

Índice

1. ESTADO ACTUAL DEL ANÁLISIS DE ESPECIACIÓN EN ESPAÑA

Junta Coordinadora del Grupo de Especiación Analítica:

M^a M. Gómez, I. Rodríguez, M. Montes, A. de Diego, F. López y D. Sánchez-Rodas

2. EL RETO DEL ANÁLISIS DEL AROMA DE LOS VINOS

J. F. Cacho

BOLETÍN

de la SOCIEDAD ESPAÑOLA de QUÍMICA ANALÍTICA

Publicación trimestral de la SEQA

<http://www.seqa.es>

1. ESTADO ACTUAL DEL ANÁLISIS DE ESPECIACIÓN EN ESPAÑA

Junta Coordinadora del Grupo de Especiación Analítica:

M^a Milagros Gómez, Isaac Rodríguez, María Montes, Alberto de Diego, Fermín López y Daniel Sánchez-Rodas.

De todos es conocida la enorme importancia del análisis de especiación en la caracterización y determinación de las formas químicas de un elemento, y como medio de llegar al conocimiento de factores tan importantes de metales y metaloides como son su toxicidad, valor nutricional, biodisponibilidad o actividad biológica entre otros. Las propiedades físico-químicas de estos elementos dependen de la especie presente y regularán su transporte, intercambio y destino en el medio ambiente. Cada vez es más reconocido que los estudios avanzados de especiación poseen un carácter multidisciplinar donde intervienen, y se benefician de la información obtenida, expertos de áreas tan diversas como química analítica (QA), medio ambiente, geoquímica, química clínica, bioquímica, biología, toxicología, entre otras.

En este artículo se muestra una panorámica del trabajo realizado en el área de la especiación analítica en España en los últimos cinco años. La información se ha agrupado por temas de interés, haciendo hincapié en los aspectos más avanzados de la QA. Esta revisión no tiene carácter exhaustivo, dado que el espacio disponible es limitado, por lo que se han incluido únicamente los temas más representativos. Es posible que algunas líneas de investigación merecedoras de aparecer en estas páginas no hayan sido incluidas, por lo que pedimos disculpas por anticipado a los autores implicados.

I. Métodos de tratamiento de la muestra

Se ha trabajado en el desarrollo de métodos de extracción de las especies asistidos con diferentes tipos de interacción, radiación microondas, agitación con ultrasonidos, alta presión, etc., buscando en todo momento la extracción selectiva de las especies pero conservando las especies químicas originales.

Extracción con ultrasonidos: La extracción con ultrasonidos es desde hace años uno de los procedimientos más empleados en los estudios de especiación y se sigue utilizando de manera habitual para la determinación de compuestos organoarsenicales en muestras biológicas de origen terrestre y marino, empleándose como extractantes mezclas de metanol y agua. Además de los clásicos baños de ultrasonidos, se emplean también las sondas de ultrasonidos, que permiten focalizar la energía en un espacio reducido, acortándose el tiempo de extracción. También puede verse una tendencia en su utilización para la determinación de metales en

los esquemas de extracción secuencial, sustituyendo a la agitación mecánica y reduciéndose el tiempo de extracción de horas a minutos. Las posibilidades que ofrece la extracción con ultrasonidos en distintos tipos de muestras han sido revisadas recientemente.

Extracción asistida con microondas: El uso de radiación microondas es un procedimiento que se aplica habitualmente en los estudios de especiación, debido principalmente al corto tiempo de extracción (<10 minutos). Al igual que en el caso anterior, se emplean tanto microondas convenciones como microondas focalizadas. Este método de extracción se ha validado mediante el análisis de materiales de referencia. Se ha empleado recientemente en la determinación de metilmercurio (MeHg) en sedimentos, arsénico en muestras biológicas, marinas y suelos, y organoestánicos en material biológico marino.

Tratamientos enzimáticos: Su uso no está tan extendido en comparación con la energía de ultrasonidos o microondas, ya que en general los tiempos de extracción suelen ser largos (varias horas) y se precisa control de la temperatura para la digestión de la muestra. Suele aplicarse a muestras complejas, de origen biológico, como en la especiación de arsénico en alimentos infantiles digeridos con tripsina y pancreatina. También se han empleado proteasas y lipasas para la hidrólisis y extracción de selenoaminoácidos en muestras de marisco. La elección de la enzima empleada es crítica, ya que puede influir en la posterior separación cromatográfica de los analitos, por lo que a veces es necesario incluir etapas de eliminación de interferentes de la matriz. Cabe destacar el desarrollo de un procedimiento que combina tratamiento enzimático con sonda de ultrasonidos focalizada a temperatura ambiente durante pocos segundos para la extracción de selenometionina en muestras de levadura.

