



MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO EN VINOS

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Curso 2024/2025

Alumno: PABLO ANDRÉS GUERRÓN LÓPEZ

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

RESÚMEN:

España se ha caracterizado por la viticultura y la producción de vinos, que con el paso del tiempo se ha visto en la necesidad de realizar progresos tecnológicos por ser necesarios en los procesos de producción, desarrollo y calidad del producto. Dentro del extenso mundo del vino, los componentes del vino juegan un importante papel en estos procesos, siendo uno de ellos el ácido láctico. Dado que la determinación del ácido láctico es importante, se han desarrollado distintas técnicas instrumentales para determinarlo, que van desde las cromatográficas hasta las electroquímicas, las cuales a lo largo del trabajo se explorarán de acuerdo con su funcionalidad, su carácter prestacional y su capacidad de innovación. Sirviendo su comprensión para la aplicabilidad en los procesos productivos, en la realización de métodos de validación y hasta en el análisis de la determinación de origen geográfico o de la variedad de uva.

PALABRAS CLAVE: ácido láctico, vino, cromatografía, RMN, electroquímica, bebidas, calidad.

ABSTRACT:

Spain has been known for its viticulture and wine production, which over time has required technological advances to improve production processes, development, and product quality. Within the extensive world of wine, the components of wine play an important role in these processes, one of which is lactic acid. Given the importance of determining lactic acid, various instrumental techniques have been developed to measure it, ranging from chromatographic to electrochemical methods. Throughout this work, these techniques will be explored in terms of their functionality, performance, and capacity for innovation, with a view to understanding their applicability in production processes, in the implementation of validation methods, and even in the analysis of the determination of geographical origin or grape variety.

KEY WORDS: lactic acid, wine, chromatography, RMN, electrochemistry, beverage, quality

ÍNDICE

1.	INTRODUCCION	1
2.	OBJETIVO	5
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	5
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	6
4.1.	Determinación de ácido láctico en vinos.....	6
4.1.1.	Determinación de ácido láctico en vinos por HPLC.....	6
4.1.2.	Determinación de ácido láctico en vinos por HNMR.....	8
4.1.3.	Determinación de ácido láctico en vinos por Espectroscopía Infrarroja.....	10
4.1.4.	Determinación de ácido láctico en vinos por Electroforesis Capilar	12
4.1.5.	Determinación de ácido láctico AL por métodos electroquímicos.....	15
4.2.	Método oficial para la determinación de ácido láctico en vinos.....	20
5.	CONCLUSIONES.....	22
6.	BIBLIOGRAFÍA.....	23

1. INTRODUCCION

El vino es una matriz compuesta principalmente por alcohol, azúcares residuales, ácidos y compuestos aromáticos los cuales revelan la calidad de este, las características sensoriales que de estas se derivan se pueden analizar tanto por vías químicas, como por vías sensoriales, estas últimas son más utilizadas cuando se trata de aprobar un vino para el consumo. Las características básicas que indican la calidad de un vino son la claridad, color, aroma y sabor; por lo que a su vez también son indicadores de los defectos y problemas que pueden presentarse en un vino (Horská & Rebič, 2018).

Los ácidos orgánicos contribuyen a las propiedades organolépticas del vino, de esta manera están inmersos en la percepción sensorial y la calidad de los vinos; así una cantidad adecuadamente alta de estos evita, en el vino, el crecimiento de microorganismos (entre estos las bacterias) favoreciendo que el vino sea un producto estable (Jastrzebska, 2022).

La concentración de los componentes del vino, entre los cuales se encuentran los ácidos orgánicos, pueden cambiar en función de los procesos climáticos, agrícolas y vinícolas. Esto quiere decir que, cambiando cualquier factor de los procesos, se pueden modificar las concentraciones de los componentes. Entonces midiendo las concentraciones de componentes como los polifenoles, aminoácidos, especies inorgánicas y ácidos orgánicos, se pueden crear perfiles composicionales que permiten definir el origen y la calidad de los vinos, de esta manera estos componentes terminan por convertirse en descriptores químicos (Saurina, 2010).

