



DETERMINACIÓN VOLTAMPEROMÉTRICA DE ACIDO CITRICO EN VINOS

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Curso: 2019/2020

Alumno: DIEGO EDUARDO SALGADO VIZCAINO

Tutor: DANIEL SANCHO RINCON

Máster en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos
E.T.S. Ingenierías Agrarias, Campus de la Yutera (Palencia) Universidad de Valladolid

Resumen

A nivel mundial el potencial productivo vitícola se mantiene estable durante los últimos años, presentando un mínimo descenso en el consumo de vino, a pesar de este dato; España se mantiene a la cabeza de su producción y consumo.

El motivo por el cual España se encuentra a la cabeza de este rango se debe a la búsqueda constante de un producto de calidad, el cual ha seguido en ascenso los últimos años. El ácido cítrico es uno de los principales aditivos utilizados en la producción del vino el cual ayuda como estabilizante del mosto y del vino, captura el hierro para que no exista precipitaciones y brinda frescura y dulzor.

Es por ello que se busca nuevas técnicas de análisis, las cuales permitan identificar la presencia de este aditivo y a pesar que son varios los métodos analíticos como: ensayos enzimáticos, cromatográficos los cuales logran obtener un buen resultado en la cuantificación del analito, con la voltamperometría se busca un nuevo método analítico que ayude a una determinación más rápida y más útil para el vino y otras bebidas.

Palabras claves: vino, producción, calidad, ácido cítrico, método analítico, voltamperometría.

Abstract

Globally, the wine production potential remains stable during the last years, showing a minimum decrease in the consumption of wine, despite this data; Spain remain at the forefront of its production and consumption.

The reason why Spain is at the head of this range is due to the constant search for a quality product, which has continued to rise in recent years. Citric acid is one of the main additives used in the production of wine which helps stabilize must and wine, captures iron so that there is no precipitation and provides freshness and sweetness.

That is why we look for new analysis techniques, which allow us to identify the presence of this additive and although there are several analytical methods such as: enzymatic, chromatographic tests which achieve a good result in the quantification of the analyte, with voltammetry A new analytical method is sought to help a faster and more useful determination for wine and other beverages.

Keywords: wine, production, quality, citric acid, analytical method, voltammetry.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	4
2. OBJETIVOS.....	5
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	5
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	5
FUNCIONALIDAD DEL ÁCIDO CÍTRICO EN EL VINO.....	5
DETERMINACIÓN DE ÁCIDO CÍTRICO EN BEBIDAS.....	6
DETERMINACIÓN DE ÁCIDO CÍTRICO EN VINO.....	9
VOLTAMPEROMETRÍA.....	11
DETERMINACIÓN DE ÁCIDO CÍTRICO EN BEBIDAS NO ALCOHOLICAS POR VOLTAMPEROMETRÍA.....	14
DETERMINACIÓN DE ÁCIDO CÍTRICO EN BEBIDAS ALCOHOLICAS POR VOLTAMPEROMETRÍA.....	14
METODOS OFICIALES PARA LA DETERMINACION DE ACIDO CITRICO EN EL VINO.....	16
DETERMINACION DE ÁCIDO CÍTRICO EN VINO POR VOLTAMPEROMETRÍA...18	
5. CONCLUSIÓN.....	19
6. AGRADECIMIENTOS.....	20
7. BIBLIOGRAFÍA.....	21

1. INTRODUCCIÓN

El vino, desde la antigüedad viene siendo una de las bebidas alcohólicas más importantes y cotizadas por la sociedad, su valor se debe a sus distintas cualidades funcionales, como a lo que implica su consumo social.

A nivel mundial el potencial productivo vitícola se mantiene estable durante los últimos años desde el 2013, presentando un mínimo descenso en el consumo de vino durante el 2018, a pesar de este dato España se mantiene a la cabeza de su producción y consumo.[1]

La calidad de los vinos viene asociada a su producción. Siendo muy importante los tiempos, los ingredientes y aditivos utilizados para obtener un producto que sea del gusto del consumidor, entre los más importantes tenemos a los correctores de acidez, los cuales son polifuncionales.

El ácido cítrico es un componente natural de muchas plantas, tejidos animales y fluidos fisiológicos, la obtención de ácido cítrico es a partir de frutas con más del 1% (en peso seco), son: limones 4.0–8.0%, pomelos 1.2–2.1%, naranjas, mandarinas, frambuesas y las fresas las cuales contienen ácido cítrico en el rango de 0.6–1.3% [2].

No obstante, se observó que era más rentable producir ácido cítrico a partir de la fermentación de microorganismos [3], hasta la fecha esta técnica se ha convertido en el método preferido para su producción comercial por sus ventajas económicas.

Bennett y Yuill [4] en 1935 establecieron la estructura cristalina del ácido cítrico anhidro, la cual fue refinada por Nordman [5] y Glusker [6] con una indicación del enlace de hidrógeno en el cristal. La estructura cristalina del ácido cítrico monohidratado, fue descubierta por Burns e Iball [7] y Roelofsen y Kanters [8]. De acuerdo a Nordman y col. [5]

El ácido cítrico en el vino inhibe la oxidación, la evolución del color del pálido a el dorado y asegura su transparencia.[9] así mismo este aditivo captura el hierro para que no existan precipitaciones. Las concentraciones de ácido cítrico en el vino no son mayores a 0,5 g/L ya que la legislación española y la de la CEE, no permiten cantidades superiores a un gramo de ácido cítrico por litro de vino. [10]

2. OBJETIVOS

Determinar la eficacia y funcionalidad de las técnicas voltamperométricas para la determinación de ácido cítrico en el vino.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

El siguiente trabajo es una revisión bibliográfica, estructurado gracias a un conjunto de bases de datos con la finalidad de tener información científica actualizada y de calidad.

- Google académico
- Web of Science
- Dialnet
- SciELO
- Scopus

Así mismo consta varios criterios de inclusión como:

- Artículos referentes a distintos métodos de análisis de ácido cítrico tanto en bebidas como en el vino
- Artículos en inglés y castellano siendo el primero el predominante en número de referencias.
-

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

FUNCIONALIDAD DEL ÁCIDO CÍTRICO EN EL VINO

El ácido cítrico (E-330) es una sustancia perfectamente soluble en los vinos [11] y muy importante debido a su polifuncionalidad.

Una de sus principales funciones es formar complejos naturales con el Fe (III), ayudando a secuestrar una cierta cantidad del hierro contenido en el vino previniendo la turbidez.

Así mismo cumple la función de acidificante corrigiendo la acidez en el mosto y el vino, además posee una acción antioxidante.

