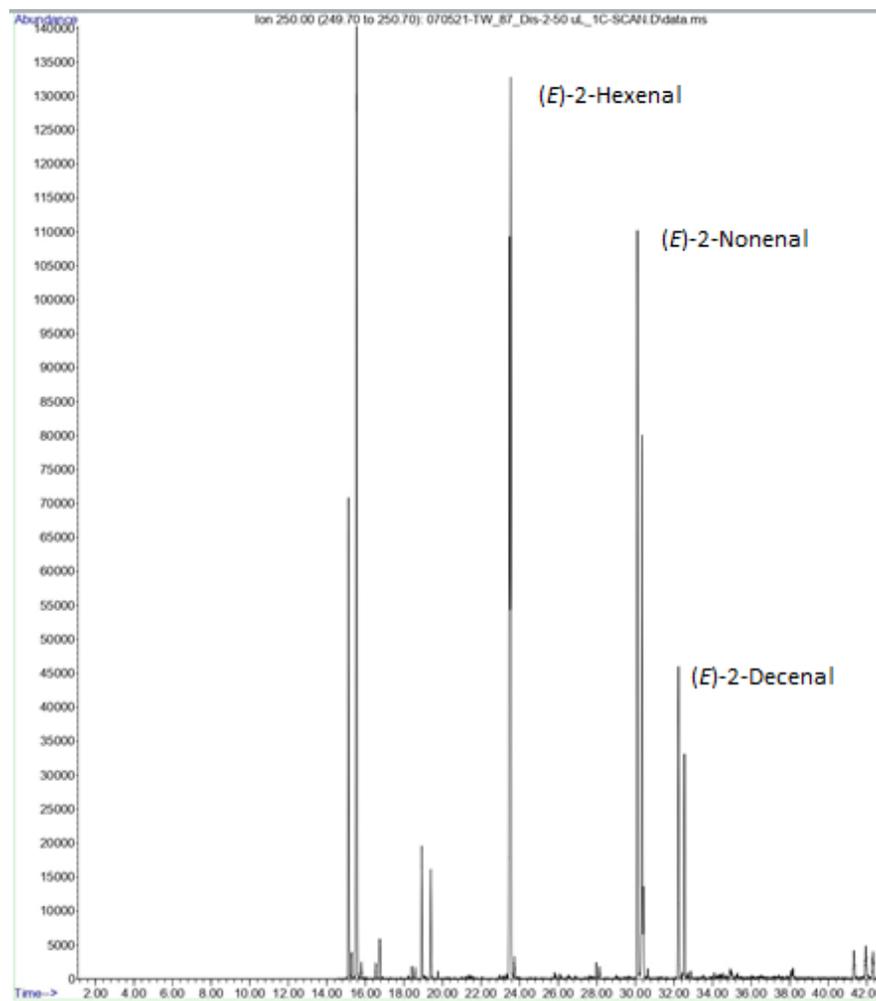
Compuestos preparados individualmente	Mezcla 1 (M-1)	Mezcla 2 (M-2)	Mezcla 3 (M-3)	Mezcla 4 (M-4)	Mezcla 5 (M-5)	Mezcla 6 (M-6 = P 242-2)
(E)-2-nonenal	(E)-2-hexenal	1-octen-3-ona	(Z)-1,5-octadien-3-ona	(E,E)-2,4-hexadienal	(E,Z)-2,6-nonadienal	Isobutanal
(E,E)-2,4-nonadienal		(Z)-3-hexenal	3-metil-2,4-nonadiona			2-metilbutanal
(E,E)-2,4-decadienal			(E)-2-decenal			3-metilbutanal
						Metional
						Fenilacetaldehído

Anexo 9: Ejemplos de cromatogramas y espectros de masas de diferentes analitos



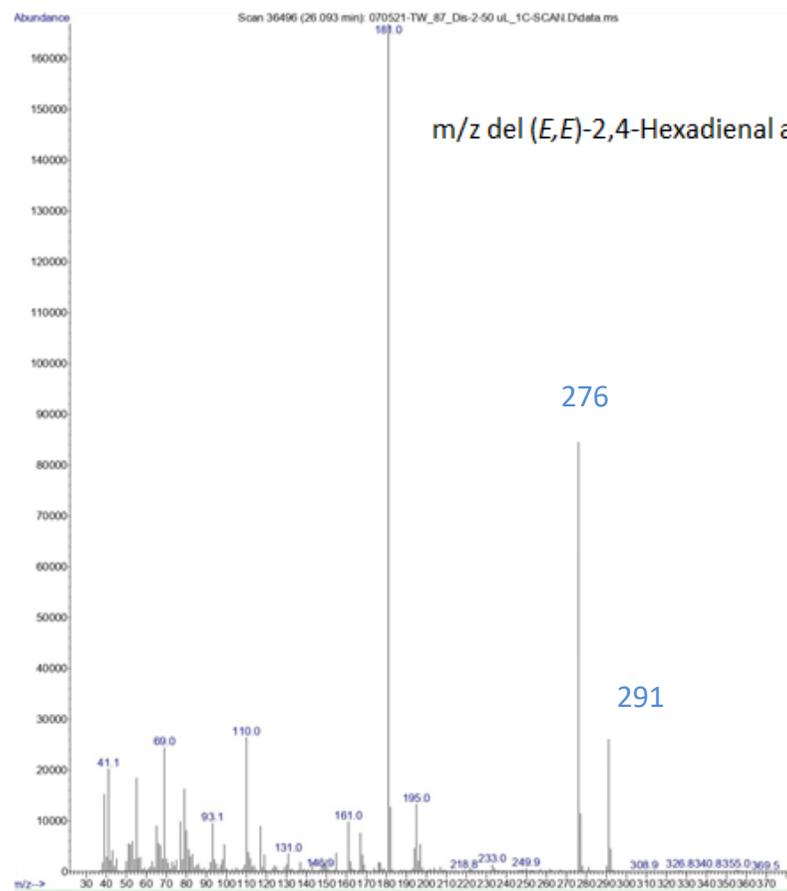
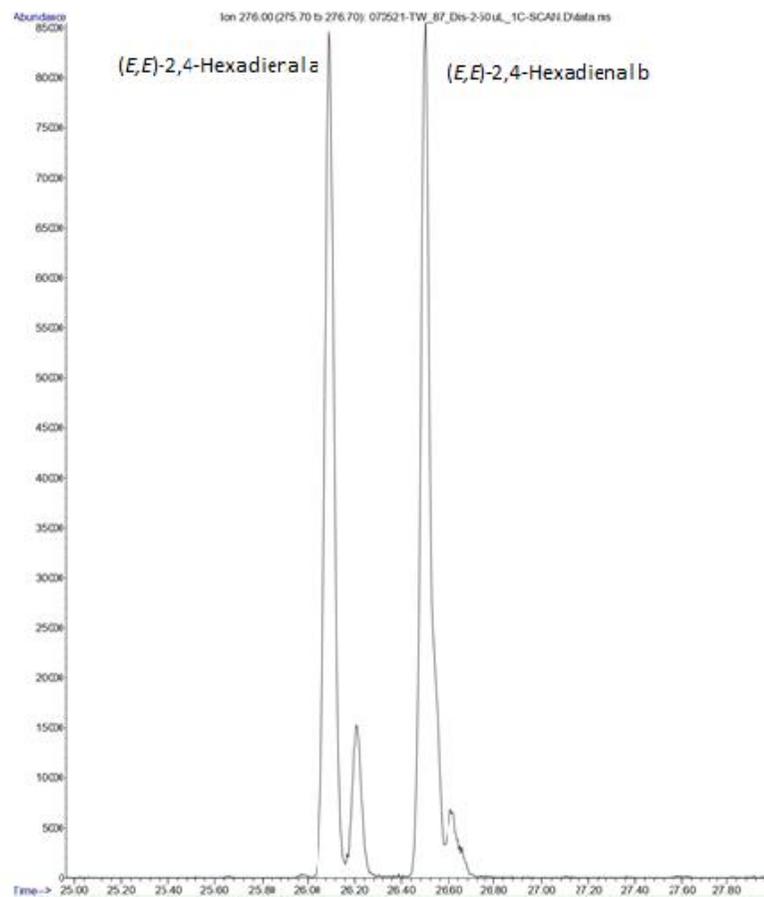
Cromatograma a m/z 140 de las dos oximas de la 1-octen-3-ona cuyos tiempos de retención son 23,20 min (a) y 23,99 min (b) y su espectro.

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.



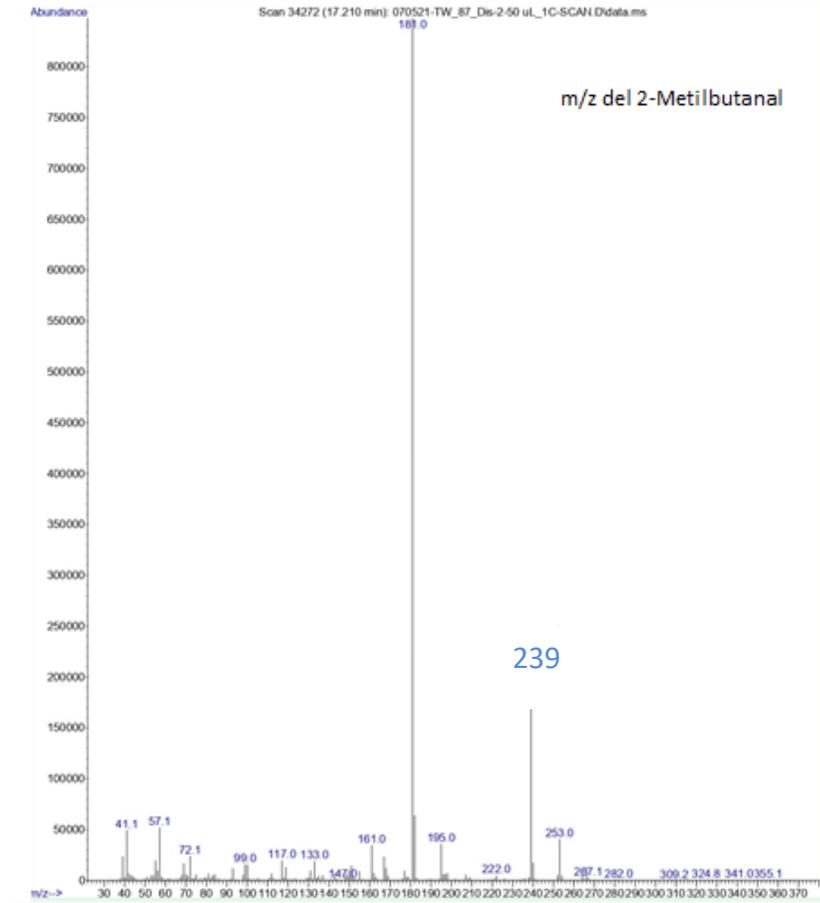
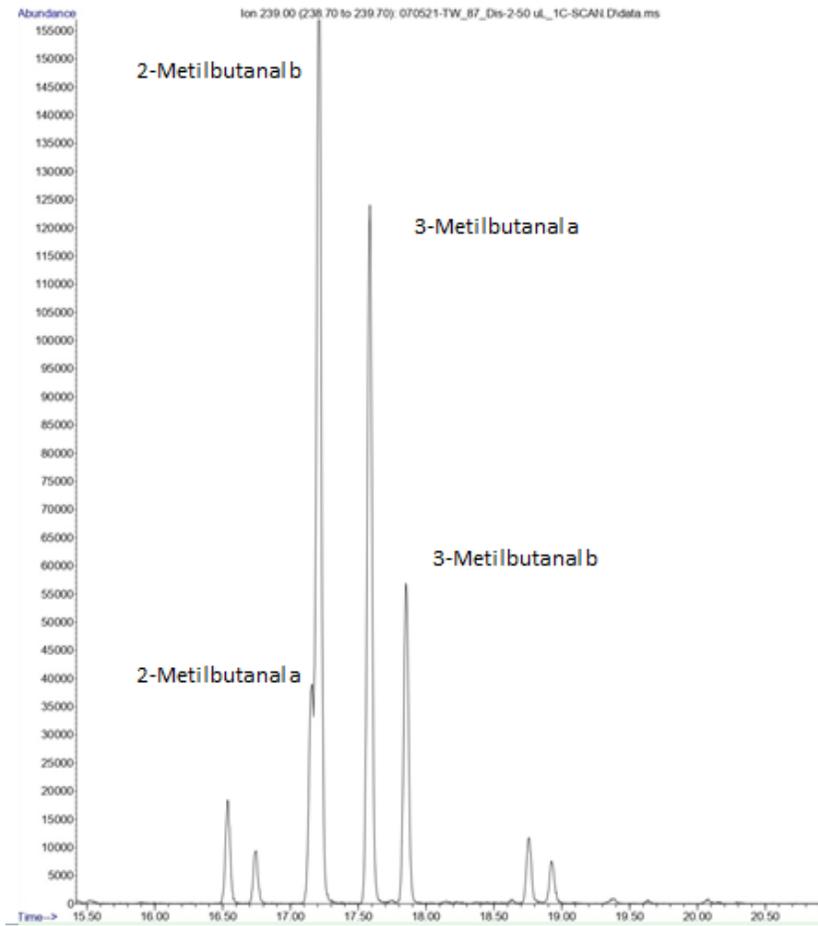
Cromatograma a m/z 250 con los tiempos de retención de las oximas de (*E*)-2-Hexenal (23,56 y 23,62 min), (*E*)-2-Nonenal (30,45 y 30,72 min) y el (*E*)-2-Decenal (32,70 y 33,05 min).