Las técnicas analíticas como la cromatografía de gases, la espectroscopia de masas, la cromatografía líquida de alta resolución y la resonancia magnética nuclear sirven para analizar estos descriptores químicos, por ejemplo, si se analizan polifenoles y/o las trazas minerales estos pueden develar las características del suelo donde son cultivadas las uvas (que se utilizan como materia prima en la fabricación del vino). Las técnicas analíticas en consonancia con métodos quimiométricos, permiten extraer información de una manera estructurada de acuerdo a los perfiles químicos, permitiendo la clasificación de los vinos, develando la autenticidad y calidad de estos.

Dentro de los ácidos orgánicos se encuentra el ácido láctico, este se produce debido a la acción de las bacterias ácido lácticas (BAL), lo que hace que sea un componente clave de la fermentación de varios alimentos industriales mediante la transformación de carbohidratos. Con este proceso no solo se consigue mejorar las propiedades nutricionales

sino también el sabor, la textura y el aroma de los alimentos (Liu & Narbad, 2018; Oziegbe et al., 2024).

En la elaboración del vino, las BAL desempeñan un papel importante porque se encargan de convertir el ácido málico, resultante de la fermentación del vino, en ácido láctico promoviendo una reducción de la acidez del vino. Este proceso se conoce como fermentación maloláctica (FML), que también es importante porque a posteriori asegura la estabilidad microbiológica del vino, al prevenir una posible fermentación después del proceso de embotellamiento (Ángeles Pozo-Bayón et al., 2009; García-Ruiz et al., 2008; Muñoz et al., 2011).

A pesar de las ventajas que presenta la FML, es importante mencionar que, si ésta no se controla adecuadamente, en cambio puede llevar a lo contrario; ya que puede acarrear problemas como el deterioro tartárico, la picadura láctica, degradación de glicerol, lo que conduce a propiedades físicas y organolépticas indeseables; que al final terminan por influir negativamente en la calidad del vino (Muñoz et al., 2011).

El proceso fermentativo con BAL no solo se enfoca en la producción de ácido láctico, también conlleva otras rutas metabólicas que resultan en la producción de vitaminas y minerales, que hacen que los alimentos se vean provistos de mejoras que resultan beneficiosas para la salud y que además potencian la digestibilidad de los alimentos. (Aguirre-Garcia et al., 2024; Sionek et al., 2023).

En el campo de la industria alimentaria, las bacterias ácido-lácticas (BAL) juegan un papel importante, porque al actuar en los alimentos, intervienen en el proceso de la fermentación; dando como resultado productos como el ácido láctico, el ácido acético, sustancias antifúngicas y bacteriocinas, los cuales tienen cualidades nocivas para con los microorganismos no deseados (aquellos que por un lado causan el deterioro de los alimentos y por el otro son peligrosos para el consumo) debido a que con el ácido láctico se crea un medio ácido, esto lo hace ser un compuesto de seguridad alimentaria porque extiende la vida útil de los alimentos y mejora la frescura de los mismos (Anumudu et al., 2024; Cai et al., 2024; Swetwiwathana & Visessanguan, 2015).

El ácido láctico también actúa como acidulante, de modo que las propiedades palativas de bebidas suaves ligeramente saborizadas y zumos de frutas, mejoran y perduran por más tiempo, de la misma manera cuando se usa, lo usa en sinergia con el ácido cítrico. Estos

hacen que las conservas adquieran un sabor más suave. En el campo de la confitería se prefiere el uso del ácido láctico, al uso tradicional del ácido cítrico, porque brinda una acidez sumtuosa y duradera; ya que realza mejor el sabor de los caramelos de lo que lo hace el ácido cítrico (Vijayakumar et al., n.d.).

En productos como el yogur y el queso la propiedad acidulante del ácido láctico contribuye en la coagulación de las proteínas, lo que hace que se modifique la estructura de las mismas, esta modificación interviene a la vez en cambiar y mejorar el sabor de estos lácteos.

La modificación que sufren las proteínas de las carnes cuando reciben la acción de este ácido se la conoce como hidrólisis, la cual transforma los tejidos, haciendo que el ácido láctico actúe como un ablandador que no solo modifica la textura cárnea, sino también su facilidad de masticación (Oziegbe et al., 2024).