Otra de las funciones del ácido cítrico en el vino es la prevención del enturbiamiento de origen químico, generado por la reacción de las sales de hierro presentes en el vino con taninos y ácidos naturales. La quiebra férrica es una alteración de vinos aireados

Determinación voltamperométrica de ácido cítrico en vino

Master en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos

con alto contenido de Fe, en este punto el hierro forma compuestos insolubles los cuales precipitan en la botella de vino formando un sedimento blanquecino (vinos blancos) o azulado (vinos tintos), aunque hoy en día se ha convertido en algo raro e inusual. Es por esto que se utiliza al ácido cítrico como un estabilizante antes del embotellado.

La quiebra férrica se presenta tanto en vinos blancos como en vinos tintos, dándonos cuenta que un vino es propenso o no a la quiebra mediante la realización de una prueba de estabilidad:

La prueba consiste en someter al vino a condiciones extremas de: temperatura, humedad y luminosidad, según la quiebra de la que se trate. El motivo está en someter al vino a condiciones a las cuales nunca estará expuesto en la realidad. De esta forma, si resiste, podríamos confirmar que el vino posee cierta estabilidad frente a determinadas quiebras.

Otra prueba consiste en llenar media botella de color blanco con vino, sobre el que se ensaya, consiguiendo una importante aireación. A la botella se la coloca en el centro de un refrigerador completamente oscuro. Transcurridas 48 horas, los vinos más propensos realizarán la quiebra férrica, mientras que, si la muestra permanece limpia, el ensayo es negativo.

El problema ocurre cuando el vino contiene oxígeno disuelto, cambiando así a un medio con cierta capacidad oxidativa. Entonces, el ión ferroso (Fe^{2+}) se oxida pasando a la forma ión férrico (Fe^{3+}) que es insoluble. [12]

El tratamiento con ácido cítrico se fundamenta en la captura del Fe^{3+} del vino procediéndose citrato férrico soluble, lo cual impide la quiebra del vino.

DETERMINACIÓN DE ÁCIDO CÍTRICO EN BEBIDAS

La necesidad de buscar un producto de calidad ha impulsado que la industria alimentaria busque la forma de determinar ciertas sustancias de forma cuantitativa como cualitativa. La concentración de ácidos orgánicos en el vino puede ser un parámetro de interés y significativo que afecte a las características sensoriales del producto.

Determinación voltamperométrica de ácido cítrico en vino **Master en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos**

El método de cromatografía líquida de alta resolución (CLAE) y detección UV a 210 nm propuesto por Correa & Rivera en 2017, en el que se llevó a cabo la determinación de ácidos orgánicos, entre estos el ácido cítrico, en refrescos de fruta comercial. El método empleado fue simple y apropiado para la separación y cuantificación presentado una excelente linealidad entre el ácido cítrico y el ascórbico. [13]

Restuccia & Spizzirri en el 2017, determinaron los ácidos orgánicos de diferentes jugos de frutas como pera, naranja, durazno, mora y manzana, utilizando un método de cromatografía líquida con detector de dispersión de luz por evaporación. El método fue utilizado y validado en comparación con cromatografía líquida - UV, obteniendo los resultados en tiempo reducido con el ácido cítrico, como ácido predominante en todos los jugos. [14]

Un estudio diferente realizado por Monakhova & Randel en el 2016 mediante la técnica de espectroscopia RMN, que se basa en una rutina desarrollada de servicio espectral se concentra en identificar varios analitos, entre estos el ácido cítrico en un extracto de aloe vera. La metodología propuesta fue automatizada, lo que incluye fases, corrección de línea de base, integración, cuantificación e informes. El método de RMN se aplicó a 41 preparaciones en forma de jugo líquido. [15]

Mientras que Mato & Huidobro en el 2006, con la ayuda de la técnica de electroforesis capilar rápida se pueden determinar los ácidos orgánicos, entre ellos el ácido cítrico en distintas bebidas alcohólicas y no alcohólicas para determinar si se puede utilizar este método como tratamiento diario. El método propuesto es rápido porque el tiempo de separación disminuye dos, cuatro o incluso seis veces los tiempos de separación de los métodos CZE. También es simple y barato, debido al bajo consumo de productos químicos y muestras. Estas razones permiten que se considere adecuado para el análisis de rutina de ácidos orgánicos en muestras de bebidas. [16]

Gonçalves Tania (2009) realizó un estudio de análisis semicuantitativo en bebidas alcohólicas y no alcohólicas de compuestos orgánicos y dos acidificantes (ácido cítrico y ácido málico), utilizando como método analítico la lengua electrónica compuesta por dos sistemas multisensoriales, con cuarenta membranas poliméricas sensibilizadas. El estudio se centró en diferenciar cuatro grupos de refrescos con diferentes concentraciones de zumos, a pesar de que la lengua electrónica sirvió de manera útil para el resto de analitos, con el ácido cítrico el análisis no fue satisfactorio ya que no

se obtuvo suficiente información. [17]

Beullens.K, Mészáros, P (2007) realizaron un estudio en el cual se evaluó el potencial de dos tipos de lenguas electrónicas como técnica rápida para analizar el sabor del zumo de tomate, el estudio pretende encontrar las diferencias con un grupo de jueces entrenados, basándose en la diferencia de dulzura y acidez. Para lograr un grado de aceptabilidad mejor, se realizaron análisis de concentración de azúcares y ácidos orgánicos, entre estos el ácido cítrico; utilizando herramientas estadísticas de análisis multivariante, como análisis de componentes principales (PCA), análisis discriminativo canónico (CDA) y regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS). [18]

Álvarez. A, Jorrat. S & Genta. M (2005), implementaron parámetros de caracterización, que permita asegurar la genuinidad de la producción de jugos. El objetivo de este estudio fue determinar varios parámetros entre estos el ácido cítrico. La metodología analítica utilizada en Official Methods of AOAC “método químico”, para la determinación de acidez se realizó una titulación potenciométrica, utilizando un pHmetro ORION 420A (AOAC). Se peso aproximadamente 2 g de jugo concentrado en un vaso de precipitados, luego se diluyó con agua destilada y se titulo con NaOH 1N hasta pH= 8,1. Se expresa la determinación en porcentaje en peso ácido cítrico anhidrido. Los resultados obtenidos en jugos fueron referidos a un jugo específico como estándar para realizar comparaciones. [19]