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.



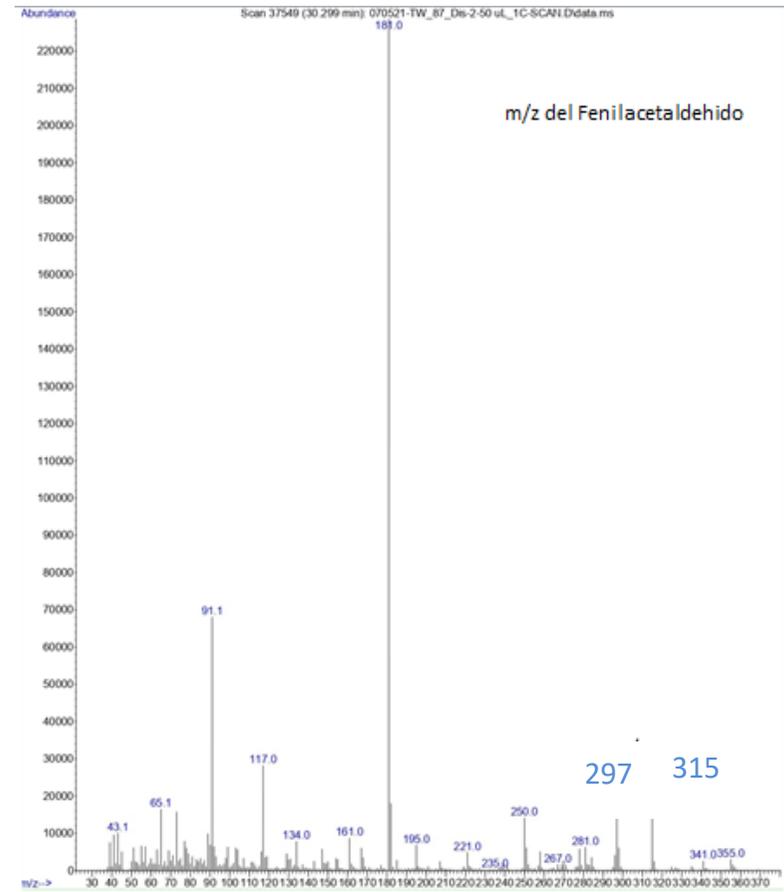
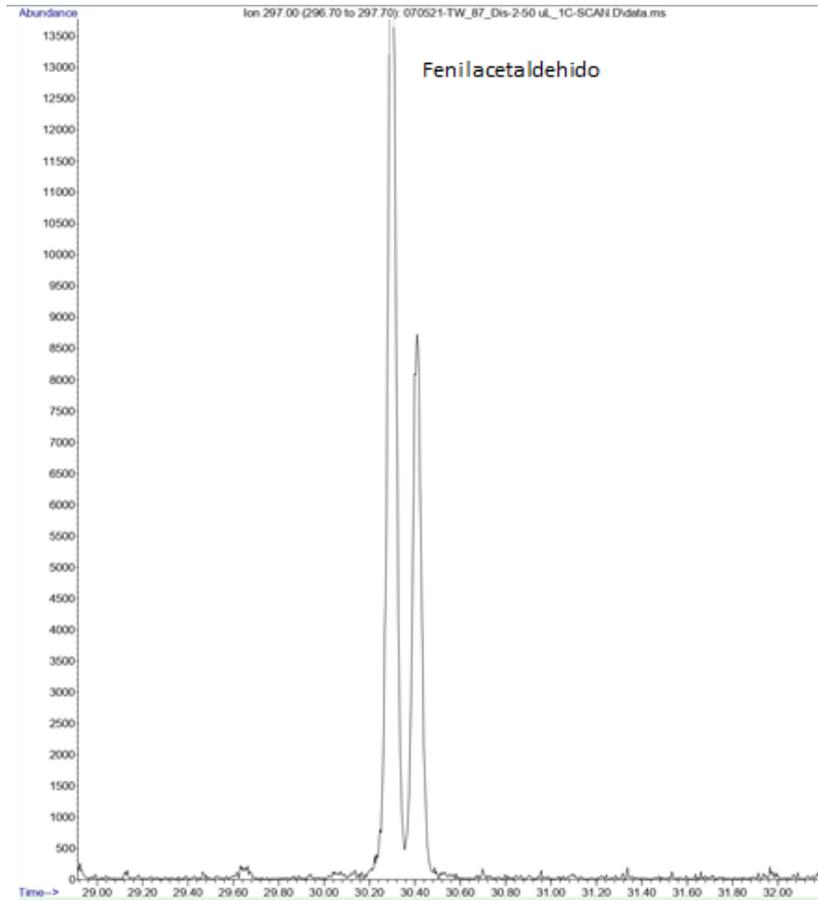
Cromatograma a m/z 276 de las dos oximas del (E,E)-2,4-Hexadienal cuyos tiempos de retención son 26,21 min (a) y 26,60 min (b) y su espectro.

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.



Cromatograma a m/z 239 con los picos de los compuestos 2-metilbutanal (17,25 min y 17,30 min) y 3-metilbutanal (17,68 min y 17,95 min) y espectro del 2-metilbutanal.

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.



Cromatograma a m/z 297 de las dos oximas del Fenilacetaldhído cuyo tiempo de retención es de 30,66 min y su espectro.

Anexo 10: Valores de los Log K_{ow} de los compuestos.

Compuestos	Log K _{ow} ^a
Isobutiraldehído	0,74
2-metilbutanal	1,23
3-metilbutanal	1,23
(Z)-3-hexenal	1,58
1-octen-3-ona	2,37
(E)-2-hexenal	1,58
(E,E)-2,4-hexadienal	1,37
Metional	0,41
Fenilacetaldehído	1,78 (Exp)
(E)-2-nonenal	3,06
(E,Z)-2,6-nonadienal	2,84
(E)-2-Decenal	3,55
(E,E)-2,4-Nonadienal	2,84
(E,E)-2,4-Decadienal	3,33
(Z)-1,5-octadien-3-ona	2,16
3-metil-2,4-nonadiona	2,43
2,3,4-TCA	3,74 (Exp)

^a "ChemSpider, Search and Share Chemistry." Retrieved Abril 2021, from <http://www.chemspider.com>.

Anexo 11: Valores de las Áreas para cada Disolvente.

EtOH/Agua	Áreas de las Réplicas E1									
	Compuestos	E1-0,5	E1-1	E1-1,5	E1-2	E1-2,5	E1-3	E1-3,5	E1-4	SUMA
	Isobutiraldehído	46292223	33963656	15028656	4844299	2997171	813852	1808096	1070596	106818549
	2-metilbutanal	17163173	21740491	3930094	1604480	1532672	665521	577410	334999	47548840
	3-metilbutanal	34219435	32511538	18598206	7282318	3536007	1725789	1460499	818956	100152748
	3-metilbutanal 1	14897650	14296668	8145816	3145415	1459579	727547	554591	278348	43505614
	3-metilbutanal 2	19321785	18214870	10452390	4136903	2076428	998242	905908	540608	56647134
	(Z)-3-hexenal	4023068	3977328	2462717	1114469	625816	435655	211348	140643	12991044
	(Z)-3-hexenal 1	3767912	3313672	2144246	955273	530546	382168	190057	127624	11411498
	(Z)-3-hexenal 2	255156	663656	318471	159196	95270	53487	21291	13019	1579546
	1-octen-3-ona	10468326	16472193	20358305	9672463	5106188	3859878	3398772	1469612	70805737
	(E)-2-hexenal	19154976	26548596	46513598	27445414	23593259	22582211	18338402	16053074	200229530
	(E,E)-2,4-hexadienal	21437503	33655838	60423919	52355802	52294720	54128719	46837079	46883678	368017258
	(E,E)-2,4-hexadienal 1	11051377	17023435	29613972	26285630	26719622	27819505	24920020	24959356	188392917
	(E,E)-2,4-hexadienal 2	10386126	16632403	30809947	26070172	25575098	26309214	21917059	21924322	179624341
	Metional	3339826	1066321	2748	1833	1833	1479	2585	2246	4418871
	Fenilacetaldehído	9027835	10920228	10398724	6319599	5646978	4832036	4651017	4855825	56652242
	(E)-2-nonenal	21130169	26188569	74453253	51523348	47216388	52155569	73616482	59071174	405354952
	(E)-2-nonenal 1	8584078	11026857	33818732	20788910	18133122	19974822	32206579	23935478	168468578
	(E)-2-nonenal 2	12546091	15161712	40634521	30734438	29083266	32180747	41409903	35135696	236886374
	(E,Z)-2,6-nonadienal	5879947	7823802	25900530	18670210	18205875	22264648	27112879	24835670	150693561
	(E)-2-Decenal	6505990	6530946	33771051	7665827	11967051	21323101	42488421	26921316	157173703
	(E)-2-Decenal 1	2077255	2878638	13631469	7663732	4664829	8071171	15360721	13293958	67641773
	(E)-2-Decenal 2	4428735	3652308	20139582	2095	7302222	13251930	27127700	13627358	89531930
	(E,E)-2,4-Nonadienal	644693	2122843	9281216	5882662	5847962	7936615	21836987	10533604	64086582
	(E,E)-2,4-Nonadienal 1	638754	933087	3334036	2025775	1993627	2661388	4129232	3516908	19232807
	(E,E)-2,4-Nonadienal 2	5939	1189756	5947180	3856887	3854335	5275227	17707755	7016696	44853775
	(E,E)-2,4-Decadienal	610857	592919	4159491	1804486	1892698	2381898	6322913	3864975	21630237
	(Z)-1,5-octadien-3-ona	13085582	24756431	30409443	18988147	12348011	10238954	7698105	4819964	122344637
	3-metil-2,4-nonadiona	6966807	11822042	11843181	6727594	4636783	3833126	2687565	2153769	50670867
	2,3,4-TCA	156485	188432	180890	176580	196896	199711	195453	200862	186913,625