El ácido láctico es un ácido hidro carboxílico que se presenta en forma levógira y en forma dextrógira o lo que es lo mismo se presenta como D-ácido láctico y como L+ácido láctico (Abdullah et al., 2024; Vignesh Kumar et al., 2022). El ácido láctico es un componente versátil, ya que es usado en las distintas industrias que van desde la farmacéutica hasta la textil, debido a la facilidad de que sus fragmentos hidroxilo y carboxilo puedan ser modificados (Rawoof et al., 2021), estas características hacen del ácido láctico el polímero más deseado de la década (A. Ahmad et al., 2020).

El ácido láctico se encuentra presente en los humanos, en los animales y en las plantas. Se puede obtener a través de medios químicos a partir del carbón, productos petrolíferos y gas natural, así como también a través de mecanismos biotecnológicos como la fermentación (Jodłowski & Strzelec, 2021; Komesu et al., 2017).

El proceso químico más común es la hidrolisis de lactonitrilo, con los procesos químicos se puede obtener una mezcla de los isómeros dextrógiros y levógiros. En cambio, con el biotecnológico dependiendo del sustrato, del tipo de microorganismos y de las condiciones de crecimiento, se pueden obtener isómeros puros o una mezcla de estos en diferentes proporciones (Åkerberg et al., 1998; Komesu et al., 2017; Tsao et al., 1999; Yin, et al., 1997).

Debido a que los costes de la materia prima tienden a elevar el coste de producción del ácido láctico, se han puesto en consideración fuentes que colaboren atenuando el coste, en este sentido los materiales amiláceos, la biomasa lignocelulósica y los desperdicios

alimentarios en hogares e industrias son los que se han tenido en cuenta (Abdel-Rahman et al., 2013; Anuradha et al., 1999; Aristidou & Penttilä, 2000; Huang et al., 2003; Nakano et al., 2012; Richter & Berthold, 1998).

El *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 1086 se usa en fermentación para producir ácido láctico, cuando este se usa, las fuentes más comunes de sustrato son la glucosa, la celulosa, la lignocelulosa, la sacarosa y la melaza hidrolizada (Jodłowski & Strzelec, 2021).

La biomasa lignocelulósica es la fuente de producción comercial de ácido láctico más prometedora debido a su gran abundancia natural. Obtener la lignocelulosa en sí representa un bajo costo, pero los pasos de pretratamiento que se necesitan para obtenerla hacen que se incremente el coste de producción; en este sentido al evaluarse mejoras para el proceso, se ha encontrado que el pretratamiento hidrotermal es factible para mejorarlo, facilitando y abaratando costes, el lactosuero (derivado de la industria del queso) también es una sustancia idónea para la producción de ácido láctico, puesto que está formado de proteínas, grasas, vitaminas y sales que lo convierten en un medio idóneo para el crecimiento de macroorganismos (Komesu et al., 2017).

La producción de ácido láctico en el vino, conlleva la producción de ácidos hidroxicinámicos que también son producidos por las BAL, las cuales a su vez se encargan de romper glucósidos de antocianina. La mayor o menor presencia de estos compuestos pueden cambiar el color del vino, dentro de otros de los subproductos de las BAL también se tiene a enzimas que dan como resultado la niebla que en ocasiones puede verse en el vino (Virdis et al., 2021).

La conversión de ácido málico en ácido láctico logra dar un vino distinto del que se daría si solo queda el málico, ya que el láctico al ser un ácido más suave contribuye a que el sabor del vino se atenúa conforme este se va produciendo, es decir, el vino logra obtener unas características degustativas diferentes, que lo hacen más suave y sabroso (Bartowsky, 2014; Lerm et al., 2010; Sgouros et al., 2020).

El ácido málico es un nutriente para las bacterias que participan en el deterioro del vino, de esta manera su presencia significa que el vino es susceptible de convertirse en una bebida lesiva; por lo que convertir el ácido málico en ácido láctico por medio de la FML mejora la estabilidad y la vida útil del vino (Bartowsky, 2014; Lerm et al., 2010).