Además del método HPLC se a utilizado un método enzimático para la determinación de ácidos orgánicos. Estos métodos también podrían usarse para evaluar la autenticidad, deterioro o el contenido de micronutrientes en los jugos. Dogaru. D, e.l en el 2009, realizaron un estudio con el propósito de separar, identificar y cuantificar ácidos orgánicos comunes en una variedad de jugos y bebidas usando RP-HPLC y pruebas enzimáticas, que identificaran compuestos no solo por sus tiempos de retención sino también por sus espectros individuales [20]

Lima. J, & a.l (1999) desarrollaron un sistema de análisis de inyección de flujo (FIA) con detección potenciométrica para la determinación de ácido cítrico en jugo de frutas comerciales utilizando un electrodo tubular selectivo de cobre. El metodo consiste en la formación de iones citrato con iones de cobre (II), monitoreando la concentración de cobre libre (II) obteniendo una relación lineal entre la potencial y las concentraciones logarítmicas del ácido cítrico. Los resultados proporcionados por un sistema automatizado se compararon con los de un método enzimático convencional utilizado

para el análisis de ácido cítrico en los alimentos. [21]

En las bebidas son muchos los métodos utilizados para la determinación de ácido cítrico, en especial no se enfocan solamente en este analito, sino en todos los ácidos orgánicos, entre los cuales el ácido cítrico es el ácido predominante en cada uno de los trabajos investigativos.

DETERMINACIÓN DE ÁCIDO CÍTRICO EN VINO

Para la determinación de ácidos orgánicos en especial el ácido cítrico, muy a menudo se utiliza técnicas cromatográficas, como la cromatografía de alta resolución [22-24], cromatografía de gases [25-26] o cromatografía iónica [27]. A pesar de que se tiene constancia del uso de estas técnicas, se han venido presentando en los últimos años ciertas limitaciones como el tiempo y el uso único para ácidos orgánicos volátiles.

Es así como en los últimos años la electroforesis capilar se ha aplicado para la determinación de ácidos orgánicos, ofreciendo análisis más rápidos, con una resolución eficiente con los analitos [28-32] y excelente para el análisis de ácido cítrico en el vino, además la electroforesis capilar acoplada a la espectrometría de masa permite identificar de forma directa el analito. [33-35]

Entre los métodos en que no es necesario un pre-tratamiento, está la espectrometría de masas por ionización con electro-aspersión por infusión directa [36]. Proceso de dilución y filtración con diferentes tipos de filtros (HA, PTFE, nylon y PP).

Sanchez & a.l en el 2008, realizó un estudio experimental para la calibración y validación de ácido cítrico y tartárico utilizando la técnica de espectrofotometría UV-visible, normal y derivada, en vinos y varios productos, llegando a identificar al ácido cítrico como un analito fácil de localizar. [37]

Petropulos & a.l, en el 2018 llevaron a cabo un estudio en dieciséis tipos de muestra de vino macedonio Vranec. Para el cual se diseñó un método rápido y simple con CZE acoplado a ESI / QTOF-MS el cual fue optimizado y validado para la determinación cuantitativa de ácidos orgánicos, entre estos el ácido cítrico, El método mostró características de rendimiento satisfactorias; buena linealidad para cada ácido orgánico. [38]

Determinación voltamperométrica de ácido cítrico en vino **Master en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos**

Otro estudio realizado por Rovio & Siren en el 2011 se encargó de evaluar las posibles diferencias químicas entre seis tipos de vinos con distinto origen geográfico utilizando la electroforesis capilar para determinar los ácidos orgánicos de cada vino.[39]

Siguiendo con la electroforesis capilar pero esta vez utilizando un electrolito portador a base de fosfato y detección directa por UV, Castineira & a.l, en el 2002, determinaron los cinco ácidos orgánicos principales del vino, entre estos el ácido cítrico, permitiendo su cuantificación. El método se demostró con éxito por la factibilidad que este presenta. [40]

Por otra parte, Regmi & a.l. en el año de 2012 utilizaron FT-IR con mínimo cuadrados parciales (PLS) para establecer un modelo de calibrado en el ácido cítrico en vinos. Este método se comparó con los resultados del método HPLC para la determinación de los ácidos orgánicos, llegando a la conclusión de que la calibración y validación del método de espectroscopia FT-IR depende de en gran medida de la composición del conjunto de la muestra y de la calidad del análisis de referencia. [41]

Un estudio realizado por Tasev. K & a.l (2016) se optimizo y valido un método de extracción en fase solida seguido de cromatografía líquida de alto rendimiento en fase inversa (RP-HPLC) para la determinación cuantitativa de ácido cítrico en el vino. La extracción en fase solida se realizó con cartuchos de C18 y se obtuvieron recuperaciones de extracción para todos los ácidos. La separación por HPLC se realizó con elución isocrática en una columna LiChrosorb RP-18 (250x 4,6 mm de diámetro interno, 5µm) protegida con la columna de protección apropiada. La fase móvil era una solución 5mM de H₃PO₄ con pH 2,1 a una velocidad de flujo de 1ml/min. La detección de ácidos orgánicos se realizó a 210nm. El método se validó verificando su linealidad, límite de detección (LOD), límite de cuantificación (LOQ), precisión y recuperación. El estudio se lo realizo a vinos tintos y blancos. [42]

Siguiendo con los métodos cromatográficos de alta rendimiento (HPLC), Lima. L, & e.l en el 2010 estudiaron un método de optimización y validación para la determinación de ácidos orgánicos en vino por sus principales comportamientos responsables de la acidez del vino. Este método para la determinación simultanea de ácidos orgánicos y picos de interferencia en vinos se puede lograr en 16 min. La muestra precedida por un paso de dilución y filtración. La separación cromatográfica requirió una columna de fase inversa, fase móvil isocrática (acetonitrila, ácido fórmico en agua) y la longitud de

Determinación voltamperométrica de ácido cítrico en vino **Master en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos**

onda de detección se ajustó a 212nm. La validación confirmó una buena repetibilidad, recuperación tanto en los vinos tintos y blancos. [43]

Así mismo, se revisaron los métodos disponibles para la determinación de ácidos orgánicos en vino. Los métodos analíticos informados para la determinación de estos ácidos son principalmente cromatográficos y enzimáticos [44]

A través de un método enzimático se realizó un estudio colaborativo para la determinación del ácido cítrico en el vino. Henniger. G, & Mascaró. L, en 1985, utilizaron las enzimas citrato liasa, malato deshidrogenasa y la coenzima nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato para el respectivo análisis. El estudio fue realizado por dieciocho laboratorios con cuatro duplicados ciegos en vino comercial. El método fue simple y muestra precisión. [45]

En definitiva, la eficacia de un método u otro va a depender de una serie de factores. Uno de los más importantes a la hora de seleccionar el método a utilizar, es tener en cuenta una serie de parámetros como las características del analito, el propósito del análisis, la matriz y los recursos analíticos disponibles. [46]

VOLTAMPEROMETRÍA

La voltamperometría es una serie de técnicas electroquímicas que se fundamenta en la relación entre la intensidad de corriente y el voltaje aplicado en la celda [47]. La voltamperometría es una técnica de análisis que informa del tipo y la cantidad de sustancias contenidas en una muestra disuelta, basándose para ello en la relación de corriente y tensión [48], determinando la información de un analito o de una especie química. La cual se originó a través de la constante búsqueda para la mejora de la polarografía.