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

<i>EtOH/Agua</i>	Áreas de las Réplicas E2								
Compuestos	E2-0,5	E2-1	E2-1,5	E2-2	E2-2,5	E2-3	E2-3,5	E2-4	SUMA
Isobutiraldehído	396620	1905315	1113099	475561	107191	45858	15441	25290	4084375
2-metilbutanal	222305	765613	540024	283325	96991	41096	10530	16865	1976749
3-metilbutanal	435653	1031739	787170	460192	172663	90429	21753	39906	3039505
3-metilbutanal 1	200300	475219	360138	208874	80516	42608	9658	18201	1395514
3-metilbutanal 2	235353	556520	427032	251318	92147	47821	12095	21705	1643991
(Z)-3-hexenal	47138	83571	70438	46657	24384	17383	5155	7408	302134
(Z)-3-hexenal 1	38804	78552	57127	39976	19310	13643	3966	6668	258046
(Z)-3-hexenal 2	8334	5019	13311	6681	5074	3740	1189	740	44088
1-octen-3-ona	414748	553157	578468	561084	238078	157564	53612	94269	2650980
(E)-2-hexenal	1597142	1517014	1700100	1713208	1340502	1241808	633620	854312	10597706
(E,E)-2,4-hexadienal	1416193	1071468	1307763	1442821	1480884	1556316	946852	1053646	10275943
(E,E)-2,4-hexadienal 1	740053	566781	698823	810980	859103	893572	561038	575645	5705995
(E,E)-2,4-hexadienal 2	676140	504687	608940	631841	621781	662744	385814	478001	4569948
Metional	574	748	20	610	18	8	13	5	1996
Fenilacetaldehído	156156	302786	304598	246661	129767	122092	99731	106327	1468118
(E)-2-nonenal	1197330	1162340	1359248	2392307	1151418	1460604	1979386	2448371	13151004
(E)-2-nonenal 1	464641	462272	528072	880440	1141676	528662	650416	819711	5475890
(E)-2-nonenal 2	732689	700068	831176	1511867	9742	931942	1328970	1628660	7675114
(E,Z)-2,6-nonadienal	400844	297935	383474	522598	524018	498375	490380	568776	3686400
(E)-2-Decenal	182219	285090	245511	568067	365095	269805	606228	800768	3322783
(E)-2-Decenal 1	74576	119707	102940	214454	137703	102265	210479	275232	1237356
(E)-2-Decenal 2	107643	165383	142571	353613	227392	167540	395749	525536	2085427
(E,E)-2,4-Nonadienal	105960	103770	112111	162938	168808	166013	209276	244839	1273715
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	44010	44431	49413	70129	73085	68244	90053	104940	544305
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	61950	59339	62698	92809	95723	97769	119223	139899	729410
(E,E)-2,4-Decadienal	48464	57041	58497	113182	102624	89838	173324	205561	848531
(Z)-1,5-octadien-3-ona	751830	775850	865758	831883	481201	371389	147583	228212	4453706
3-metil-2,4-nonadiona	239486	315812	299946	245172	145719	110064	45324	69130	1470653
2,3,4-TCA	30966	29171	34262	17044	31941	33756	36342	36443	31240,625

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

<i>Metanol</i>	<i>Áreas de las Réplicas M1</i>								
Compuestos	M1-0,5	M1-1	M1-1,5	M1-2	M1-2,5	M1-3	M1-3,5	M1-4	SUMA
Isobutiraldehído	3520437	2312705	1915768	1361888	319780	85826	56278	50243	9622925
2-metilbutanal	1146758	1484129	1619924	1535214	944273	536110	609323	313425	8189156
3-metilbutanal	613689	767043	1124991	1005852	487238	148904	75284	23570	4246571
3-metilbutanal 1	287960	338252	508238	459867	224067	69693	35549	11429	1935055
3-metilbutanal 2	325729	428791	616753	545985	263171	79211	39735	12141	2311516
(Z)-3-hexenal	49858	40810	89387	92359	66009	30099	19338	6721	394581
(Z)-3-hexenal 1	32476	32431	78812	82643	56217	24764	16865	5739	329947
(Z)-3-hexenal 2	17382	8379	10575	9716	9792	5335	2473	982	64634
1-octen-3-ona	24278	90810	588642	520025	509778	461797	447661	204763	2847754
(E)-2-hexenal	67850	163089	1157104	1561107	1759178	1488599	1709903	1092292	8999122
(E,E)-2,4-hexadienal	640774	187415	825402	1227953	1756475	1673526	2247110	1241657	9800312
(E,E)-2,4-hexadienal 1	624255	153726	412696	614080	959062	933949	1278668	692573	5669009
(E,E)-2,4-hexadienal 2	16519	33689	412706	613873	797413	739577	968442	549084	4131303
Metional	62667	424	113	52	51	28	61	15	63411
Fenilacetaldéhído	106924	107739	232585	159319	124152	119423	175928	125287	1151357
(E)-2-nonenal	223827	31111	385020	262487	361075	1016000	1911991	1742120	5933631
(E)-2-nonenal 1	66976	12602	156263	106347	153851	408946	782276	671581	2358842
(E)-2-nonenal 2	156851	18509	228757	156140	207224	607054	1129715	1070539	3574789
(E,Z)-2,6-nonadienal	25196	6210	103886	103781	169148	308492	567837	486947	1771497
(E)-2-Decenal	159204	27045	83262	43418	44526	177894	308208	305305	1148862
(E)-2-Decenal 1	52582	10772	33446	17090	18067	72572	132735	126704	463968
(E)-2-Decenal 2	106622	16273	49816	26328	26459	105322	175473	178601	684894
(E,E)-2,4-Nonadienal	10049	7287	33057	26617	33765	75856	151504	132473	470608
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	4801	3968	17073	13876	14779	33071	63672	56013	207253
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	5248	3319	15984	12741	18986	42785	87832	76460	263355
(E,E)-2,4-Decadienal	20176	2066	19617	11698	11858	37957	72778	70194	246344
(Z)-1,5-octadien-3-ona	24656	114666	813312	935882	902899	650339	708164	329883	4479801
3-metil-2,4-nonadiona	33360	78774	348980	415016	378765	249753	218703	97764	1821115
2,3,4-TCA	16787	17733	18079	13808	16758	11442	16657	17082	16043,25

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

<i>Metanol</i>	<i>Áreas de las Réplicas M2</i>								
Compuestos	M2-0,5	M2-1	M2-1,5	M2-2	M2-2,5	M2-3	M2-3,5	M2-4	SUMA
Isobutiraldehído	7791522	27331535	16851426	6372045	1754026	767525	565890	424012	61857981
2-metilbutanal	7450888	16109598	14400195	11364204	7587441	5549407	4850634	2565045	69877412
3-metilbutanal	6945387	10800305	9181055	6338301	2981701	1063078	367331	133938	37811096
3-metilbutanal 1	2940813	4827159	4227435	2832695	1279262	463588	165458	56295	16792705
3-metilbutanal 2	4004574	5973146	4953620	3505606	1702439	599490	201873	77643	21018391
(Z)-3-hexenal	721139	1311732	1141338	882314	552023	278242	117618	49870	5054276
(Z)-3-hexenal 1	554425	1068879	1008294	788078	489102	240174	100138	39371	4288461
(Z)-3-hexenal 2	166714	242853	133044	94236	62921	38068	17480	10499	765815
1-octen-3-ona	1034586	3767860	7718783	7530511	8503607	5197045	3314101	2110998	39177491
(E)-2-hexenal	1751530	6020839	11764380	15018009	15603397	14805794	12023831	9062510	86050290
(E,E)-2,4-hexadienal	4189886	8832744	18853596	29430737	34486775	34990357	28286418	21614443	180684956
(E,E)-2,4-hexadienal 1	3594646	5763746	10144128	16305890	19619967	20165818	16540053	12798415	104932663
(E,E)-2,4-hexadienal 2	595240	3068998	8709468	13124847	14866808	14824539	11746365	8816028	75752293
Metional	5725	1889	576	529	437	519	428	592	10695
Fenilacetaldéhído	1558152	2891046	3195047	2192821	2303822	2606192	2218723	1827019	18792822
(E)-2-nonenal	753445	1533848	4719680	5909524	17433573	13097463	13510970	20299869	77258372
(E)-2-nonenal 1	268956	595787	1945769	2507243	7109463	5351521	5332648	7510599	30621986
(E)-2-nonenal 2	484489	938061	2773911	3402281	10324110	7745942	8178322	12789270	46636386
(E,Z)-2,6-nonadienal	130684	351284	1650119	2968095	6278805	6687370	6999969	8867447	33933773
(E)-2-Decenal	837163	1151105	787001	582555	2740527	1661647	1843662	3464898	13068558
(E)-2-Decenal 1	373604	535601	355386	263858	1217929	736539	776612	1407384	5666913
(E)-2-Decenal 2	463559	615504	431615	318697	1522598	925108	1067050	2057514	7401645
(E,E)-2,4-Nonadienal	144233	291063	629467	742735	1799095	1807288	1971080	3175003	10559964
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	142297	288236	400191	388535	789245	757599	836496	1395901	4998500
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	1936	2827	229276	354200	1009850	1049689	1134584	1779102	5561464
(E,E)-2,4-Decadienal	8268	17832	170504	180051	682841	498332	571812	1202687	3332327
(Z)-1,5-octadien-3-ona	1092517	6127346	12472364	13583346	13763933	9948953	6482899	4046267	67517625
3-metil-2,4-nonadiona	664004	2012754	4000018	4622916	4027589	3005586	1764809	902379	21000055
2,3,4-TCA	319054	313905	361909	428657	452778	471014	465756	459320	409049,125