Extracción acelerada con disolventes (ASE): Sus aplicaciones han sido revisadas recientemente, tanto en sus modos de funcionamiento dinámico como estático. Su uso no está todavía muy extendido en los estudios de especiación, quizás debido a que los disolventes que se pueden emplear no pueden ser muy enérgicos (pHs ácidos o altas concentraciones de sales) y a que normalmente son necesarios varios ciclos de extracción, lo que prolonga el tiempo de operación. Se ha utilizado para la extracción de butilestaño en un material de referencia, y

se ha comparado su eficacia con la de otras técnicas de extracción (agitación manual, ultrasonidos y microondas). De manera general se han comparado las prestaciones del ASE con las de otros procedimientos más clásicos para compuestos organometálicos.

Microextracción en fase sólida (SPME): Durante los últimos años la SPME ha sido aplicada a la determinación de compuestos organometálicos volátiles, o convertibles en especies poco polares y volátiles, previamente a su separación mediante cromatografía de gases (GC). El mayor número de publicaciones se centra en la especiación de Se y Hg, seguido a continuación por el Sn. En general las primeras aplicaciones se desarrollaron para muestras acuosas, aprovechando el poder de preconcentración de las fibras para alcanzar límites de detección a nivel de los ng/l. A partir de ese momento, la técnica se extrapoló al análisis de extractos de sedimentos y materiales biológicos. El tipo de fibra a utilizar depende de las características de los analitos, así en el caso de compuestos orgánicos de Sn y Hg, en la mayoría de los trabajos se usan fibras de polidimetilsiloxano (PDMS). Para selenio, algunas aplicaciones se centran en la utilización de fibras de CAR (Carbowax)-PDMS para la determinación de compuestos volátiles, tales como dimetilselenio y dimetildiselenio, sintetizados por plantas y levaduras que han sido cultivadas en presencia de selenio inorgánico. Además se ha utilizado el SPME para la determinación de selenoaminoácidos previamente derivatizados con alquilcloroformatos. En la determinación de compuestos de azufre, se ha considerado la utilización de fibras de poliacrilato (PA) y fibras mixtas (tipo PDMS-divinilbenceno (DVB)-CAR) como alternativas al PDMS. La detección de las especies concentradas sobre la fibra suele llevarse a cabo utilizando detectores de tipo selectivo, ej. FPD, MIP-AED ó ICP-MS, acoplados a GC, aunque también se ha descrito la utilización de detectores universales (FID) para la determinación de organoestánicos en muestras de sedimentos. También se ha propuesto la desorción directa de la fibra de SPME tanto en la antorcha de un ICP-MS para la determinación de compuestos de selenio, como en un tubo de cuarzo usado como cámara de atomización en AAS para la determinación de MeHg⁺, sin proceder a una etapa previa de separación cromatográfica.

Extracción en fase sólida (SPE): La utilización de la SPE como método de preconcentración de la muestra, para la determinación de compuestos organometálicos mediante GC se ha visto relegada a un segundo plano desde la aparición

de la SPME. No obstante, la técnica se sigue utilizando para la preconcentración de compuestos de Hg y Sn en muestras acuosas cuando se procede a su determinación mediante HPLC. Una ventaja adicional de esta técnica sobre la SPME, es la posibilidad de preconcentrar de manera selectiva elementos en diferentes estados de oxidación en base a su distinta capacidad para formar complejos neutros con distintos agentes quelatantes. A continuación, estos complejos se concentran sobre materiales en fase reversa. Por otro lado, la utilización de adsorbentes con carácter de intercambiadores iónicos resulta imprescindible en los procesos de extracción y purificación de especies iónicas. Además se ha descrito la combinación de materiales de tipo intercambiador y de fase reversa para la preconcentración simultánea de especies iónicas y apolares de selenio en muestras de agua.

Pervaporación (PV): Otra aproximación en estudios de especiación es el acoplamiento de sistemas de pervaporación con detectores de espectroscopia atómica. Se ha descrito la combinación con un sistema FIA y fluorescencia atómica (AFS) para la especiación de arsénico en muestras acuosas con partículas en suspensión, o la combinación con AAS para la especiación de Hg tanto en muestras sólidas como líquidas.