La voltamperometría y la polarografía comprenden un grupo de técnicas electroquímicas que se basan en la respuesta corriente-potencial de un electrodo durante un proceso electroquímico. Un diagrama de la corriente en función del potencial aplicado se llama voltamperograma el cual es el equivalente electroquímico de un espectro en espectroscopia, proporcionando la información cuantitativa y cualitativa sobre la especie implicada en la relación oxidación o de reducción. [49]

Las ventajas más destacables de la voltamperometría son su alta precisión y

Determinación voltamperométrica de ácido cítrico en vino **Master en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos**

sensibilidad, la posibilidad de realizar análisis de especiación, así como su relación precio/rendimiento. [46]

La voltamperometría incluye todos los métodos en el cual la medición de potencial de la corriente esta hecho en un electrodo fijo y estacionario. Esto incluye el electrodo de gota Colgate (HMDE) y el electrodo de capa fina (TMFE) ambos de mercurio, electrodo de carbono vitrificado “glassy carbón” (GCE) y electrodos de pasta de carbón (CPE). Los electrodos de trabajo construidos con metales nobles (oro, platino) son usados menos frecuentemente. Son abundantes los métodos propuestos que utilizan la voltamperometría y polarografía; estos difieren en la forma de medición y el tipo de potencial eléctrico de excitación usado en la etapa de determinación. [50-52]

El termino voltamperometría se refiere a un grupo de técnicas electro-analíticas en las cuales se recopila información acerca del analito al medir la corriente en una celda electroquímica en función del potencial aplicado. Esta información se obtiene en condición que provoca la polarización de un pequeño indicador o electrodo de trabajo. Cuando se monitorea una corriente proporcional a la concentración del analito a un potencial fijo, la técnica se denomina amperometría. Mientras que en la voltamperometría, la corriente que se desarrolla en una celda electroquímica se mide bajo condiciones de polarización por concentración completa. [53-54]

El registro de una medida voltamperométrica se llama voltamperograma. Si hay una especie electroactiva (reducible u oxidable), se registrara una corriente cuando el potencial aplicado se vuelva suficientemente negativos o positivos para que esa especie se electrolice, es decir cuando una corriente catódica (reducción es positivo) y una corriente anódica (oxidación es negativo). Si la solución se encuentra diluida, la corriente alcanzará un valor límite ya que el analito solo se puede difundir hacia el electrodo y electrolizarse con una rapidez finita, dependiendo de su concentración, la corriente límite es proporcional a la concentración de la especie. [55]

En voltamperometría, se impone una señal de excitación de potencial variable a un electrodo de trabajo de una celda electroquímica. Esta señal de excitación produce una respuesta de corriente característica, la cual es la magnitud que se mide. La forma de las ondas en las señales de excitación más utilizadas en voltamperometría son: de barrido lineal, pulso diferencial, onda cuadrada y voltametría de onda cuadrada, en la cual el voltaje aplicado a la celda aumenta de manera lineal en función al tiempo, por

lo tanto, en función del voltaje aplicado. [56]

Instrumentación Voltamperométrica

La celda está constituida por tres electrodos sumergidos en una disolución que contiene el analito y también un exceso de un electrolito no reactivo conocido como electrolito de soporte. [57]

Una celda voltamperométrica consiste en un microelectrodo de trabajo (ET), cuyo potencial frente a un electrodo de referencia es variado linealmente con el tiempo; el electrodo auxiliar o contraelectrodo (CE), el cual generalmente es un alambre de platino enrollado o un depósito de mercurio; y un electrodo de referencia (ER) que por lo general es un electrodo de Ag/AgCl y tiene un potencial que permanece constante a lo largo del experimento. Se emplea un potencióstato para controlar el potencial. [55]
[57]

La corriente del electrodo de trabajo se registra en función de su potencial medido contra el electrodo de referencia [56], pero el voltaje se aplica entre los electrodos de trabajo y auxiliar, mientras que la corriente pasa entre estos dos últimos.

De esta manera la curva de corriente-voltaje no se ve perturbada por una resistencia apreciable por parte de la solución, lo cual crea una caída denominada caída de voltaje entre los electrodos de trabajo y auxiliar, como en los disolventes no acuosos. Cuando la corriente fluye, el potencial registrado se desplaza. Si es apreciable, esto origina que la curva de corriente-potencial se distorsione y se prolongue sobre un intervalo de potencial más grande. Con un sistema de tres electrodos, el potencial registrado es el que se establece entre el electrodo del trabajo y el de referencia, esencialmente sin flujo de corriente y sin caída de voltaje distorsionante. [55]

El voltímetro digital tiene una resistencia eléctrica alta ($>10^{11} \Omega$) que prácticamente no hay ninguna corriente en el circuito que incluye al medidor y al electrodo de referencia. Por lo tanto, virtualmente toda la corriente de la fuente pasa entre electrodo auxiliar y el electrodo de trabajo. [56]

El voltamperómetro está constituido por tres electrodos, el electrodo de trabajo el cual es considerado el más importante en el sistema electroquímico, mientras que su

potencial varía con el tiempo.

El electrodo de referencia: ofrece un potencial estable. Los potenciales en el electrodo de trabajo se aplican con respecto al potencial de referencia constante, utilizando principalmente sistemas de Ag/AgCl. Y el electrodo auxiliar: la corriente fluye entre el trabajo y electrodo auxiliar con dos tipos de este electrodo disponible, platino (Pt) y carbón vítreo (GC).

DETERMINACIÓN DE ÁCIDO CÍTRICO EN BEBIDAS NO ALCOHOLICAS POR VOLTAMPEROMETRÍA

En los últimos años la determinación de ácido cítrico en bebidas no alcohólicas ha alcanzado un aumento en la demanda mundial, ya que en esta rama alimentaria se emplea con mayor frecuencia la utilización de este aditivo.