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

Etanol/Hexano 20%	Áreas de las Réplicas E/H 20%-A								
	Compuestos	E/H 20%-A-0,5	E/H 20%-A-1	E/H 20%-A-1,5	E/H 20%-A-2	E/H 20%-A-2,5	E/H 20%-A-3	E/H 20%-A-3,5	E/H 20%-A-4
Isobutiraldehído	154869	31683	5755	2670	938	1061	1426	2332	200734
2-metilbutanal 1	106758	21343	3144	1137	464	519	400	1210	134975
2-metilbutanal 2	522641	117518	9975	3358	1290	1683	622	1770	658857
3-metilbutanal1	385158	85451	10212	3764	1769	2188	1604	2693	492839
3-metilbutanal2	183383	38290	5963	2316	1000	961	975	1853	234741
(Z)-3-hexenal 1	167017	53668	6207	655	733	207	272	167	228926
(Z)-3-hexenal 2	95001	16269	5305	1398	345	64	218	134	118734
1-octen-3-ona 1	377403	119535	21789	631	248	782	200	672	521260
1-octen-3-ona 2	80021	54592	13128	154	129	6263	121	266	154674
(E)-2-hexenal 1	118561	148028	79726	3260	1141	676	124	446	351962
(E)-2-hexenal 2	190200	187753	77483	3055	613	181	217	197	459699
(E,E)-2,4-hexadienal 1	21393	111208	127475	55251	8299	1177	596	193	325592
(E,E)-2,4-hexadienal 2	29355	136619	141284	57007	7361	1064	468	104	373262
Metional 1	18813	27973	16340	19432	7475	6162	7754	7887	111836
Metional 2	8971	11084	8096	9342	5860	3465	6987	6491	60296
Fenilacetaldéhido	21675	25116	18942	9108	4327	2701	2646	2083	86598
(E)-2-nonenal 1	125178	289481	99108	6711	1787	752	640	795	524452
(E)-2-nonenal 2	79039	233105	89107	11316	4223	1577	1503	1779	421649
(E,Z)-2,6-nonadienal	7081	27541	15800	2274	377	187	166	127	53553
(E)-2-Decenal 1	51846	130690	53844	4869	1459	708	669	1204	245289
(E)-2-Decenal 2	31610	90818	43731	4870	1185	643	556	748	174161
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	24673	172789	167290	45410	14541	2782	1457	922	429864
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	22515	163772	150377	38477	11872	2246	1171	717	391147
(E,E)-2,4-Decadienal 1	22250	183437	173295	44104	13493	3052	1713	947	442291
(E,E)-2,4-Decadienal 2	22203	165416	151741	37574	11360	2639	1301	844	393078
(Z)-1,5-octadien-3-ona 1	38154	34359	10191	156	76	69	23	105	83133
(Z)-1,5-octadien-3-ona 2	31911	35164	8234	423					75732
3-metil-2,4-nonadiona 1	36820	112933	78227	34960	11605	2036	1433	1183	279197
3-metil-2,4-nonadiona 2	22886	72880	50599	21629	7110	779	365	865	177113
2,3,4-TCA	29508	34369	35702	54000	32466	31482	39249	26375	35393,87

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

Etanol/Hexano 20%	Áreas de las Réplicas E/H 20%-B								
Compuestos	E/H 20%-B-0,5	E/H 20%-B-1	E/H 20%-B-1,5	E/H 20%-B-2	E/H 20%-B- 2,5	E/H 20%-B-3	E/H 20%-B-3,5	E/H 20%-B-4	SUMA
Isobutiraldehído	238325	44120	7622	3953	1186	1697	10231	1035	308169
2-metilbutanal 1	128047	25684	3916	1815	1131	706	387	1855	163541
2-metilbutanal 2	603417	129456	12827	3557	1792	2127	449	334	753959
3-metilbutanal 1	420833	94850	11242	4253	1458	2763	980	857	537236
3-metilbutanal 2	212287	45475	6725	3176	1016	1880	546	866	271971
(Z)-3-hexenal 1	231751	65551	9177	176	190	98	100	146	307189
(Z)-3-hexenal 2	73616	17608	5454	1083	680	296	218	156	99111
1-octen-3-ona 1	344308	59619	13279	1607	930	125	785	548	421201
1-octen-3-ona 2	99975	34994	8218	862	525	175	797	105	145651
(E)-2-hexenal 1	154964	161859	55604	5913	1455	145	173	770	380883
(E)-2-hexenal 2	241153	208233	61252	4817	905	197	344	330	517231
(E,E)-2,4-hexadienal 1	32671	108333	117160	37903	11530	3433	1254	426	312710
(E,E)-2,4-hexadienal 2	38392	133620	130099	40633	12252	3341	1288	300	359925
Metional 1	8915	32103	18535	18875	12075	4502	3771	6909	105685
Metional 2	9490	17366	12999	14674	9909	3365	4856	4545	77204
Fenilacetaldéhido	12087	21153	16452	8562	4109	2949	2503	2404	70219
(E)-2-nonenal 1	191445	91693	99670	16121	3020	955	1072	89	404065
(E)-2-nonenal 2	116742	78256	82706	17062	4230	1089	2618	2607	305310
(E,Z)-2,6-nonadienal	12777	16146	15465	4374	2680	146	171	49	51808
(E)-2-Decenal 1	71914	28210	54229	11358	3146	925	1334	940	172056
(E)-2-Decenal 2	44764	17799	41703	9756	2592	840	921	1036	119411
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	46666	82799	151221	58231	23763	6222	3338	639	372879
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	41500	76706	135589	51230	19119	5009	2110	546	331809
(E,E)-2,4-Decadienal 1	39372	51227	156890	69226	28041	7015	4393	695	356859
(E,E)-2,4-Decadienal 2	37198	46415	135186	56211	21275	5673	3261	556	305775
(Z)-1,5-octadien-3-ona 1	48658	30720	7444	488	118	122	316	97	87963
(Z)-1,5-octadien-3-ona 2	40761	32913	9197	731					83602
3-metil-2,4-nonadiona 1	47887	89614	64304	28333	10632	3675	1484	531	246460
3-metil-2,4-nonadiona 2	31204	57959	42660	17347	5922	4078	932	190	160292
2,3,4-TCA	27261	40818	40689	33794	14893	33370	31566	32982	31921,62

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

Etanol/Hexano 40%	Áreas de las Réplicas E/H 40%-A								
	E/H 40%-A-0,5	E/H 40%-A-1	E/H 40%-A-1,5	E/H 40%-A-2	E/H 40%-A-2,5	E/H 40%-A-3	E/H 40%-A-3,5	E/H 40%-A-4	SUMA
Isobutiraldehído	1003516	26243	6530	1854	1022	477	870	56783	1097295
2-metilbutanal 1	466185	14692	4756	1068	627	673	629	35223	523853
2-metilbutanal 2	2109999	61132	14417	2133	1441	2054	1784	129475	2322435
3-metilbutanal 1	1476500	51105	13157	2045	1878	2387	2671	86233	1635976
3-metilbutanal 2	911160	27191	7423	1220	1304	1423	1695	45802	997218
(Z)-3-hexenal 1	705533	32167	5750	1036	320	1677	1983	38970	787436
(Z)-3-hexenal 2	181062	11145	3056	1931	598	107	141	14355	212395
1-octen-3-ona 1	871959	37191	6224	967	996	1779	5401	50273	974790
1-octen-3-ona 2	354717	22746	2907	429	504	1171	1339	26446	410259
(E)-2-hexenal 1	1058970	114426	18821	1163	353	1399	2076	109355	1306563
(E)-2-hexenal 2	1119848	141314	22626	1396	365	2219	3094	147462	1438324
(E,E)-2,4-hexadienal 1	333622	145842	74201	17595	1810	719	808	141492	716089
(E,E)-2,4-hexadienal 2	378560	162825	85249	19864	2101	865	875	162144	812483
Metional 1	9764	8170	8762	7310	3176	2951	4552	16341	61026
Metional 2	9393	3608	4648	4191	4022	1937	3240	8345	39384
Fenilacetaldéhído	58916	23809	13401	6515	2638	2160	2249	25486	135174
(E)-2-nonenal 1	953071	95246	28059	2410	1754	1663	2361	144078	1228642
(E)-2-nonenal 2	614967	75387	21610	2678	1411	1443	2150	107107	826753
(E,Z)-2,6-nonadienal	82391	16421	4852	286	115	49	246	18933	123293
(E)-2-Decenal 1	366377	39003	15352	2520	2285	1065	2051	61625	490278
(E)-2-Decenal 2	222200	28759	10600	1584	1095	700	1548	43106	309592
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	443094	141307	85575	13725	2232	1119	1404	170716	859172
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	418799	119223	77711	11735	1884	801	1338	157723	789214
(E,E)-2,4-Decadienal 1	390354	113495	83185	11952	2995	1328	1718	158059	763086
(E,E)-2,4-Decadienal 2	370866	93906	72922	10009	3084	1239	1978	139936	693940
(Z)-1,5-octadien-3-ona 1	190654	18665	2156	111	1	341	436	19796	232160
(Z)-1,5-octadien-3-ona 2	178738	22435	2770	129	13	189	473	21171	225918
3-metil-2,4-nonadiona 1	264894	112583	55935	20737	3069	2848	908	122260	583234
3-metil-2,4-nonadiona 2	175019	69319	36092	12963	968	476	1031	74322	370190
2,3,4-TCA	40221	29190	34406	30450	31777	31592	29757	39225	33327,25

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

Etanol/Hexano 40%	Áreas de las Réplicas E/H 40%-B								
	Compuestos	E/H 40%-B-0,5	E/H 40%-B-1	E/H 40%-B-1,5	E/H 40%-B-2	E/H 40%-B-2,5	E/H 40%-B-3	E/H 40%-B-3,5	E/H 40%-B-4
Isobutiraldehído	152484	36245	6258	3048	2684	1950	930	975	204574
2-metilbutanal 1	71638	16039	3322	1471	1004	802	546	467	95289
2-metilbutanal 2	328942	58964	7512	3491	2735	1923	844	467	404878
3-metilbutanal 1	250945	45343	8218	3541	2924	2604	1287	1410	316272
3-metilbutanal 2	123514	24034	5954	2396	2094	1603	957	1088	161640
(Z)-3-hexenal 1	162153	28518	5783	2651	295	1714	391	136	201641
(Z)-3-hexenal 2	47720	12844	3340	1692	377	225	205	741	67144
1-octen-3-ona 1	67336	40063	5601	2733	1773	1923	1051	1278	121758
1-octen-3-ona 2	34921	19379	2631	1459	989	938	732	876	61925
(E)-2-hexenal 1	169296	66199	11983	2710	1625	1840	938	1664	256255
(E)-2-hexenal 2	285312	88970	15179	3669	2223	2107	1275	986	399721
(E,E)-2,4-hexadienal 1	114422	97344	53281	12015	3567	971	491	411	282502
(E,E)-2,4-hexadienal 2	150508	111664	60766	13270	4120	1123	522	501	342474
Metional 1	12722	19844	10804	8806	10616	7451	4884	7257	82384
Metional 2	2820	9750	8219	5646	8823	6096	3377	5975	50706
Fenilacetaldéhído	34097	20720	10090	5327	3924	2709	2515	2286	81668
(E)-2-nonenal 1	54457	109765	15619	3944	2494	1900	1256	1394	190829
(E)-2-nonenal 2	34626	80864	14714	4417	1854	2422	109	3251	142257
(E,Z)-2,6-nonadienal	9582	13994	3392	231	161	208	76	14	27658
(E)-2-Decenal 1	14680	51226	10272	3596	1697	1316	799	1102	84688
(E)-2-Decenal 2	7541	34755	6399	1933	827	728	502	716	53401
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	43718	141789	52162	11375	2397	1037	681	740	253899
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	46115	127485	44773	9751	1900	1075	566	593	232258
(E,E)-2,4-Decadienal 1	22874	140891	49713	12070	2096	908	708	737	229997
(E,E)-2,4-Decadienal 2	24665	121261	41840	10173	1787	1068	877	696	202367
(Z)-1,5-octadien-3-ona 1	26172	13671	1766	420	170	325	157	125	42806
(Z)-1,5-octadien-3-ona 2	27788	14722	1947	403	220	367	112	109	45668
3-metil-2,4-nonadiona 1	144011	89128	39941	18185	10907	5229	1933	2447	311781
3-metil-2,4-nonadiona 2	84600	58752	25824	11506	6498	2275	466	827	190748
2,3,4-TCA	31434	35038	36456	31399	37410	31921	32665	30299	33327,75

Anexo 12: Porcentajes de las Áreas de los picos obtenidos para cada eluyente.