La producción de ácido láctico en el vino a través de las BAL, conlleva a la producción de ésteres y de diacetil, componentes que mejoran las propiedades organolépticas del vino, ya que lo confieren un sabor y un aroma con notas frutales y de mantequilla (Antalick et al., 2012).

Es importante tener en cuenta, que para la producción adecuada de ácido láctico, se debe tener un adecuado control del crecimiento de las BAL que lo producen en las etapas de iniciación, mitad y final de la fermentación alcohólica; ya qué de lo contrario, causaría un detrimiento en la calidad del vino (Matsumoto et al., 2022; Tristezza et al., 2016).

2. OBJETIVO

Realizar una revisión bibliográfica que abarque los estudios realizados en los que se ha empleado las diversas técnicas analíticas por separado y en combinación conociendo sus aplicaciones en la determinación de ácido láctico.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La revisión bibliográfica se ha apoyado en el uso de buscadores especializados de la red de bibliotecas, buscadores científicos y las bases de datos asociadas a estas:

Science Direct <https://www.sciencedirect.com/>

Almena biblioteca de la UVa: <https://almena.uva.es/>

Web of Science www.webofscience.com

ProQuest Central www.proquest.com

Springer nature link www.springer.com/gp

Para la búsqueda de la información se han considerado los siguientes criterios:

Artículos y libros redactados en inglés.

Artículos publicados en los últimos 27 años.

Artículos relacionados con los métodos de determinación de ácido láctico en vinos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Determinación de ácido láctico en vinos

4.1.1. Determinación de ácido láctico en vinos por HPLC

En los métodos que utilizan la técnica HPLC, primero se diluyen y luego microfiltran las muestras de zumo, mosto o vino a través de filtros de tamaño de poro de 0,22 µm a 0,45 µm. La dilución se hace en proporciones de 1 a 2 o de 1 a 4, hecho esto se tapan las muestras en viales de 1,5ml o se pasan directamente al interior de un frasco de inyección que serán inyectadas en volúmenes de 10 µl o 20 µl en el equipo, para ser analizadas por sus señales químicas. A continuación se hacen fluir hacia una columna cromatográfica de 300 mm de longitud, 7,7 mm de diámetro interno y 8 µm de tamaño de partícula. Para proteger a la columna, se utiliza una precolumna de 5 mm de longitud y 3mm de diámetro interno. La separación se realiza con H_2SO_4 como eluyente, a una concentración de 4 mM, 5 mM ó 10 mM; a una velocidad de 0,5 a 0,7 ml/min. La temperatura a la que se mantiene el eluyente es de 50 °C, 60 °C ó 70 °C; la detección es posible gracias a un detector de matriz de diodos que trabaja a una longitud de onda de 210 nm. El análisis cualitativo se hace gracias a los tiempos de retención en los espectros UV/Vis. Mientras que la determinación cuantitativa, se hace mediante la utilización de curvas de calibración con un R de alrededor de 0,998, en las que las soluciones estándares se preparan a partir de patrones con grado de pureza del 98 % (Almeida dos Anjos et al., 2024; Delač Salopek et al., 2024; Ding et al., 2024; Zhang et al., 2025).

Zhang et al. (2025) demostraron las diferencias químicas existentes entre vinos fermentados en barriles de roble viejos y nuevos y barriles de acero inoxidable. La distinción se estableció por la diferencia de los componentes fenólicos, volátiles y ácidos orgánicos; entre los cuales está el ácido láctico. Las muestras se analizaron utilizando un equipo de HPLC. La cuantificación del ácido láctico pudo realizarse en el equipo gracias a la curva de calibración externa. Tanto los barriles viejos como los barriles nuevos presentaron resultados estadísticamente iguales, en torno a 6,25 g/l de ácido láctico.