Con más de un millón de toneladas producidas al año, la industria de las bebidas no alcohólicas y alcohólicas presenta un 70% de uso de ácido cítrico por su funcionalidad como acidificante o antioxidante para preservar o mejorar el sabor o aroma del zumo de distintas frutas. [58]

El zumo de frutas es la bebida no alcohólica con más estudios realizados, Valizadeh. H & Tashkhourian. J, en el año 2019 realizaron un estudio para determinar ácido cítrico en varias bebidas a través de un electrodo de pasta de carbono modificado con un compuesto de estructura organometálica de tipo MIL.101 (Fe). La actividad electroquímica del electrodo modificado se estudió mediante voltaperimetría cíclica y de pulso diferencial para la caracterización del MIL 101. El método se aplicó con éxito a la determinación de ácido cítrico en algunas bebidas comerciales. [59]

Silva. A, Lourenço, A. & Ugulino de Araujo. A, en el 2018 desarrollaron un método voltaperométrico de onda cuadrada, sensible, rápido y económico; que utiliza un electrodo de pasta de carbono modificado con ftalocianina de cobalto para la determinación simultánea de ácido cítrico, láctico, málico y tartárico en jugo de frutas. Para superar la fuerte superposición de señales voltaperométricas causadas por los constituyentes calibrados y no calibrados, se utilizó una resolución de curva multivariada con mínimos cuadrados alternos. Los datos fueron tratados previamente para su corrección de línea de base y el cambio de su potencial. El estudio no determino diferencias estadísticamente significativas y la referencia presentando un nivel de confianza del 95%. [60]

En otro estudio realizado por Alizadeth. T & Nayén. S en el 2019, se introdujo una nueva técnica de determinación de ácido cítrico en muestras reales a través de un

Determinación voltamperométrica de ácido cítrico en vino **Master en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos**

nuevo método, este método se basa en la introducción de un electrodo de pasta de carbono impregnado con nanopartículas de magnetita (Fe_2O_3). La actividad electroanalítica del electrodo de pasta se corrobora mediante voltamperometría cíclica, la diferencia entre los valores de pH, así como las diversas velocidades de exploración, dieron como resultado algunas evidencias sobre el mecanismo de electro oxidación del ácido cítrico. En este estudio se descubrió que la voltamperometría de onda cuadrada es una técnica analítica apropiada para obtener una señal de electro oxidación mejorada.

Mezclado la voltamperometría de onda cuadrada con las nanopartículas de magnetita se obtuvo un rango dinámico lineal como un límite de detección de ácido cítrico, el método desarrollado se usó para la estimación de la cantidad de ácido cítrico en diferentes muestras comerciales de jugo de fruta dando resultados satisfactorios. [61]

Kusu. F, Fuse. T, & Takomura. K, (1995), realizaron un estudio para establecer un método fiable y preciso para determinar la concentración de ácidos tales como: clorogénico, cafeico, quínico, acético y cítrico, cuando estos están presentes en una solución de etanol que contiene 2-metil-1,4-naftoquinona (VK3) en café y bebida de café a través de voltamperometría. Los picos de reducción voltamperométrico de (VK3) se acompañan con un pico previo, cuya altura máxima es proporcional a la concentración de los ácidos. El análisis de inyección de flujo (FIA) el cual utiliza un detector electroquímico con electrodo de carbono vítreo y una solución portadora de etanol, es utilizado actualmente para la determinación de ácidos. El estudio determinó que las señales de inyección y la concentración de ácido están relacionadas linealmente. [62]

DETERMINACIÓN DE ÁCIDO CÍTRICO EN BEBIDAS ALCOHOLICAS POR VOLTAMPEROMETRÍA

Las bebidas alcohólicas son todas aquellas que por diversos procedimientos como, fermentación, destilados, adición, extracción, etc. presentan en su composición más del 0,5% de alcohol.

Hoy en día existe una gran variedad de bebidas alcohólicas, que se puede clasificar de diversas formas: según su grado alcohólico, procedimiento de elaboración, según su sabor, según sus ingredientes, etc.

Determinación voltamperométrica de ácido cítrico en vino **Master en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos**

El ácido cítrico en las bebidas alcohólicas cumple una función conservante, acidulante, acidificante específico para corregir la acidez, es por esto que la industria de las bebidas alcohólicas busca su utilización, por los beneficios que este aditivo presenta.

Cuenca. M, en el 2014 realizó un estudio con la finalidad de desarrollar una nueva herramienta instrumental de gusto artificial aplicable a bebidas alcohólicas a base de miel de abeja. En el estudio se llevó a cabo un proceso de monitoreo en la etapa de fermentación del hidromiel, para luego desarrollar varios análisis con la ayuda de las técnicas de voltamperometría cíclica y voltamperometría de onda cuadrada; esta última con la ayuda de un electrodo AC1W2RI (platino), con una solución de ácido perclórico 1 mM con cloruro de potasio 0.1 M, se pudo identificar varios ácidos orgánicos, entre estos el ácido cítrico debido a su presencia en la fermentación alcohólica. Este hecho es confirmado con la precisión de la correlación lineal obtenida entre estos parámetros dentro de los modelos obtenidos, permitiendo generar una herramienta de gran importancia no solo para la industria de bebidas alcohólicas sino para el sector alimentario en general, debido a la simplicidad y rapidez del análisis, ya que se puede realizar el seguimiento de fermentaciones alcohólicas de miel utilizando este tipo de técnicas. [63]

Según Escobar. J, e.l en el 2013, realizaron un estudio que tuvo como objetivo principal determinar la capacidad de un electrodo basado en la voltamperometría de pulso para cuantificar ácidos orgánicos en solución simple y binaria utilizando diferentes electrodos. La predicción en ácidos cítricos en soluciones simples y binarias fue adecuada usando electrodos de Ir, Rh, Pt, Ag, Cu usando pulsos positivos como negativos. [64]

METODOS OFICIALES PARA LA DETERMINACION DE ACIDO CITRICO EN EL VINO

Los métodos internacionales de análisis de los vinos y mostos se publicaron por primera vez en el año de 1962, contribuyendo a facilitar los métodos de análisis internacional, estableciendo los métodos oficiales para la determinación de ácidos orgánicos en específico ácido cítrico.

La OIV (Organización Internacional del Vino y Viña) al plantear métodos oficiales lograron obtener el reconocimiento por parte de la Unión Europea ya que en el reglamento (CE) n° 479/2008 (Parlamento Europeo y Consejo de la Unión Europea, 2008) señala que, los métodos de análisis para establecer la composición de los productos cubiertos por dicho reglamento y las normas para verificar si dichos

Determinación voltamperométrica de ácido cítrico en vino

Master en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos

productos han sido sometidos a procesos que violan las prácticas enológicas autorizadas, son los recomendados y publicados por la OIV en su compendio. Para la cualificación y cuantificación del ácido cítrico se puede diferenciar cuatro métodos que se consideran factibles para su determinación.