<i>EtOH/Agua</i>	Porcentajes Áreas de las Réplicas E1							
Compuestos	E1-0,5	E1-1	E1-1,5	E1-2	E1-2,5	E1-3	E1-3,5	E1-4
Isobutiraldehído	43	32	14	5	3	1	2	1
2-metilbutanal	36	46	8	3	3	1	1	1
3-metilbutanal 1	34	33	19	7	3	2	1	1
3-metilbutanal 2	34	32	18	7	4	2	2	1
(Z)-3-hexenal 1	33	29	19	8	5	3	2	1
(Z)-3-hexenal 2	16	42	20	10	6	3	1	1
1-octen-3-ona	15	23	29	14	7	5	5	2
(E)-2-hexenal	10	13	23	14	12	11	9	8
(E,E)-2,4-hexadienal 1	6	9	16	14	14	15	13	13
(E,E)-2,4-hexadienal 2	6	9	17	15	14	15	12	12
Metional	76	24	0	0	0	0	0	0
Fenilacetaldehído	16	19	18	11	10	9	8	9
(E)-2-nonenal 1	5	7	20	12	11	12	19	14
(E)-2-nonenal 2	5	6	17	13	12	14	17	15
(E,Z)-2,6-nonadienal	4	5	17	12	12	15	18	16
(E)-2-Decenal 1	3	4	20	11	7	12	23	20
(E)-2-Decenal 2	5	4	22	0	8	15	30	15
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	3	5	17	11	10	14	21	18
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	0	3	13	9	9	12	39	16
(E,E)-2,4-Decadienal	3	3	19	8	9	11	29	18
(Z)-1,5-octadien-3-ona	11	20	25	16	10	8	6	4
3-metil-2,4-nonadiona	14	23	23	13	9	8	5	4
2,3,4-TCA	84	101	97	94	105	107	105	107

<i>EtOH/Agua</i>	Porcentajes Áreas de las Réplicas E2							
Compuestos	E2-0,5	E2-1	E2-1,5	E2-2	E2-2,5	E2-3	E2-3,5	E2-4
Isobutiraldehído	10	47	27	12	3	1	0	1
2-metilbutanal	11	39	27	14	5	2	1	1
3-metilbutanal 1	14	34	26	15	6	3	1	1
3-metilbutanal 2	14	34	26	15	6	3	1	1
(Z)-3-hexenal 1	15	30	22	15	7	5	2	3
(Z)-3-hexenal 2	19	11	30	15	12	8	3	2
1-octen-3-ona	16	21	22	21	9	6	2	4
(E)-2-hexenal	15	14	16	16	13	12	6	8
(E,E)-2,4-hexadienal 1	13	10	12	14	15	16	10	10
(E,E)-2,4-hexadienal 2	15	11	13	14	14	15	8	10
Metional	29	37	1	31	1	0	1	0
Fenilacetaldehído	11	21	21	17	9	8	7	7
(E)-2-nonenal 1	8	8	10	16	21	10	12	15
(E)-2-nonenal 2	10	9	11	20	0	12	17	21
(E,Z)-2,6-nonadienal	11	8	10	14	14	14	13	15
(E)-2-Decenal 1	6	10	8	17	11	8	17	22
(E)-2-Decenal 2	5	8	7	17	11	8	19	25
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	8	8	9	13	13	13	17	19
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	8	8	9	13	13	13	16	19
(E,E)-2,4-Decadienal	6	7	7	13	12	11	20	24
(Z)-1,5-octadien-3-ona	17	17	19	19	11	8	3	5
3-metil-2,4-nonadiona	16	21	20	17	10	7	3	5
2,3,4-TCA	99	93	110	55	102	108	116	117

<i>Metanol</i>	Porcentajes Áreas de las Réplicas M1							
	Compuestos	M1-0,5	M1-1	M1-1,5	M1-2	M1-2,5	M1-3	M1-3,5
Isobutiraldehído	37	24	20	14	3	1	1	1
2-metilbutanal	14	18	20	19	12	7	7	4
3-metilbutanal 1	15	17	26	24	12	4	2	1
3-metilbutanal 2	14	19	27	24	11	3	2	1
(Z)-3-hexenal 1	10	10	24	25	17	8	5	2
(Z)-3-hexenal 2	27	13	16	15	15	8	4	2
1-octen-3-ona	1	3	21	18	18	16	16	7
(E)-2-hexenal	1	2	13	17	20	17	19	12
(E,E)-2,4-hexadienal 1	11	3	7	11	17	16	23	12
(E,E)-2,4-hexadienal 2	0	1	10	15	19	18	23	13
Metional	99	1	0	0	0	0	0	0
Fenilacetaldéhído	9	9	20	14	11	10	15	11
(E)-2-nonenal 1	3	1	7	5	7	17	33	28
(E)-2-nonenal 2	4	1	6	4	6	17	32	30
(E,Z)-2,6-nonadienal	1	0	6	6	10	17	32	27
(E)-2-Decenal 1	11	2	7	4	4	16	29	27
(E)-2-Decenal 2	16	2	7	4	4	15	26	26
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	2	2	8	7	7	16	31	27
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	2	1	6	5	7	16	33	29
(E,E)-2,4-Decadienal	8	1	8	5	5	15	30	28
(Z)-1,5-octadien-3-ona	1	3	18	21	20	15	16	7
3-metil-2,4-nonadiona	2	4	19	23	21	14	12	5
2,3,4-TCA	105	111	113	86	104	71	104	106

Metanol	Porcentajes Áreas de las Réplicas M2							
	Compuestos	M2-0,5	M2-1	M2-1,5	M2-2	M2-2,5	M2-3	M2-3,5
Isobutiraldehído	13	44	27	10	3	1	1	1
2-metilbutanal	11	23	21	16	11	8	7	4
3-metilbutanal 1	18	29	25	17	8	3	1	0
3-metilbutanal 2	19	28	24	17	8	3	1	0
(Z)-3-hexenal 1	13	25	24	18	11	6	2	1
(Z)-3-hexenal 2	22	32	17	12	8	5	2	1
1-octen-3-ona	3	10	20	19	22	13	8	5
(E)-2-hexenal	2	7	14	17	18	17	14	11
(E,E)-2,4-hexadienal 1	3	5	10	16	19	19	16	12
(E,E)-2,4-hexadienal 2	1	4	11	17	20	20	16	12
Metional	54	18	5	5	4	5	4	6
Fenilacetaldéhído	8	15	17	12	12	14	12	10
(E)-2-nonenal 1	1	2	6	8	23	17	17	25
(E)-2-nonenal 2	1	2	6	7	22	17	18	27
(E,Z)-2,6-nonadienal	0	1	5	9	19	20	21	26
(E)-2-Decenal 1	7	9	6	5	21	13	14	25
(E)-2-Decenal 2	6	8	6	4	21	12	14	28
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	3	6	8	8	16	15	17	28
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	0	0	4	6	18	19	20	32
(E,E)-2,4-Decadienal	0	1	5	5	20	15	17	36
(Z)-1,5-octadien-3-ona	2	9	18	20	20	15	10	6
3-metil-2,4-nonadiona	3	10	19	22	19	14	8	4
2,3,4-TCA	78	77	88	105	111	115	114	112

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

EtOH/ Hexano 20%	Porcentajes Áreas de las Réplicas E/H 20%-A							
	E/H 20%-A-0,5	E/H 20%-A-1	E/H 20%-A-1,5	E/H 20%-A-2	E/H 20%-A-2,5	E/H 20%-A-3	E/H 20%-A-3,5	E/H 20%-A-4
Isobutiraldehído	77	16	3	1	0	1	1	1
2-metilbutanal	79	17	2	1	0	0	0	1
3-metilbutanal 1	78	17	2	1	0	0	0	1
3-metilbutanal 2	78	16	3	1	0	0	0	1
(Z)-3-hexenal 1	73	23	3	0	0	0	0	0
(Z)-3-hexenal 2	80	14	4	1	0	0	0	0
1-octen-3-ona1	72	23	4	0	0	0	0	0
1-octen-3-ona2	52	35	8	0	0	4	0	0
(E)-2-hexenal 1	34	42	23	1	0	0	0	0
(E)-2-hexenal 2	41	41	17	1	0	0	0	0
(E,E)-2,4-hexadienal 1	7	34	39	17	3	0	0	0
(E,E)-2,4-hexadienal 2	8	37	38	15	2	0	0	0
Metional 1	17	25	15	17	7	6	7	7
Metional 2	15	18	13	15	10	6	12	11
Fenilacetaldehído	25	29	22	11	5	3	3	2
(E)-2-nonenal 1	24	55	19	1	0	0	0	0
(E)-2-nonenal 2	19	55	21	3	1	0	0	0
(E,Z)-2,6-nonadienal	13	51	30	4	1	0	0	0
(E)-2-Decenal 1	21	53	22	2	1	0	0	0
(E)-2-Decenal 2	18	52	25	3	1	0	0	0
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	6	40	39	11	3	1	0	0
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	6	42	38	10	3	1	0	0
(E,E)-2,4-Decadienal 1	5	41	39	10	3	1	0	0
(E,E)-2,4-Decadienal 2	6	42	39	10	3	1	0	0
(Z)-1,5-octadien-3-ona 1	46	41	12	0	0	0	0	0
(Z)-1,5-octadien-3-ona 2	42	46	11	1	0	0	0	0
3-metil-2,4-nonadiona 1	13	40	28	13	4	1	1	0
3-metil-2,4-nonadiona 2	13	41	29	12	4	0	0	0
2,3,4-TCA	83	97	101	153	92	89	111	75

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

Compuestos	Áreas de las Réplicas E/H 20%-B							
	E/H 20%-B-0,5	E/H 20%-B-1	E/H 20%-B-1,5	E/H 20%-B-2	E/H 20%-B-2,5	E/H 20%-B-3	E/H 20%-B-3,5	E/H 20%-B-4
Isobutiraldehído	77	14	2	1	0	1	3	0
2-metilbutanal	79	17	2	1	1	0	0	1
3-metilbutanal 1	78	18	2	1	0	1	0	0
3-metilbutanal 2	78	17	2	1	0	1	0	0
(Z)-3-hexenal 1	75	21	3	0	0	0	0	0
(Z)-3-hexenal 2	74	18	6	1	1	0	0	0
1-octen-3-ona 1	82	14	3	0	0	0	0	0
1-octen-3-ona 2	69	24	6	1	0	0	1	0
(E)-2-hexenal 1	41	42	15	2	0	0	0	0
(E)-2-hexenal 2	47	40	12	1	0	0	0	0
(E,E)-2,4-hexadienal 1	10	35	37	12	4	1	0	0
(E,E)-2,4-hexadienal 2	11	37	36	11	3	1	0	0
Metional 1	8	30	18	18	11	4	4	7
Metional 2	12	22	17	19	13	4	6	6
Fenilacetaldéhído	17	30	23	12	6	4	4	3
(E)-2-nonenal 1	47	23	25	4	1	0	0	0
(E)-2-nonenal 2	38	26	27	6	1	0	1	1
(E,Z)-2,6-nonadienal	25	31	30	8	5	0	0	0
(E)-2-Decenal 1	42	16	32	7	2	1	1	1
(E)-2-Decenal 2	37	15	35	8	2	1	1	1
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	13	22	41	16	6	2	1	0
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	13	23	41	15	6	2	1	0
(E,E)-2,4-Decadienal 1	11	14	44	19	8	2	1	0
(E,E)-2,4-Decadienal 2	12	15	44	18	7	2	1	0
(Z)-1,5-octadien-3-ona 1	55	35	8	1	0	0	0	0
(Z)-1,5-octadien-3-ona 2	49	39	11	1	0	0	0	0
3-metil-2,4-nonadiona 1	19	36	26	11	4	1	1	0
3-metil-2,4-nonadiona 2	19	36	27	11	4	3	1	0
2,3,4-TCA	85	128	127	106	47	105	99	103