Almeida dos Anjos et al. (2024) estudiaron como 4 diferentes tipos de levadura producen diferentes tipos de vino, ya que producen distintos compuestos químicos; uno de estos componentes es el ácido láctico. De acuerdo con Wei et al. (2020) el ácido láctico se asocia

con un ligero sabor ácido. Para conocer su influencia, se hizo necesaria su determinación por medio de un equipo HPLC. La separación de los componentes se llevó a cabo en el equipo de HPLC a una temperatura de 70 °C, para cada levadura se realizaron 3 fermentaciones y se analizaron 3 muestras por cada experimentación. La concentración de ácido láctico que se obtuvo por medio de las levaduras de *S. cerevisiae*, *B. bruxellensis* y *B. lambicus* fue de alrededor de 0,09 g/l. La que se consiguió por medio de la *L. thermotolerans* fue de 0,95 g /l siendo un resultado significativamente mayor al obtenido por las otras levaduras.

Los aumentos de temperatura debidos al cambio climático y variaciones de las precipitaciones provocan en ciertas zonas vinícolas que los frutos de la vid maduren más rápido de lo normal; obteniéndose uvas con más azúcar, que después de ser sometidos a fermentación, origina vinos con aumento en su contenido de alcohol (Mira de Orduña, 2010).

Se exploraron metodologías en las que se utilizaron cepas *L. thermotolerans* para producir ácido láctico, para elevar la acidez y reducir el grado alcohólico en los vinos. Para esto, se compararon muestras de vinos con inoculación secuencial de *L. thermotolerans* y *S. cerevisiae* con muestras de vinos elaborados solo con *S. cerevisiae*. Se elaboraron diagramas cromatográficos en el rango de 210 nm del UV/vis, el eluyente que se utilizó en la columna fue H_2SO_4 de concentración 4 mM, con flujo de 0,5 ml/min. Los resultados de la fermentación secuencial de la *L. thermotolerans* en sinergia con la *S. cerevisiae* produjeron 0,86 g/l de ácido láctico, es decir 0,78 g/l más que la *S. cerevisiae* por si sola (0,08 g/l) (Delač Salopek et al., 2024).

Por sí mismas las uvas son capaces de auto producir vino ya que tienen microbiota, enzimas, y nutrientes que al encontrarse en condiciones adecuadas pueden llevar a una fermentación espontánea (Viecelli, 2021). El ácido láctico se produce gracias a la fermentación maloláctica (FML) de las BAL presentes en la misma uva (Virdis et al., 2021). Ding et al. (2024)evaluaron la producción de vino terroir de fermentación espontanea, identificando compuestos como el ácido láctico que le otorga un peculiar sabor al vino. Para el análisis de ácido láctico, las muestras tuvieron una preparación previa en la que se recurrió a diluir las muestras en un orden de 1 a 4, para ser cuantificadas en un equipo de HPLC en el que se utilizó H_2SO_4 como fase líquida con un flujo de 0,5 ml/min. El detector se usó a una longitud de onda de 210nm, la columna se mantuvo a una temperatura de 50 °C. Los análisis arrojaron que el ácido láctico pasó de no tener niveles detectables a estar presente

en $2,07 \pm 0,03$ g/l, este aumento estuvo de acuerdo con la disminución de ácido málico, el cual pasó de estar presente en $6,76 \pm 0,06$ g/L a $0,22 \pm 0,04$ g/L.

La cantidad producida de ácido láctico, así como la disminución del málico se utilizaron para dar seguimiento a la FML y para determinar cuáles son los principales microrganismos que están detrás de la fermentación (Ding et al., 2024).

4.1.2. Determinación de ácido láctico en vinos por HNMR

La técnica HNMR es una técnica que no requiere de una preparación compleja, el HNMR es un método no invasivo ni destructivo, capaz de en un solo estudio analizar varios compuestos con resultados reproducibles (da Silva et al., 2019).

Dependiendo de los objetivos del análisis, las muestras a analizar en un equipo de HNMR pueden analizarse directamente; en cuyo caso la muestra permanece intacta o pueden pasar por una extracción de fase sólida para eliminar ciertos interferentes y analizar con más detención el resto de componentes (Ocaña-Ríos et al., 2021).

En el caso de las bebidas alcohólicas destiladas, estas se preparan mediante filtración o centrifugación para eliminar las partículas en suspensión, se disuelven en una mezcla de etanol agua, con una solución tampón se asegura que la muestra tenga un pH uniforme y un estándar de referencia para tener una calibración consistente con la señal de desplazamiento (Teipel et al., 2020).