Para la determinación de ácido cítrico tenemos dos tipos de métodos: el primero, de tipo IV (método químico) y el segundo, de tipo II (Método enzimático). Por otro lado, los métodos oficiales para determinación de ácidos orgánicos en el vino se clasifican en 2 tipos: de tipo IV (HPLC), tipo II & III (electroforesis capilar).[65]

El primer método **OIV-MA-AS313-08 método químico (A 29)** El ácido cítrico se fija con otros ácidos del vino en una columna de intercambio aniónico. Los ácidos citramálico se obtiene fraccionando el eluyente. El ácido cítrico se oxida a acetona, que se separa por destilación. Los acetaldehídos (etanol) se oxida a ácido acético y la acetona se determina por yodometría.

Un volumen de 25 ml de vino es adecuado para contenidos de ácido cítrico que no excedan de 0,5 a 0,6 g/L. Sin embargo, en casos excepcionales donde la cantidad de ácido cítrico en el vino exceda 1,5 g/L, se recomienda realizar el análisis en 10 ml de vino. [66]

El segundo método **OIV-MA-AS313-09 método enzimático (Recueil OIV ed. 1990 revisado según 377/2009)**. El ácido cítrico se convierte en axoloacetato y acetato en una reacción catalizada por citrateliasa. En presencia de malato deshidrogenasa y lactato deshidrogenasa, el oxaloacetato y su derivado de descarboxilación, piruvato, se reducen a L-malato y L-lactato por nicotinamida adenina dinucleotida reducida, esta cantidad es proporcional a la cantidad de citrato presente, la oxidación de nicotinamida adenina reducida se mide por la resultante disminución de la absorción a una longitud de onda de 240nm. [67]

El tercer método **OIV-MA-AS313-04 HPLC (Recueil OIV ed. 1990 revisado según 377/2009)**. Los ácidos orgánicos del vino se pueden separar usando dos fases estacionarias: unidas con columna octilo de sílice y resina de intercambio iónico. Los ácidos son detectados por absorbancia espectrofotométrica en ultravioleta. Para la determinación de ácidos cítricos se utiliza una columna de resina de intercambio iónico.[68]

El cuarto método **OIV-MA-AS313-19 (electroforesis capilar) (Oeno 5/2006)**. Es una separación de la solución acuosa en una mezcla por electroforesis capilar, la cual se obtiene por migraciones diferenciales de un electrolito tamponado denominado buffer.

Determinación voltamperométrica de ácido cítrico en vino

Master en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos

La electroforesis se realiza en un tubo de sílice con un diámetro interno que oscila entre 25 y 75 μm , las soluciones acuosas a separar son impulsadas simultáneamente por dos fuerzas que pueden actuar en la misma dirección o en la dirección opuesta. Estas dos fuerzas son causadas por el campo eléctrico y el flujo electro osmótico. El campo eléctrico esta expresado como $\text{V}\cdot\text{cm}^{-1}$.

La movilidad es una característica de los iones, cuanto más pequeña la molécula mayor es su movilidad electroforética. Si la pared interna del tubo capilar no está recubierta, las cargas eléctricas negativas de la sílice fijan parte de los cationes del tampón. La solvatación y el desplazamiento hacia el cátodo de parte de los cationes del tampón crean el flujo electro osmótico. Se puede elegir el pH del tampón y los aditivos para controlar la dirección y la intensidad del flujo electro osmótico.

La adición de un ión cromóforo en el tampón se puede utilizar para obtener picos negativos que representan cuantitativamente la soluciones a separar que no absorben a la longitud de onda utilizada. [69]

DETERMINACION DE ÁCIDO CÍTRICO EN VINO POR VOLTAMPEROMETRÍA

Al momento de realizar la revisión bibliográfica sobre la determinación de ácido cítrico en el vino mediante técnica voltamperométrica, se pudo identificar que esta técnica no es utilizada con frecuencia para el análisis del analito requerido, a pesar de eso se pudo encontrar poca información sobre el método adecuado.

En un ensayo a través de la determinación voltamperométrica del contenido de ácido total en el vino realizado por Ohtsuki. S & e.l, en el año 2000. Este estudio se realizó midiendo la corriente de pico previo de reducción debido a la presencia de ácidos en medio de etanol sin tampón. Se descubrió que el benzoquinano es un reactivo adecuado para esta determinación con respecto a su potencial de reducción, estabilidad y solubilidad en ácidos orgánicos que contiene el etanol. Utilizando una celda tipo vaso de precipitados y un electrodo de trabajo de carbono formado por plástico, el voltamperograma obtuvo los principales ácidos orgánicos incluyendo el ácido cítrico, en la gráfica apareció un pre-pico único y bien definido cuya altura era proporcional al total de la concentración del ácido, este método presentó una mayor sensibilidad y requiere de menor volumen de muestra para la determinación del analito. [70]

En otro estudio realizado por Zakharova. M, & e.l en el año de (2011) buscaron la determinación potenciométrica de la acidez total y la concentración de ácido cítrico en

vino. Concluyeron que la voltamperometría se puede utilizar para la determinación indirecta del ácido cítrico después de la pre-derivación enzimática [71].

5. CONCLUSIÓN

Una vez concluida la revisión bibliográfica sobre la determinación voltamperométrica de ácido cítrico en el vino, se ha llegado a la conclusión de que esta es una técnica la cual no ha despertado gran interés por profundizar en su estudio. Las técnicas voltamperométricas, específicamente voltamperometría cíclica y de onda cuadrada son las más utilizadas para la determinación de ácido cítrico. Estas técnicas se basan en la utilización de electrodos de pasta de carbono para la determinación cualitativa.

Así mismo se puede concluir que la voltamperometría de pulso impuesto un electrodo, es útil para cuantificar ácidos orgánicos en disoluciones simples y binarias utilizando diferentes electrodos. La determinación de ácido cítrico en disoluciones simples y binarias fue adecuada mediante el uso de electrodos de Ir, Rh, Pt, Ag, Cu.

Para medir el ácido cítrico en el vino nos basamos en los métodos oficiales como: método químico, método enzimático, HPLC y electroforesis capilar, esta última es la técnica más utilizada por su rendimiento y capacidad de detección.

Hoy en día la ciencia y tecnología siguen avanzando por lo que en esta conclusión no podemos descartar a la lengua voltamperométrica la cual utiliza sensores para determinar el ácido cítrico en el vino.