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

EtOH/ Hexano 40%	Áreas de las Réplicas E/H 40%-A							
	E/H 40%-A-0,5	E/H 40%-A-1	E/H 40%-A-1,5	E/H 40%-A-2	E/H 40%-A-2,5	E/H 40%-A-3	E/H 40%-A-3,5	E/H 40%-A-4
Isobutiraldehído	91	2	1	0	0	0	0	5
2-metilbutanal	90	3	1	0	0	0	0	7
3-metilbutanal 1	90	3	1	0	0	0	0	5
3-metilbutanal 2	91	3	1	0	0	0	0	5
(Z)-3-hexenal 1	90	4	1	0	0	0	0	5
(Z)-3-hexenal 2	85	5	1	1	0	0	0	7
1-octen-3-ona 1	89	4	1	0	0	0	1	5
1-octen-3-ona 2	86	6	1	0	0	0	0	6
(E)-2-hexenal 1	81	9	1	0	0	0	0	8
(E)-2-hexenal 2	78	10	2	0	0	0	0	10
(E,E)-2,4-hexadienal 1	47	20	10	2	0	0	0	20
(E,E)-2,4-hexadienal 2	47	20	10	2	0	0	0	20
Metional 1	16	13	14	12	5	5	7	27
Metional 2	24	9	12	11	10	5	8	21
Fenilacetaldehído	44	18	10	5	2	2	2	19
(E)-2-nonenal 1	78	8	2	0	0	0	0	12
(E)-2-nonenal 2	74	9	3	0	0	0	0	13
(E,Z)-2,6-nonadienal	67	13	4	0	0	0	0	15
(E)-2-Decenal 1	75	8	3	1	0	0	0	13
(E)-2-Decenal 2	72	9	3	1	0	0	1	14
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	52	16	10	2	0	0	0	20
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	53	15	10	1	0	0	0	20
(E,E)-2,4-Decadienal 1	51	15	11	2	0	0	0	21
(E,E)-2,4-Decadienal 2	53	14	11	1	0	0	0	20
(Z)-1,5-octadien-3-ona 1	82	8	1	0	0	0	0	9
(Z)-1,5-octadien-3-ona 2	79	10	1	0	0	0	0	9
3-metil-2,4-nonadiona 1	45	19	10	4	1	0	0	21
3-metil-2,4-nonadiona 2	47	19	10	4	0	0	0	20
2,3,4-TCA	121	88	103	91	95	95	89	118

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

Compuestos	Áreas de las Réplicas E/H 40%-B							
	E/H 40%-B-0,5	E/H 40%-B-1	E/H 40%-B-1,5	E/H 40%-B-2	E/H 40%-B-2,5	E/H 40%-B-3	E/H 40%-B-3,5	E/H 40%-B-4
Isobutiraldehído	75	18	3	1	1	1	0	0
2-metilbutanal	78	16	3	2	1	1	1	0
3-metilbutanal 1	79	14	3	1	1	1	0	0
3-metilbutanal 2	76	15	4	1	1	1	1	1
(Z)-3-hexenal 1	80	14	3	1	0	1	0	0
(Z)-3-hexenal 2	71	19	5	3	1	0	0	1
1-octen-3-ona 1	55	33	5	2	1	2	1	1
1-octen-3-ona 2	56	31	4	2	2	2	1	1
(E)-2-hexenal 1	66	26	5	1	1	1	0	1
(E)-2-hexenal 2	71	22	4	1	1	1	0	0
(E,E)-2,4-hexadienal 1	41	34	19	4	1	0	0	0
(E,E)-2,4-hexadienal 2	44	33	18	4	1	0	0	0
Metional 1	15	24	13	11	13	9	6	9
Metional 2	6	19	16	11	17	12	7	12
Fenilacetaldéhído	42	25	12	7	5	3	3	3
(E)-2-nonenal 1	29	58	8	2	1	1	1	1
(E)-2-nonenal 2	24	57	10	3	1	2	0	2
(E,Z)-2,6-nonadienal	35	51	12	1	1	1	0	0
(E)-2-Decenal 1	17	60	12	4	2	2	1	1
(E)-2-Decenal 2	14	65	12	4	2	1	1	1
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	17	56	21	4	1	0	0	0
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	20	55	19	4	1	0	0	0
(E,E)-2,4-Decadienal 1	10	61	22	5	1	0	0	0
(E,E)-2,4-Decadienal 2	12	60	21	5	1	1	0	0
(Z)-1,5-octadien-3-ona 1	61	32	4	1	0	1	0	0
(Z)-1,5-octadien-3-ona 2	61	32	4	1	0	1	0	0
3-metil-2,4-nonadiona 1	46	29	13	6	3	2	1	1
3-metil-2,4-nonadiona 2	44	31	14	6	3	1	0	0
2,3,4-TCA	94	105	109	94	112	96	98	91

Anexo 13: Porcentajes de las Áreas y sus respectivas sumas para la obtención de las representaciones

Etanol									
Compuestos	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4
a) Isobutiraldehído	0	27	66	86	94	97	98	99	100
b) 2-Metilbutanal	0	24	66	84	93	97	98	99	100
c) 3-Metilbutanal	0	24	57	80	91	95	98	99	100
d) (Z)-3-Hexenal	0	23	52	74	86	92	97	98	100
e) 1-Octen-3-ona	0	15	37	63	80	88	94	97	100
f) (E)-2-Hexenal	0	12	26	46	61	73	84	92	100
g) (E,E)-2,4-Hexadienal	0	10	20	34	48	63	78	89	100
h) Metional	0	52	83	84	99	99	99	100	100
i) Fenilacetaldehído	0	13	33	53	67	76	85	92	100
j) (E)-2-Nonenal	0	7	15	29	45	55	67	83	100
k) (E,Z)-2,6-Nonadienal	0	7	14	28	41	54	68	84	100
m) (E)-2-Decenal	0	5	11	26	37	46	57	79	100
n) (E,E)-2,4-Nonadienal	0	5	10	22	33	44	57	82	100
ñ) (E,E)-2,4-Decadienal	0	4	9	22	33	43	54	79	100
o) (Z)-1,5-Octadien-3-ona	0	14	33	55	72	82	91	95	100
p) 3-Metil-2,4-nonadiona	0	15	37	59	74	84	91	96	100

Compuestos	Metanol								
	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4
a) Isobutiraldehído	0	25	59	82	95	98	99	99	100
b) 2-Metilbutanal	0	12	33	53	71	82	89	96	100
c) 3-Metilbutanal	0	16	40	65	85	95	98	100	100
d) (Z)-3-Hexenal	0	13	32	54	75	88	95	99	100
e) 1-Octen-3-ona	0	2	8	28	47	67	82	94	100
f) (E)-2-Hexenal	0	1	6	19	36	55	72	89	100
g) (E,E)-2,4-Hexadienal	0	4	8	17	32	50	68	88	100
h) Metional	0	76	85	88	91	93	95	97	100
i) Fenilacetaldehído	0	9	21	40	53	64	76	90	100
j) (E)-2-Nonenal	0	2	4	10	16	30	47	72	100
k) (E,Z)-2,6-Nonadienal	0	1	2	7	14	28	47	73	100
m) (E)-2-Decenal	0	10	16	22	26	39	53	73	100
n) (E,E)-2,4-Nonadienal	0	2	4	10	17	29	45	71	100
ñ) (E,E)-2,4-Decadienal	0	4	5	11	17	29	44	68	100
o) (Z)-1,5-Octadien-3-ona	0	1	7	25	46	66	81	93	100
p) 3-Metil-2,4-nonadiona	0	2	9	29	51	71	85	95	100

Compuestos	Etanol/Hexano 20%								
	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4
a) Isobutiraldehído	0	77	92	95	96	97	97	99	100
b) 2-Metilbutanal	0	80	97	98	99	99	100	100	100
c) 3-Metilbutanal	0	83	100	100	100	100	100	100	100
d) (Z)-3-Hexenal	0	82	100	100	100	100	100	100	100
e) 1-Octen-3-ona	0	67	88	92	93	93	93	94	94
f) (E)-2-Hexenal	0	43	85	100	100	100	100	100	100
g) (E,E)-2,4-Hexadienal	0	9	44	82	96	99	99	100	100
h) Metional	0	13	38	54	72	81	86	93	100
i) Fenilacetaldehído	0	19	49	72	83	88	92	95	98
j) (E)-2-Nonenal	0	27	67	89	93	94	94	94	95
k) (E,Z)-2,6-Nonadienal	0	19	60	90	96	99	99	99	100
m) (E)-2-Decenal	0	24	58	86	91	92	93	93	94
n) (E,E)-2,4-Nonadienal	0	8	40	80	93	97	98	99	99
ñ) (E,E)-2,4-Decadienal	0	7	35	77	91	97	98	99	99
o) (Z)-1,5-Octadien-3-ona	0	50	91	100	100	100	100	100	100
p) 3-Metil-2,4-nonadiona	0	17	55	83	94	98	100	100	100

Etanol/Hexano 40%									
Compuestos	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4
a) Isobutiraldehído	0	83	93	95	96	96	97	97	98
b) 2-Metilbutanal	0	85	94	96	96	97	97	97	97
c) 3-Metilbutanal	0	85	93	95	96	96	97	97	98
d) (Z)-3-Hexenal	0	83	93	95	96	97	97	97	97
e) 1-Octen-3-ona	0	72	90	93	94	95	96	97	98
f) (E)-2-Hexenal	0	74	91	94	94	94	95	95	96
g) (E,E)-2,4-Hexadienal	0	44	71	86	89	90	90	90	90
h) Metional	0	15	32	46	57	68	76	83	93
i) Fenilacetaldehído	0	43	64	75	81	84	87	89	92
j) (E)-2-Nonenal	0	52	84	90	91	92	93	93	95
k) (E,Z)-2,6-Nonadienal	0	51	83	91	91	92	92	92	92
m) (E)-2-Decenal	0	45	80	88	90	91	92	93	94
n) (E,E)-2,4-Nonadienal	0	35	71	86	89	89	90	90	90
ñ) (E,E)-2,4-Decadienal	0	32	69	85	88	89	89	90	90
o) (Z)-1,5-Octadien-3-ona	0	71	91	94	94	95	95	95	96
p) 3-Metil-2,4-nonadiona	0	46	70	81	86	88	89	89	90

Anexo 14: Relación entre las Áreas de los picos y la del Patrón Interno (2,3,4-TCA).