Las preparaciones de las muestras se dan a razón de lo que está hecho el vino, el vino está constituido principalmente por agua (83%), etanol (12%) y el resto de otros componentes; dependiendo de los compuestos a analizar, se suele someter también a una preconcentración por medio de secado, liofilización o evaporación para mejorar la sensibilidad a los compuestos de interés analítico. Como las muestras son susceptibles de variar su pH, se les añaden tampones como fosfatos u oxalatos para dar el pH requerido, por lo general suele ser de 3,0 – 4,0. Además se debe colocar un compuesto de referencia como la sal de sodio del ácido 3-(trimetilsilil) propiónico-2,2,3,3-d4 (TSP) o la sal sódica 2,2-dimetil-2-si-lapentano-5-sulfonato-d4 (DSS) con $\delta=0$ ppm para calibrar los espectros, con ello se facilita la identificación de los metabolitos y la comparación de espectros en el equipo de RMN (Mao et al., 2023).

Los parámetros de adquisición de las señales del ácido láctico en el vino a través del HNMR, se toman en conjunto con los demás componentes a analizar del vino; se utiliza una temperatura de 293 °K, además agregan formiato de calcio como estándar interno para la cuantificación, (Le Mao et al., 2021).

Para adquirir información con los equipos de NMR se hace uso de un determinado número de escaneos, a la vez también se debe emplear un tiempo para la relajación de los espines nucleares y un tiempo prudente para la adquisición de datos. Los espectrómetros en los que se miden las muestras operan en frecuencias de entre 400 a 600 MHZ, así usando regiones alifáticas como puede ser de 0 a 3 ppm, con este tipo de equipos se logra determinar ácidos orgánicos (Larsen et al., 2006).

La técnica de HNMR es una técnica versátil que sirve para usarla tanto manualmente como a través de automatización de software, la automatización debe validarse, para esto el software por medio del desarrollo de algoritmos y alimentación de su biblioteca con espectros de referencia, se pone en entrenamiento identificando componentes en vinos contrastados con resultados encontrados con un método manual, de esta manera y usando vinos adicionales cuyos componentes también serán corroborados por un método manual, se valida el proceso automático. El ácido láctico en su forma de lactato es parte de los componentes que globalmente permiten validar el funcionamiento del software; el método está diseñado para cuantificar el perfil metabólico del vino en lugar de un solo componente, el rango en el que el ácido láctico suele encontrarse está entre 73 a 2055 mg/l (Lee et al., 2024).

Mediante análisis de datos multivariantes, los datos de cuantificación extraídos con la técnica HNMR pueden ser sometidos a un análisis clasificatorio, por medio de un Análisis de Componentes Principales (ACP), seguido de técnicas como el análisis discriminante ortogonal parcial de mínimos cuadrados (AD-OPMC). Se ha logrado adaptar la identificación de muestras con la clasificación a los grupos a los que pertenecen, en secuencia con un Análisis Jerárquico de Clústeres (AJC) se ha logrado clasificarlas sin el conocimiento previo de su grupo de procedencia de tal manera que se logran clasificaciones de acuerdo al origen geográfico, variedad de las uvas, cosechas y métodos de preparación (Le Mao et al., 2021; Mao et al., 2023).

Mientras en distintos estudios se emplean diversas técnicas para llevar a cabo perfiles metabolómicos, la técnica HNMR permite identificar distintos compuestos en un solo

análisis. Ofrece resultados repetibles en un gran abanico de compuestos; subsecuentemente el ácido láctico es un importante marcador dentro del perfil metabólico del vino, que sirve para formar una huella digital de cada tipo de vino para de esta manera poder diferenciarlos en cuanto a su origen geográfico, también es un marcador de autenticidad porque permite la identificación de falsificaciones. Dentro de este análisis, el ácido láctico se logró identificar por medio de su desplazamiento químico 1.40 ppm, su multiplicidad (d), su constante de acoplamiento $J = 7.0$ Hz que corresponde a los 3 protones del CH₃ del ácido láctico (Le Mao et al., 2023).