Por otro lado, se ha podido observar que las técnicas voltamperométricas se han utilizado para medir ácidos orgánicos como un único analito, para luego ser separado dependiendo los pre picos y picos existentes en el voltamperograma.

Para finalizar, podemos concluir afirmando que todas las técnicas voltamperométricas utilizadas para la determinación de ácido cítrico en bebidas alcohólicas como no alcohólicas obtuvieron resultados satisfactorios con un coste menor y en un tiempo aceptable. Por lo que concluimos que esta técnica podría aplicarse en la industria vinícola para la determinación de ácido cítrico en vino.

6. AGRADECIMIENTOS

A Dios por brindarme salud y sabiduría durante este camino de aprendizaje académico y personal.

A mis padres Diego y Tania, por brindarme su apoyo y motivación día a día siendo los pilares fundamentales en este logro que estoy alcanzando, por su amor y cariño diario formando una persona de calidad y que no desmaya ante las circunstancias, porque gracias a su esfuerzo fueron parte fundamental de la culminación de una de mis metas de estudio y de vida.

A mis familiares y amigos residentes en España, ya que gracias a ellos encontré una segunda familia la cual me apoyo y me guio en los momentos más duros vividos durante esta experiencia académica.

A la Universidad de Valladolid, por permitirme formar parte de la institución, en especial a todos sus docentes los cuales me brindaron sus conocimientos durante esta etapa académica

7. BIBLIOGRAFÍA.

1. Vino, o.i (24 de abril del 2018) Coyuntura vitícola mundial. Pag 1
2. Thunberg T (1953) Occurrence and significance of citric acid in the animal organism. *Physiol Rev* 33:1–12
3. Sánchez , O., Ortiz, M., & Betancourt, A. (2004). Obtención de ácido cítrico a partir de suero de leche por fermentación con *Aspergillus* spp. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 43-54.
4. Bennett GM, Yuill JL (1935) The crystal form of anhydrous citric acid. *J Chem Soc* 130:130– 130
5. Nordman CE, Weldon AS, Patterson AL (1960) X-ray crystal analysis of the substrates of aconitase. II. Anhydrous citric acid. *Acta Cryst* 13:418–426
6. Glusker JP, Minkin JA, Patterson AL (1969) X-ray crystal analysis of the substrates of aconitase. IX. Refinement of the structure of anhydrous citric acid. *Acta Cryst* 25:1066–1072
7. Burns DM, Iball J (1954) Unit cells and space groups of citric acid and some potassium and sodium citrates. *Acta Cryst* 7:137–138
8. Roelofsen G, Kanters JA (1972) Citric acid monohydrate, C₆ H₈ O₇ · H₂ O. *Cryst Struct Comm* 1:23–26
9. Apelblat,A (2014) Citric Acid, Department of chemical engineering ISBN 978-3-319-11232-9
10. García, J (Octubre, 1990) Técnicas Analíticas para vinos 84-404-7827-5
11. Stafforini, G (2010) Análisis sobre las enfermedades del vino y factibilidad para detectarlas en botellas.
12. Cazonatto, A & Da Silva, W (2018) experimental study and modeling of citric acid solubility in alcohol mixture 12600-970
13. Correa, Y & Rivera, J (2017) Evaluación de ácidos orgánicos en bebidas de frutas comerciales por cromatografía líquida de alta eficiencia Vol 14 1900-4699
14. Restuccia, D & Spizzirri, G (2017) LC whit evaporative light-scattering detection for quantitative analysis on organic acids in juices 1936-975
15. Monakhova. Y & Randel. G. LA (2016) Automated Control of the organic and inorganic composition of aloe vera extracts using H-1NMR spectroscopy. 1213-1218.
16. Mato. I & Huidobro. J LA (2006) Simultaneous determination og organic acids in beverages by capillary zone electrophoresis 129-274.

17. Gonçalves. T, (2009) Análise semi-quantitativa e quantitativa de bebidas não alcoólicas com uma língua eletrônica desenvolvido em el âmbito de los proyectos de investigación POCI / QUI / 58706/2004 y PPCDT / QUI / 58076/2004,
18. Katrien Beullens a . P. (2007). Analysis of tomato taste using two types of electronic tongues. sciencedirect,
19. Alvarez, A.; Jorrat, S.; Genta, M. (2005) CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE JUGO DE LIMÓN DE TUCUMÁN, 1669-2314
20. Dogaru. D, Stoin. D, Hadarunga. N, Tasca. T, Jianu. I, (2009) RESEARCHES REGARDING THE DETERMINATION OF ORGANIC ACIDS IN FRUITS JUICE, 1848-4425
21. Lima. J, Delerue-Matos. C, Carmo. M, Vaz. V, Silva. J, (1999) Determination of citric acid in soft drinks using flow injection with potentiometric detection, 0937-0633
22. Tusseau, D., Benoit, C., J. Chromatogr. 1987, 395, 323--333.
23. Schneider, A., Gerbi, V., Redoglia, M., Am. J. Enol. Viticult. 1987, 38, 151--155.
24. Park, J., Shin, J., Lee, J., Lee, K., Food Sci. Biotech. 2017, 26, 349--355.
25. Escobal, A., Gonzalez, J., Iriondo, C., Laborra, C., Food Chem. 1997, 58, 381--384.
26. López, E. F., Gómez, E. F., J. Chromatogr. Sci. 1996, 34, 254--257.
27. Yan, Z., Xingde, Z., Weijun, N., Microchim. Acta 1997, 127, 189--194.
28. Esteves, V., Lima, S., Lima, D., Duarte, A., Anal. Chim. Acta 2004, 513, 163-167.
29. Mato, I., Suárez-Luque, S., Huidobro, J., Food Chem. 2007, 102, 104--112.
30. Peres, R., Moraes, E., Micke, G., Tonin, F., Tavares, M., Rodriguez-Amaya, D., Food Control 2009,
31. Castiñeira, A, Peña, R., Herrero, C., García-Martín, S., HRC-J. High Res. Chromatogr. 2000, 23, 647—652
32. Saavedra, L., Barbas, C., Electrophoresis 2003, 24, 2235--2243.
33. Hagberg, J., J. Chromatogr. A 2003, 988, 127—133
34. Sawada, H., Nogami, C., Anal. Chim. Acta 2004, 507, 191--198.
35. Li, B., Yongku, L., Wang, X., Wang, F., Wang, X., Wang, Y., Meng, X., J. Food Sci. Techn. 2015, 52, 5228--5235.
36. F.L. do Nascimento Silva, E.M. Schmidt, C.L. Messias, M. Nogueira Eberlin, A.C.H.F. Sawaya Frankland, Quantitation of organic acids in wine and grapes by direct infusion electrospray ionization mass spectrometry, Anal. Methods 7 (2015) 53-62.