Ultrafiltración: Se ha empleado junto con HPLC para estudiar la especiación de aluminio en suero tras la administración de deferoxamina con la que forma complejos fácilmente eliminables mediante diálisis. Se observa que se dializan otras especies diferentes del complejo con deferoxamina con pesos moleculares del orden de 1 a 5 kDa.

II. Tendencias Instrumentales en especiación

Cromatografía de gases (GC) con detectores selectivos: La utilización de la cromatografía de gases con detectores atómicos (AAS, AED o ICP-MS) como técnica de especiación está limitada a compuestos volátiles y poco polares (o fácilmente convertibles en especies con estas propiedades) de, entre otros, Sn, Hg, Se, Pb, Tl y Mn además de un número relativamente elevado de compuestos orgánicos de azufre. Una de las tendencias más recientes apunta hacia el uso de columnas multicapilares de reducida longitud para completar las separaciones cromatográficas en un tiempo normalmente inferior a 2-3 min. Estas

columnas operan a flujos de gas portador muy elevados (hasta 200 ml/min) y resultan fácilmente combinables con detectores de espectrometría atómica, aunque no pueden conectarse con espectrómetros de masas usando ionización química o impacto electrónico. Cabe destacar que debido a que el flujo de gas portador en el portal de inyección es superior al utilizado con columnas capilares convencionales con inyección en modo splitless, el tiempo de desorción es de sólo unos segundos, alargando de esta manera la vida útil de las fibras. El mayor número de trabajos realizados se centra en la utilización de GC-ICP-MS, debido seguramente a la relativa novedad de las interfases con GC, a su excelente sensibilidad y selectividad, así como a su carácter de detector multielemental, le sigue la GC-MS y la GC-MIP-AED.

Cromatografía de Líquidos (HPLC)-ICP-MS y ESI-MS. La creciente necesidad de obtener información, no sólo de los metales y/o metaloides asociados a biomoléculas (información obtenida mediante técnicas híbridas) sino de la especie en concreto de la que se trata, ha impulsado el empleo de técnicas de Espectrometría de Masas estructural con fuentes de ionización como el Electrospray (ESI) o el Láser Asistido por Matriz (MALDI). El Electrospray, asistido (ion spray) o no por nebulización, es la fuente de ionización más suave de las empleadas en Espectrometría de Masas permitiendo una mínima fragmentación de las moléculas y ha sido utilizada ampliamente para el análisis tanto de pequeños aminoácidos como de péptidos y proteínas en proteómica clásica. Por otro lado, la fuente MALDI tiene la ventaja de producir en su mayor parte especies monocargadas, lo que simplifica notablemente la interpretación de los espectros de masas y permite el estudio de proteínas intactas de pesos moleculares de hasta 100 kDa. Cada vez son más numerosas las publicaciones dedicadas a la especiación de biomoléculas que incorporan una parte dedicada a la determinación estructural del compuesto en el que determinado metal/metaloide está formando parte, de forma complementaria a la información proporcionada mediante técnicas híbridas. Por lo general, la mayor parte de estos estudios se han llevado a cabo utilizando el ESI como fuente de iones, puesto que se trata de una técnica que se puede acoplar *on-line* con las separaciones cromatográficas si fuera preciso.

Elucidación de pequeños metabolitos del Selenio y Arsénico: Mediante el uso complementario de ICP-MS y ESI-MS (con espectrómetro de Cuadrupolo (Q)-Tiempo de Vuelo (TOF)) ha sido posible elucidar la estructura

del metabolito mayoritario del Se en orina de rata suplementada con Se (IV). Para ello ha sido necesario el uso de cromatografías complementarias (exclusión por tamaños (SEC) seguida de cambio aniónico) después de la limpieza de las muestras utilizando la extracción con éteres corona. Una metodología similar se ha empleado para determinar la estructura de pequeños metabolitos del Se en plantas acumuladoras. En este caso, la utilización (por separado) de dos cromatografías complementarias como la fase reversa con pares iónicos y el intercambio catiónico junto con el empleo del ESI-Q-TOF (MS y MS/MS) han permitido caracterizar la Se-metilselenometionina como la especie del Se mas abundante en las raíces de *Brassica juncea* expuesta a Se-metionina. De forma similar, se ha llevado a cabo la identificación del arsenoazúcar 2 en muestras de ostras de la costa atlántica de España. Aunque en este caso los efectos de matriz en el sistema LC-MS fueron importantes, estos pudieron minimizarse llevando a cabo la limpieza de los extractos mediante cromatografía de exclusión por tamaños y cambio aniónico antes del LC-MS.