EtOH/Agua	Áreas de las Réplicas E1/Áreas TCA Réplicas E1							
	Compuestos	E1-0,5	E1-1	E1-1,5	E1-2	E1-2,5	E1-3	E1-3,5
Isobutiraldehído	295,8	180,2	83,1	27,4	15,2	4,1	9,3	5,3
2-metilbutanal	109,7	115,4	21,7	9,1	7,8	3,3	3,0	1,7
3-metilbutanal	218,7	172,5	102,8	41,2	18,0	8,6	7,5	4,1
3-metilbutanal 1	95,2	75,9	45,0	17,8	7,4	3,6	2,8	1,4
3-metilbutanal 2	123,5	96,7	57,8	23,4	10,5	5,0	4,6	2,7
(Z)-3-hexenal	25,7	21,1	13,6	6,3	3,2	2,2	1,1	0,7
(Z)-3-hexenal 1	24,1	17,6	11,9	5,4	2,7	1,9	1,0	0,6
(Z)-3-hexenal 2	1,6	3,5	1,8	0,9	0,5	0,3	0,1	0,1
1-octen-3-ona	66,9	87,4	112,5	54,8	25,9	19,3	17,4	7,3
(E)-2-hexenal	122,4	140,9	257,1	155,4	119,8	113,1	93,8	79,9
(E,E)-2,4-hexadienal	137,0	178,6	334,0	296,5	265,6	271,0	239,6	233,4
(E,E)-2,4-hexadienal 1	70,6	90,3	163,7	148,9	135,7	139,3	127,5	124,3
(E,E)-2,4-hexadienal 2	66,4	88,3	170,3	147,6	129,9	131,7	112,1	109,2
Metional	21,3	5,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Fenilacetaldehído	57,7	58,0	57,5	35,8	28,7	24,2	23,8	24,2
(E)-2-nonenal	135,0	139,0	411,6	291,8	239,8	261,2	376,6	294,1
(E)-2-nonenal 1	54,9	58,5	187,0	117,7	92,1	100,0	164,8	119,2
(E)-2-nonenal 2	80,2	80,5	224,6	174,1	147,7	161,1	211,9	174,9
(E,Z)-2,6-nonadienal	37,6	41,5	143,2	105,7	92,5	111,5	138,7	123,6
(E)-2-Decenal	41,6	34,7	186,7	43,4	60,8	106,8	217,4	134,0
(E)-2-Decenal 1	13,3	15,3	75,4	43,4	23,7	40,4	78,6	66,2
(E)-2-Decenal 2	28,3	19,4	111,3	0,0	37,1	66,4	138,8	67,8
(E,E)-2,4-Nonadienal	4,1	11,3	51,3	33,3	29,7	39,7	111,7	52,4
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	4,1	5,0	18,4	11,5	10,1	13,3	21,1	17,5
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	0,0	6,3	32,9	21,8	19,6	26,4	90,6	34,9
(E,E)-2,4-Decadienal	3,9	3,1	23,0	10,2	9,6	11,9	32,4	19,2
(Z)-1,5-octadien-3-ona	83,6	131,4	168,1	107,5	62,7	51,3	39,4	24,0
3-metil-2,4-nonadiona	44,5	62,7	65,5	38,1	23,5	19,2	13,8	10,7
2,3,4-TCA	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

EtOH/Agua	Áreas de las Réplicas E2/Áreas TCA Réplicas E2								
	Compuestos	E2-0,5	E2-1	E2-1,5	E2-2	E2-2,5	E2-3	E2-3,5	E2-4
Isobutiraldehído	12,8	65,3	32,5	27,9	3,4	1,4	0,4	0,7	
2-metilbutanal	7,2	26,2	15,8	16,6	3,0	1,2	0,3	0,5	
3-metilbutanal	14,1	35,4	23,0	27,0	5,4	2,7	0,6	1,1	
3-metilbutanal 1	6,5	16,3	10,5	12,3	2,5	1,3	0,3	0,5	
3-metilbutanal 2	7,6	19,1	12,5	14,7	2,9	1,4	0,3	0,6	
(Z)-3-hexenal	1,5	2,9	2,1	2,7	0,8	0,5	0,1	0,2	
(Z)-3-hexenal 1	1,3	2,7	1,7	2,3	0,6	0,4	0,1	0,2	
(Z)-3-hexenal 2	0,3	0,2	0,4	0,4	0,2	0,1	0,0	0,0	
1-octen-3-ona	13,4	19,0	16,9	32,9	7,5	4,7	1,5	2,6	
(E)-2-hexenal	51,6	52,0	49,6	100,5	42,0	36,8	17,4	23,4	
(E,E)-2,4-hexadienal	45,7	36,7	38,2	84,7	46,4	46,1	26,1	28,9	
(E,E)-2,4-hexadienal 1	23,9	19,4	20,4	47,6	26,9	26,5	15,4	15,8	
(E,E)-2,4-hexadienal 2	21,8	17,3	17,8	37,1	19,5	19,6	10,6	13,1	
Metional	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
Fenilacetaldéhído	5,0	10,4	8,9	14,5	4,1	3,6	2,7	2,9	
(E)-2-nonenal	38,7	39,8	39,7	140,4	36,0	43,3	54,5	67,2	
(E)-2-nonenal 1	15,0	15,8	15,4	51,7	35,7	15,7	17,9	22,5	
(E)-2-nonenal 2	23,7	24,0	24,3	88,7	0,3	27,6	36,6	44,7	
(E,Z)-2,6-nonadienal	12,9	10,2	11,2	30,7	16,4	14,8	13,5	15,6	
(E)-2-Decenal	5,9	9,8	7,2	33,3	11,4	8,0	16,7	22,0	
(E)-2-Decenal 1	2,4	4,1	3,0	12,6	4,3	3,0	5,8	7,6	
(E)-2-Decenal 2	3,5	5,7	4,2	20,7	7,1	5,0	10,9	14,4	
(E,E)-2,4-Nonadienal	3,4	3,6	3,3	9,6	5,3	4,9	5,8	6,7	
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	1,4	1,5	1,4	4,1	2,3	2,0	2,5	2,9	
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	2,0	2,0	1,8	5,4	3,0	2,9	3,3	3,8	
(E,E)-2,4-Decadienal	1,6	2,0	1,7	6,6	3,2	2,7	4,8	5,6	
(Z)-1,5-octadien-3-ona	24,3	26,6	25,3	48,8	15,1	11,0	4,1	6,3	
3-metil-2,4-nonadiona	7,7	10,8	8,8	14,4	4,6	3,3	1,2	1,9	
2,3,4-TCA	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

<i>Metanol</i>	Áreas de las Réplicas M1/Áreas TCA Réplicas M1								
	Compuestos	M1-0,5	M1-1	M1-1,5	M1-2	M1-2,5	M1-3	M1-3,5	M1-4
Isobutiraldehído	209,7	130,4	106,0	98,6	19,1	7,5	3,4	2,9	
2-metilbutanal	68,3	83,7	89,6	111,2	56,3	46,9	36,6	18,3	
3-metilbutanal	36,6	43,3	62,2	72,8	29,1	13,0	4,5	1,4	
3-metilbutanal 1	17,2	19,1	28,1	33,3	13,4	6,1	2,1	0,7	
3-metilbutanal 2	19,4	24,2	34,1	39,5	15,7	6,9	2,4	0,7	
(Z)-3-hexenal	3,0	2,3	4,9	6,7	3,9	2,6	1,2	0,4	
(Z)-3-hexenal 1	1,9	1,8	4,4	6,0	3,4	2,2	1,0	0,3	
(Z)-3-hexenal 2	1,0	0,5	0,6	0,7	0,6	0,5	0,1	0,1	
1-octen-3-ona	1,4	5,1	32,6	37,7	30,4	40,4	26,9	12,0	
(E)-2-hexenal	4,0	9,2	64,0	113,1	105,0	130,1	102,7	63,9	
(E,E)-2,4-hexadienal	38,2	10,6	45,7	88,9	104,8	146,3	134,9	72,7	
(E,E)-2,4-hexadienal 1	37,2	8,7	22,8	44,5	57,2	81,6	76,8	40,5	
(E,E)-2,4-hexadienal 2	1,0	1,9	22,8	44,5	47,6	64,6	58,1	32,1	
Metional	3,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
Fenilacetaldehído	6,4	6,1	12,9	11,5	7,4	10,4	10,6	7,3	
(E)-2-nonenal	13,3	1,8	21,3	19,0	21,5	88,8	114,8	102,0	
(E)-2-nonenal 1	4,0	0,7	8,6	7,7	9,2	35,7	47,0	39,3	
(E)-2-nonenal 2	9,3	1,0	12,7	11,3	12,4	53,1	67,8	62,7	
(E,Z)-2,6-nonadienal	1,5	0,4	5,7	7,5	10,1	27,0	34,1	28,5	
(E)-2-Decenal	9,5	1,5	4,6	3,1	2,7	15,5	18,5	17,9	
(E)-2-Decenal 1	3,1	0,6	1,8	1,2	1,1	6,3	8,0	7,4	
(E)-2-Decenal 2	6,4	0,9	2,8	1,9	1,6	9,2	10,5	10,5	
(E,E)-2,4-Nonadienal	0,6	0,4	1,8	1,9	2,0	6,6	9,1	7,8	
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	0,3	0,2	0,9	1,0	0,9	2,9	3,8	3,3	
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	0,3	0,2	0,9	0,9	1,1	3,7	5,3	4,5	
(E,E)-2,4-Decadienal	1,2	0,1	1,1	0,8	0,7	3,3	4,4	4,1	
(Z)-1,5-octadien-3-ona	1,5	6,5	45,0	67,8	53,9	56,8	42,5	19,3	
3-metil-2,4-nonadiona	2,0	4,4	19,3	30,1	22,6	21,8	13,1	5,7	
2,3,4-TCA	1	1	1	1	1	1	1	1	

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

Metanol	Áreas de las Réplicas M2/Áreas TCA Réplicas M2								
	Compuestos	M2-0,5	M2-1	M2-1,5	M2-2	M2-2,5	M2-3	M2-3,5	M2-4
Isobutiraldehído	24,4	87,1	46,6	14,9	3,9	1,6	1,2	0,9	
2-metilbutanal	23,4	51,3	39,8	26,5	16,8	11,8	10,4	5,6	
3-metilbutanal	21,8	34,4	25,4	14,8	6,6	2,3	0,8	0,3	
3-metilbutanal 1	9,2	15,4	11,7	6,6	2,8	1,0	0,4	0,1	
3-metilbutanal 2	12,6	19,0	13,7	8,2	3,8	1,3	0,4	0,2	
(Z)-3-hexenal	2,3	4,2	3,2	2,1	1,2	0,6	0,3	0,1	
(Z)-3-hexenal 1	1,7	3,4	2,8	1,8	1,1	0,5	0,2	0,1	
(Z)-3-hexenal 2	0,5	0,8	0,4	0,2	0,1	0,1	0,0	0,0	
1-octen-3-ona	3,2	12,0	21,3	17,6	18,8	11,0	7,1	4,6	
(E)-2-hexenal	5,5	19,2	32,5	35,0	34,5	31,4	25,8	19,7	
(E,E)-2,4-hexadienal	13,1	28,1	52,1	68,7	76,2	74,3	60,7	47,1	
(E,E)-2,4-hexadienal 1	11,3	18,4	28,0	38,0	43,3	42,8	35,5	27,9	
(E,E)-2,4-hexadienal 2	1,9	9,8	24,1	30,6	32,8	31,5	25,2	19,2	
Metional	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
Fenilacetaldéhído	4,9	9,2	8,8	5,1	5,1	5,5	4,8	4,0	
(E)-2-nonenal	2,4	4,9	13,0	13,8	38,5	27,8	29,0	44,2	
(E)-2-nonenal 1	0,8	1,9	5,4	5,8	15,7	11,4	11,4	16,4	
(E)-2-nonenal 2	1,5	3,0	7,7	7,9	22,8	16,4	17,6	27,8	
(E,Z)-2,6-nonadienal	0,4	1,1	4,6	6,9	13,9	14,2	15,0	19,3	
(E)-2-Decenal	2,6	3,7	2,2	1,4	6,1	3,5	4,0	7,5	
(E)-2-Decenal 1	1,2	1,7	1,0	0,6	2,7	1,6	1,7	3,1	
(E)-2-Decenal 2	1,5	2,0	1,2	0,7	3,4	2,0	2,3	4,5	
(E,E)-2,4-Nonadienal	0,5	0,9	1,7	1,7	4,0	3,8	4,2	6,9	
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	0,4	0,9	1,1	0,9	1,7	1,6	1,8	3,0	
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	0,0	0,0	0,6	0,8	2,2	2,2	2,4	3,9	
(E,E)-2,4-Decadienal	0,0	0,1	0,5	0,4	1,5	1,1	1,2	2,6	
(Z)-1,5-octadien-3-ona	3,4	19,5	34,5	31,7	30,4	21,1	13,9	8,8	
3-metil-2,4-nonadiona	2,1	6,4	11,1	10,8	8,9	6,4	3,8	2,0	
2,3,4-TCA	1	1	1	1	1	1	1	1	