37. Sanchez, F., Bosh, C., Espinosa, M., Ruiz, A.,(2008) Diseño experimental para la calibración y validación de ácido cítrico y ácido tartárico por espectrofotometría uv-visible directa y derivada 104(3), 181-188
38. Petropulos, I., Zaneta, N., Sandor, V., Makszin, L., Deutsh-Nagy.L., Berkics, B., Stafilov, T., Kilar, F., (2018) Fast determination of lactic, succinic, malic, tartaric, shikimic, and citric acids in red Vranec wines by CZE-ESI-QTOF-MS. 0173-0835.
39. Rovio, S., Siren, K., Siren H., Application of capillary electrophoresis to determine metal cations, anions, organic acids, and carbohydrates in some Pinot Noir red wines, Food Chem. 124 (3) (2011) 1194-1200.
40. Castiñeira. A, Peña. M, Herrero.C, & Garcia. M, (2002) Analysis of organic acids in wine by capillary electrophoresis with direct UV determination
41. Regmi. R, Siré. K, (2011) Application of capillary electrophoresis to determine metal cation, anion, organic acids and carbohydrates in some Pinot Noir red wine. 124: 1194-1200
42. Tasev. K, Stefova. M, Ivannova-Petropulos. V, (2016) HPLC Method validation and application for organic acid analysis in wine after solid-phase extraction, 1857-5552
43. Lima.L, Schuler. A, Guerra. N, Pereira. G, Lima. T, Rocha. H, (2010) Optimization and validation method for organic acid determination in wines by high performance liquid chromatography, 0100-4042
44. Alonso. E, de Torres. S, Molina. A, Pavon. J, (1998) Determination of organic acids in wines. A review, 0212-0569
45. Henniger. G, Mascaro. L, (1985) Enzymatic-ultraviolet determination of l-citric acid in wine - collaborative study, 0004-5756
46. Peres, R.G., Moraes, E.P., Micke, G.A., Tonin, F.G., M.F.M. Tavares, D.B., Rodriguez Amaya. Rapid method for the determination of organic acids in wine by capillary electrophoresis with indirect UV detection, Food Control 20 (6) (2009) 548-552.
47. Edelmann, A., Diewok, J., Rodriguez J., Baena, B. Lendl, High-performance liquid chromatography with diamond ATR e FTIR detection for the determination of carbohydrates, alcohols and organic acids in red wine, Anal. Bioanal. Chem. 376 (2003) 92-97.
48. Pinto, J. F., Almeida, C., Carrilho, E., Figueira, M., Gonçalves, M., Martins, A., & Silva, O. (2010). Métodos de Análise :Nutracêuticos e alimentos funcionais. Lisboa: Lidel-ed.
49. Gomez, S., Soria, E., (2002) Análisis electroquímico 0034-7973

50. Estévez Hernández OL. Furoiltiureas (2007) Naturaleza de sus complejos con CdCl₂ Y HgCl₂ y su Utilización en Sensores Electroquímicos [Internet]. Universidad de Cádiz.
51. Lakshmi VM. (s.f) Control de calidad del vino y de bebidas a base de vino.
52. Choquenaira Quispe C, Gonzales Condori ER. "Determinación del Efecto de Allium Sativum L. Ajo sobre los Niveles de Plomo en Sangre y [Órganos de Animales con Toxicidad Aguda Experimental. Arequipa 2012." Methrom [Internet]. 2013;160.
53. Henze G. Introduction to Polarography and Voltammetry. Metrohm Limited; 2004. Pág. 508-520.
54. Harvey D. Modern Analytical Chemistry. Vol. 381. McGraw-Hill New York; 2000.
55. Ortiz R, Martínez Y. Prácticas de Electroanalítica. Univ los Andes Mérida. 2003
56. GD C. Química Analítica: McGraw-Hill Interamericana de España S.L. 2009
57. Metrohm. Voltammetry, An Introduction in Theory. Switzerland; Available from: http://www.metrohm.com.cn/UploadFiles/SupportFile/VA_Theory_normal.pdf
58. Muñoz. A, Galindo. A, López. L, Sifuentes. L, Barajas. L, (2014) Ácido cítrico: compuestos interesantes. Vol 6.
59. Valizadeh. H & Tashkhourian. J, (2019) A carbon paste electrode modified with a metal-organic framework of type MIL-101(Fe) for voltammetric determination of citric acid 186:455
60. Silva. A, Lourenço, A. & Ugulino de Araujo. A, (2018) Simultaneous voltammetric determination of four organic acids in fruit juices using multiway calibration 266 (2018) 232-239
61. Alizadeth. T & Nayén. S, (2019) Magnetite Nanoparticles Impregnated Carbon Paste Electrode as a New Sensing Platform for Voltammetric Determination of Citric Acid in Fruit Juice Samples, 2008-4226
62. Kusu. F, Fuse. T, & Takomura. K, (1995) Determination of acid content in coffee beans and coffee, 2-900212-15-4
63. Cuenca. M, (2014) Desarrollo de una herramienta instrumental de gusto artificial aplicable a bebidas alcohólicas a base de miel de abeja.
64. Escobar. J, Alcaniz. M, Masot. R, Fuentes. A, Bataller. R, Soto. J, Barat. J. (2013) Quantification of organic acids using voltammetric tongues, 138 (2013) 814-820
65. O.I.V, (2019), Compendium of international method of wine and must analysis, 978-2-85038-005-1.

Determinación voltamperométrica de ácido cítrico en vino
Master en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos

66. O.I.V (2009), Compendium of international methods of analysis – oiv Citric acid. Method OIV-MA-AS313-08
67. O.I.V (2009), Compendium of international methods of analysis – oiv Citric acid. Method OIV-MA-AS313-09
68. O.I.V (2009), Compendium of international methods of analysis – oiv Organic acid. Method OIV-MA-AS313-04
69. O.I.V (2006), Compendium of international methods of analysis – oiv Organic acid. Method OIV-MA-AS313-19
70. Ohtsuki. S, Kunimatsu. N, Takamura. K, Kusu. F, (2000) Determination of the Total Acid Content in Wine Based on the Voltammetric Reduction of Quinone
71. E. A. Zakharova, M. L. Moskaleva, Yu. A. Akeneev, E. S. Moiseeva, G. B. Slepchenko, and N. P. Pikula (2011), Potentiometric Determination of the Total Acidity and Concentration of Citric Acid in Wine