Polipéptidos y proteínas: Una instrumentación similar se ha empleado en el caso de la identificación de "fitoquelatinas", polipéptidos quelantes sintetizados por plantas expuestas a la contaminación de metales y/o metaloides. Estos polímeros de glutation (tripéptido de ácido glutámico, cisteína y glicina) ligan metales como Cd y metaloides como el As formando complejos cuyo peso molecular puede llegar a los 3000 Da. La posibilidad de emplear plantas como remediadoras de la contaminación metálica de los suelos (fitoremediación) ha impulsado el desarrollo de metodologías para el estudio de dichos complejos empleando la SEC seguida del recogido y preconcentración de las fracciones de interés para su posterior análisis por ESI-Q-TOF. Asimismo, tanto el MALDI-TOF como el ESI-Q-TOF se han utilizado en la elucidación de proteínas con Se en levaduras enriquecidas en dicho elemento. Como en casos anteriores se han empleado cromatografías complementarias, en primer lugar SEC-ICP-MS para la separación de las especies de alto peso molecular que contienen Se, seguida de la digestión triptica de dichas fracciones y fase reversa (RP-ICP-MS) para la separación de los Se-peptidos originados. Dichos Se-peptidos se analizan paralelamente mediante MALDI-TOF (donde se observa el ión +1 y el patrón de abundancias isotópicas

del Se) y por ESI-Q-TOF (para poder llevar a cabo el MS/MS de los fragmentos).

Electroforesis Capilar (CE)-ICP/MS: Se ha trabajado en el estudio de diferentes interfaces basadas en nebulizadores Mehinhard, Babinton, MicroMist, y de alta eficiencia (HEN), siendo estos últimos los que proporcionan mejores eficiencias, así como en el acoplamiento con un sistema generador de hidruros para el análisis de especies volátiles tras sufrir reducción con borohidruro sódico. También se ha trabajado en el desarrollo de métodos de preconcentración basados en el apilamiento de muestra (*sample stacking*) para mejorar los límites de detección. Dentro de estos estudios se ha abordado la especiación de metalotioneinas de Cd, Cu y Zn en hígado de pescado, de metalotioneinas de Cd en citosoles hepatopancreáticos de moluscos, de Hg en materiales biológicos, y el análisis de enantiómeros de selometionina en levaduras suplementadas con Se.

III. Principales muestras estudiadas

Tejidos biológicos y alimentos: Probablemente la línea de trabajo que más resultados ha generado es la de la determinación de especies de arsénico en peces, moluscos y crustáceos. Algunos trabajos se limitan a distinguir entre As(III) y As(V), pero la mayoría incluyen otras especies de indudable interés como los ácidos monometilarsónico (MMA) y dimetilarsínico (DMA), arsenobetaina (AsB) y/o arsenocolina (AsC) También se han determinado alguna de estas especies en alimentos infantiles manufacturados, cerveza, huevos y vegetales variados. Asimismo, se ha estudiado la absorción del suelo y posterior acumulación de especies de arsénico en diversos tipos de plantas. Otra línea en la que se ha trabajado intensamente corresponde a la especiación de mercurio en pescado. Las especies más representativas son mercurio inorgánico, MeHg y dimetilmercurio (Me₂Hg). Se han investigado específicamente las etapas de secado de muestra y extracción y se han desarrollado métodos de análisis, combinando técnicas de separación con detectores selectivos, como GC-MIP-AED, CE-HG-ICP-MS o GC-AFS (en pelo humano) o esquemas de reducción selectiva para diferenciar entre Hg²⁺ y mercurio total, por una parte y Hg²⁺ y MeHg por otra en mejillones, pelo humano y estiércol. En lo que se refiere a la especiación de estaño, se han realizado estudios sobre estabilidad de tributil (TBT) y trifeníl estaño (TPHT) en ostras, berberechos, sedimentos y agua marina, sobre la asimilación y posteriores vías de eliminación de TBT por parte de almejas.