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

EtOH/Hexano 20%	Áreas de las Réplicas E/H 20%-A/Áreas TCA Réplicas E-H 20%-A								
	Compuestos	E/H 20%-A-0,5	E/H 20%-A-1	E/H 20%-A-1,5	E/H 20%-A-2	E/H 20%-A-2,5	E/H 20%-A-3	E/H 20%-A-3,5	E/H 20%-A-4
Isobutiraldehído	5,2	0,9	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
2-metilbutanal 1	3,6	0,6	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2-metilbutanal 2	17,7	3,4	0,3	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1
3-metilbutanal 1	13,1	2,5	0,3	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1
3-metilbutanal 2	6,2	1,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
(Z)-3-hexenal 1	5,7	1,6	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
(Z)-3-hexenal 2	3,2	0,5	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1-octen-3-ona 1	12,8	3,5	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1-octen-3-ona 2	2,7	1,6	0,4	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0
(E)-2-hexenal 1	4,0	4,3	2,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
(E)-2-hexenal 2	6,4	5,5	2,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
(E,E)-2,4-hexadienal 1	0,7	3,2	3,6	1,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0
(E,E)-2,4-hexadienal 2	1,0	4,0	4,0	1,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
Metional 1	0,6	0,8	0,5	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3
Metional 2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2
Fenilacetaldehído	0,7	0,7	0,5	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
(E)-2-nonenal 1	4,2	8,4	2,8	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
(E)-2-nonenal 2	2,7	6,8	2,5	0,2	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1
(E,Z)-2,6-nonadienal	0,2	0,8	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
(E)-2-Decenal 1	1,8	3,8	1,5	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
(E)-2-Decenal 2	1,1	2,6	1,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	0,8	5,0	4,7	0,8	0,4	0,1	0,0	0,0	0,0
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	0,8	4,8	4,2	0,7	0,4	0,1	0,0	0,0	0,0
(E,E)-2,4-Decadienal 1	0,8	5,3	4,9	0,8	0,4	0,1	0,0	0,0	0,0
(E,E)-2,4-Decadienal 2	0,8	4,8	4,3	0,7	0,3	0,1	0,0	0,0	0,0
(Z)-1,5-octadien-3-ona 1	1,3	1,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
(Z)-1,5-octadien-3-ona 2	1,1	1,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3-metil-2,4-nonadiona	2,0	6,3	4,4	1,9	0,6	0,1	0,1	0,1	0,1
2,3,4-TCA	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

EtOH/Hexano 20%	Áreas de las Réplicas E/H 20%-B/Áreas TCA Réplicas E-H 20%-B								
	Compuestos	E/H 20%-B-0,5	E/H 20%-B-1	E/H 20%-B-1,5	E/H 20%-B-2	E/H 20%-B-2,5	E/H 20%-B-3	E/H 20%-B-3,5	E/H 20%-B-4
Isobutiraldehído	8,7	1,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,0
2-metilbutanal 1	4,7	0,6	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1
2-metilbutanal 2	22,1	3,2	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0
3-metilbutanal 1	15,4	2,3	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0
3-metilbutanal 2	7,8	1,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0
(Z)-3-hexenal 1	8,5	1,6	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
(Z)-3-hexenal 2	2,7	0,4	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1-octen-3-ona 1	12,6	1,5	0,3	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0
1-octen-3-ona 2	3,7	0,9	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
(E)-2-hexenal 1	5,7	4,0	1,4	0,2	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0
(E)-2-hexenal 2	8,8	5,1	1,5	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0
(E,E)-2,4-hexadienal 1	1,2	2,7	2,9	1,1	0,8	0,1	0,1	0,0	0,0
(E,E)-2,4-hexadienal 2	1,4	3,3	3,2	1,2	0,8	0,1	0,1	0,0	0,0
Metional 1	0,3	0,8	0,5	0,6	0,8	0,1	0,1	0,1	0,2
Metional 2	0,3	0,4	0,3	0,4	0,7	0,1	0,2	0,2	0,1
Fenilacetaldéhído	0,4	0,5	0,4	0,3	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1
(E)-2-nonenal 1	7,0	2,2	2,4	0,5	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
(E)-2-nonenal 2	4,3	1,9	2,0	0,5	0,3	0,0	0,1	0,1	0,1
(E,Z)-2,6-nonadienal	0,5	0,4	0,4	0,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
(E)-2-Decenal 1	2,6	0,7	1,3	0,3	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
(E)-2-Decenal 2	1,6	0,4	1,0	0,3	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	1,7	2,0	3,7	1,7	1,6	0,2	0,1	0,1	0,0
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	1,5	1,9	3,3	1,5	1,3	0,2	0,1	0,1	0,0
(E,E)-2,4-Decadienal 1	1,4	1,3	3,9	2,0	1,9	0,2	0,1	0,1	0,0
(E,E)-2,4-Decadienal 2	1,4	1,1	3,3	1,7	1,4	0,2	0,1	0,1	0,0
(Z)-1,5-octadien-3-ona 1	1,8	0,8	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
(Z)-1,5-octadien-3-ona 2	1,5	0,8	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3-metil-2,4-nonadiona	2,7	5,0	3,6	1,5	0,6	0,3	0,1	0,1	0,0
2,3,4-TCA	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

EtOH/Hexano 40%	Áreas de las Réplicas E/H 40%-A/Áreas TCA Réplicas E-H 40%-A								
	Compuestos	E/H 40%-A-0,5	E/H 40%-A-1	E/H 40%-A-1,5	E/H 40%-A-2	E/H 40%-A-2,5	E/H 40%-A-3	E/H 40%-A-3,5	E/H 40%-A-4
Isobutiraldehído	25,0	0,9	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	1,4
2-metilbutanal 1	11,6	0,5	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9
2-metilbutanal 2	52,5	2,1	0,4	0,1	0,0	0,0	0,1	0,1	3,3
3-metilbutanal 1	36,7	1,8	0,4	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	2,2
3-metilbutanal 2	22,7	0,9	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	1,2
(Z)-3-hexenal 1	17,5	1,1	0,2	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	1,0
(Z)-3-hexenal 2	4,5	0,4	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4
1-octen-3-ona 1	21,7	1,3	0,2	0,0	0,0	0,0	0,1	0,2	1,3
1-Octen-3-ona 2	8,8	0,8	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7
(E)-2-hexenal 1	26,3	3,9	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	2,8
(E)-2-hexenal 2	27,8	4,8	0,7	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	3,8
(E,E)-2,4-hexadienal 1	8,3	5,0	2,2	0,6	0,1	0,0	0,0	0,0	3,6
(E,E)-2,4-hexadienal 2	9,4	5,6	2,5	0,7	0,1	0,0	0,0	0,0	4,1
Metional 1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,4
Metional 2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
Fenilacetaldehído	1,5	0,8	0,4	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,6
(E)-2-nonenal 1	23,7	3,3	0,8	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	3,7
(E)-2-nonenal 2	15,3	2,6	0,6	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	2,7
(E,Z)-2,6-nonadienal	2,0	0,6	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5
(E)-2-Decenal 1	9,1	1,3	0,4	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	1,6
(E)-2-Decenal 2	5,5	1,0	0,3	0,1	0,0	0,0	0,0	0,1	1,1
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	11,0	4,8	2,5	0,5	0,1	0,0	0,0	0,0	4,4
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	10,4	4,1	2,3	0,4	0,1	0,0	0,0	0,0	4,0
(E,E)-2,4-Decadienal 1	9,7	3,9	2,4	0,4	0,1	0,0	0,0	0,1	4,0
(E,E)-2,4-Decadienal 2	9,2	3,2	2,1	0,3	0,1	0,0	0,0	0,1	3,6
(Z)-1,5-octadien-3-ona 1	4,7	0,6	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5
(Z)-1,5-octadien-3-ona 2	4,4	0,8	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5
3-metil-2,4-nonadiona 1	6,6	2,8	1,4	0,5	0,1	0,1	0,1	0,0	3,0
3-metil-2,4-nonadiona 2	4,4	2,4	1,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	1,9
2,3,4-TCA	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Desarrollo y aplicación de un método de análisis para la determinación de compuestos carbonílicos en vino.

EtOH/Hexano 40%	Áreas de las Réplicas E/H 40%-B/Áreas TCA Réplicas E-H 40%-B							
	Compuestos	E/H 40%-B-0,5	E/H 40%-B-1	E/H 40%-B-1,5	E/H 40%-B-2	E/H 40%-B-2,5	E/H 40%-B-3	E/H 40%-B-3,5
Isobutiraldehído	4,9	1,0	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0
2-metilbutanal 1	2,3	0,5	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2-metilbutanal 2	10,5	1,7	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0
3-metilbutanal 1	8,0	1,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0
3-metilbutanal 2	3,9	0,7	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0
(Z)-3-hexenal 1	5,2	0,8	0,2	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0
(Z)-3-hexenal 2	1,5	0,4	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
1-octen-3-ona 1	2,1	1,1	0,2	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0
1-octen-3-ona 2	1,1	0,6	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
(E)-2-hexenal 1	5,4	1,9	0,3	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1
(E)-2-hexenal 2	9,1	2,5	0,4	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0
(E,E)-2,4-hexadienal 1	3,6	2,8	1,5	0,4	0,1	0,0	0,0	0,0
(E,E)-2,4-hexadienal 2	4,8	3,2	1,7	0,4	0,1	0,0	0,0	0,0
Metional 1	0,4	0,6	0,3	0,3	0,3	0,2	0,1	0,2
Metional 2	0,1	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2
Fenilacetaldehído	1,1	0,6	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
(E)-2-nonenal 1	1,7	3,1	0,4	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0
(E)-2-nonenal 2	1,1	2,3	0,4	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1
(E,Z)-2,6-nonadienal	0,3	0,4	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
(E)-2-Decenal 1	0,5	1,5	0,3	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
(E)-2-Decenal 2	0,2	1,0	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
(E,E)-2,4-Nonadienal 1	1,4	4,0	1,4	0,4	0,1	0,0	0,0	0,0
(E,E)-2,4-Nonadienal 2	1,5	3,6	1,2	0,3	0,1	0,0	0,0	0,0
(E,E)-2,4-Decadienal 1	0,7	4,0	1,4	0,4	0,1	0,0	0,0	0,0
(E,E)-2,4-Decadienal 2	0,8	3,5	1,1	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0
(Z)-1,5-octadien-3-ona 1	0,8	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
(Z)-1,5-octadien-3-ona 2	0,9	0,4	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3-metil-2,4-nonadiona 1	3,6	2,2	1,0	0,5	0,3	0,1	0,0	0,1
3-metil-2,4-nonadiona 2	2,7	1,7	0,7	0,4	0,2	0,1	0,0	0,0
2,3,4-TCA	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0