Asimismo, se han desarrollado métodos analíticos para la determinación de mono, di, tri, butil y fenil estaño en moluscos, sedimentos y agua y se ha monitorizado la concentración de estas especies en este tipo de muestras de la costa sudoeste española. La especiación de selenio en levadura, mostaza y ajo, así como en atún y mejillón también ha sido objeto de estudio. Mención especial merece el capítulo dedicado a la proteica, campo en el cuál se han publicado un número considerable de artículos, tanto artículos de revisión general, como estudios específicos sobre diversos metales unidos a proteínas tipo metalotioneina de hepatopancreas de mejillón e hígado de anguila o conejo, utilizando diversas técnicas de espectrometría de masas. También se ha publicado un trabajo sobre especiación de cadmio unido a metalotioneinas de hígado de peces.

Sedimentos, suelos y lodos residuales: Las investigaciones se centran en la etapa de preparación de la muestra, la estabilidad de los compuestos o el empleo de dilución isotópica. La mayoría de los estudios en sedimentos se han realizado sobre estaño, así se ha descrito la determinación de mono, di y tri metil, butil y/o fenil estaño utilizando diversas técnicas combinadas. La concentración de algunos de estos contaminantes se ha monitorizado en sedimentos y lodos residuales. Se han desarrollado métodos para la determinación de alguna de estas especies mediante PV y GC con detección fotométrica de llama (PV-GC-FPD), GC-MIP-AED, SPME-GC-MS o HPLC con detección fluorimétrica. También se ha descrito un método para la medida de estaño orgánico total por GFAAS. Se han revisado los diferentes tipos de detectores utilizados en especiación de organoestánicos HPLC. Se ha trabajado en esquemas de especiación simultánea de estaño y plomo en sedimentos y en la determinación de organoplúmbicos en partículas atmosféricas. Se han comparado las técnicas (HPLC-HG-AFS vs. HPLC-HG-ICP-MS) para la especiación de arsénico en muestras medioambientales, se ha estudiado específicamente la etapa de extracción de especies de arsénico de sedimentos ricos en óxido de hierro, así como la diferenciación entre As(III) y As(V) haciendo uso de la generación selectiva de hidruros y se han propuesto métodos para la medida de arsénico inorgánico, así como de arsenito, arsenato y metilarsénicos en suelos. Además, se han publicado una serie de artículos sobre

diversos aspectos relacionados con la especiación de selenio y mercurio en sedimentos y de mercurio en suelos contaminados.

IV. Especiación miscelánea

En lo relativo a la especiación de enantiómeros de Se ha trabajado básicamente con selenoaminoácidos, estudiándose tanto los acoplamientos de técnicas de separación capaces de resolver especies enantioméricas con ICP-MS, como la posibilidad de realizar la separación con y sin derivatización previa. En estos estudios la muestra objetivo ha sido levadura enriquecida en selenio, y se han podido resolver los enantiómeros de la selenometionina y de la selenoetionina. Otra línea de trabajo ha sido la especiación de Ca y Zn en soluciones nutritivas conteniendo caseína, glucosa y fructosa para determinar su biodisponibilidad mediante ensayos tanto *in vitro* como *in vivo*, observándose que el pretratamiento de los alimentos puede modificar la asimilación de estos elementos, lo que puede ser crítico en dietas deficientes en los mismos. Entre otros estudios que se están realizando, mencionar el desarrollo de polímeros de impresión molecular para el aislamiento, preconcentración y especiación de compuestos organoestánicos, y su aplicación a aguas, biota y sedimentos. En cuanto al empleo de membranas en sistemas acuáticos, mencionar el desarrollo de sistemas de muestreo pasivo para la monitorización de compuestos organomercurícos y organoestánicos en aguas. En estos sistemas la acumulación responde a un proceso de difusión pasiva, por lo que la masa de organometálicos acumulada en la membrana receptora informa de la concentración media de las especies en el agua para tiempos de exposición prolongados. También se han empleado membranas líquidas en estudios de especiación de cromo y de lantánidos, basándose en los diferentes coeficientes de permeación que presentan las distintas especies en solución.

V. Dilución isotópica

Uno de los problemas que se plantea en los estudios de especiación (al igual que en otras áreas de la QA) es la falta de seguridad en la exactitud y trazabilidad del proceso analítico global. En este sentido la técnica de dilución isotópica se está empleando en estudios de especiación, aunque aún a pequeña escala, para la detección de posibles transformaciones de especies que pudieran acaecer durante el análisis. Se observan dos modalidades, adicionar las especies enriquecidas en un isótopo o adicionar los isótopos metálicos *on-line* a continuación de una determinada separación, normalmente por HPLC. Recientemente, en los estudios de certificación de nuevos materiales de

referencia de estaño y mercurio se han utilizado técnicas de dilución isotópica con detección por ICP-MS. A priori, la única limitación dentro de esta segunda tendencia se centra en la disponibilidad de analitos marcados isotópicamente, en España se han sintetizado patrones para Cr y organoestánicos enriquecidos en distintos isótopos estables de Sn.

VI. Algunas estadísticas.

La importancia actual de este área de la QA queda patente a la vista del elevado número de publicaciones, alrededor de 500 por año. La contribución de España a esta producción científica es importante, en torno a 160 artículos en los cinco últimos años, lo que nos sitúa en un 6.5% anual. Cabe destacar que alrededor del 85% de las publicaciones pertenecen a revistas del área de QA y afines

con un elevado índice de impacto (primer tercio de las tablas del SCI). Asimismo, en un tercio de las publicaciones se emplea el ICP-MS como técnica de análisis. Resaltar que en la gran mayoría de las universidades españolas hay grupos dedicados a la especiación, lo que muestra que no se trata de una actividad minoritaria con una gran producción científica, sino de un campo de estudio muy extendido en la QA española. Si bien, hay un amplio campo de estudio en áreas como la metalómica, donde se precisa de la estrecha colaboración de expertos en QA, bioquímica, medicina, etc.; así como el empleo de instrumentación muy avanzada (MALDI-TOF, ESI-MS, etc.).

NOTA: El trabajo con las citas bibliográficas incluidas se puede solicitar en mmgomez@quim.ucm.es

2. EL RETO DEL ANÁLISIS DEL AROMA DE LOS VINOS

Juan F. Cacho

Departamento de Química Analítica. Laboratorio de Análisis del Aroma y Enología. Facultad de Ciencias. Instituto de investigación I3A. Universidad de Zaragoza

El desarrollo del Análisis Instrumental y su posterior popularización ha hecho que numerosos grupos de investigación dediquen sus esfuerzos a conocer la composición de los vinos.

La irrupción de la cromatografía en fase gas, los avances en la construcción de columnas capilares con fases estacionarias ligadas de polaridades muy diversas y el empleo de detectores sensibles y específicos, principalmente el de Espectrometría de Masas, ha permitido aumentar, de día en día, la lista de compuestos volátiles identificados en los vinos. De esta forma a los alcoholes, ácidos, ésteres, etc. identificados por procedimientos clásicos y con contenidos de porcentajes se fueron añadiendo otras familias de compuestos como los terpenoles (1956) y las metoxipiracinas (1975) de forma que ya en 1979 había 600 componentes volátiles descritos. Este número llegaba a 800 en 1989 y desde esa fecha la cifra ha seguido creciendo por lo que se puede concluir que a día de hoy el número será cercano a 900. Evidentemente las concentraciones a las que se hallan los últimos compuestos identificados son de trazas y únicamente se han podido identificar tras tediosos trabajos de aislamiento y preconcentración. Por tanto en el vino coexisten sustancias volátiles a niveles de porcentajes, denominados componentes mayoritarios, con otras a nivel de nanogramos

por litro denominados componentes minoritarios.

En el trabajo cromatográfico, como sabemos, el grado de separación entre dos sustancias se expresa como resolución y se acepta que una resolución unidad corresponde a dos sustancias perfectamente separadas, es decir, que abandonan la columna cromatográfica una inmediatamente después de la otra. La capacidad de una columna cromatográfica de separar sustancias se expresa por el número de platos teóricos que proporciona. Una columna capilar moderna proporciona algo más de 100.000 platos teóricos. Puede parecer que con semejante número de platos el problema de la separación de los componentes volátiles del vino estaría resuelto. Sin embargo no es así. Giddings, el introductor de las columnas capilares, calculó que harían falta alrededor de 500 millones de platos teóricos para separar 100 componentes de una mezcla con una resolución de 0,99.

¿Qué significa esto en el caso del análisis de los compuestos volátiles del vino? Sencillamente que multitud de sustancias coeluyen de la columna cromatográfica. Si coeluyen compuestos mayoritarios con compuestos traza y se está llevando a cabo el análisis de los mayoritarios, esta coelución no tiene importancia ya que el aumento del área de un pico mayoritario por la presencia de un traza es despreciable. Sin embargo lo contrario invalida el análisis de la traza y para eliminar esta interferencia es