En este sentido Gougeon et al. (2019) compararon las dos metodologías (método multitécnica vs el ¹HNMR) para evaluar si la ¹HNMR era una técnica que brinda resultados confiables, para esto desarrollaron un método estadístico s-score similar, en el cual se estableció que un compuesto con s-score > 2, es un compuesto con diferencia significativa, así vinos con S-scores > 4 son vinos no auténticos. De esta manera, para los 3 conjuntos de vinos, con cada método se probó la autenticidad y la falsificación de cada grupo demostrando la concordancia de la multitécnica con el método de NMR. Para brindar resultados fiables, como el ácido láctico es parte del 30% de los metabolitos producidos, y a la vez hace parte de los parámetros discriminantes en los cuales brindó un s-score > 2, este permitió establecer diferencias significativas en el segundo y tercer grupo de conjuntos.

4.1.3. Determinación de ácido láctico en vinos por Espectroscopía Infrarroja

La espectroscopia infrarroja se basa en la interacción de los enlaces con la radiación electromagnética, esta interacción puede ser de transmitancia, absorbancia, dispersión o reflexión debido a una radiación que funciona en la zona infrarroja de la luz. Seleccionando la región específica, los espectros FTIR permiten la clasificación, reconocimiento y análisis de muestras. Esta técnica da resultados gracias a que, a frecuencias específicas, los enlaces de las muestras se excitan a un nivel alto de energía provocando que los enlaces vibren, ya sea en modo de estiramiento o en modo angular. Estas intensidades se reflejan y se registran en los espectros de IR de acuerdo a los grupos funcionales químicos (Indrayanto & Rohman, 2020).

Los espectros obtenidos del FTIR en los alimentos, se deben a los cambios de estado de energía vibracional ocasionados por la absorción en la región media infrarroja que

corresponden a la zona de 4000-666 cm⁻¹, de tal manera que las moléculas absorben radiación infrarroja a las frecuencias que corresponden a su modo de vibración, reflejándose esto en el espectro magnético. El ácido láctico está conformado por grupos funcionales como el OH, su vibración de estiramiento se muestra a 3395,1 cm⁻¹; el grupo carbonilo C=O tiene un enlace de estiramiento que proporciona bandas a 1738-728 cm⁻¹, por lo general picos de absorción a 1718, 1593, 1369 y 1227 cm⁻¹ son fuertes indicadores de acidez (A. Ahmad & Ayub, 2022).

Las pruebas convencionales a la vez que son robustas y tienen una buena precisión tienen la deficiencia, de que requieren de personal altamente capacitado para su manejo, además de que demandan mayor tiempo al momento de realizarlas. El FTIR se presenta como una técnica que requiere de una preparación mínima, al momento de hacer análisis espectroscópicos a la vez que proporcionan la facilidad de realizar más análisis con menos muestras (Dini et al., 2021). Para simplificar aún más este tipo de análisis, se ha incorporado a los equipos de IR celdas de reflectancia total atenuada (RTA) que mejora las longitudes del camino óptico, ayudando a reducir la preparación de las muestras y la nubosidad que ofrecen las celdas de transmisión convencionales (Power et al., 2021).

Como los datos de la FT-IR por si solos ofrecen una baja calibración, para determinar ácido láctico en vinos, se emplean métodos como el modelado independiente suave por analogía de clases (MISAC), que es un modelo basado en componentes principales que hace posible que la FML (que sucede durante o poco después de la fermentación alcohólica) pueda seguirse, ya que en la mayoría de los casos solo necesita conocerse en qué etapa está el proceso, es decir, saber cuándo la fermentación está iniciándose, cuando está en curso y cuando ha finalizado (Marena et al., 2001).

En el estudio llevado a cabo por Canal & Ozen (2017) presentaron un modelo de predicción para el ácido láctico con un R² del 97%, con un valor de validación cruzada de 0,54. Sugiriendo una brecha entre ambos parámetros, aun así, el modelo se considera aceptable con un error de predicción de 87 mg/l, sugiriendo que cuando se requiere monitorear los procesos o productos que del ácido láctico se derivan, las técnicas rápidas son una herramienta útil para concentraciones medianas a altas. La FT-IR en combinación con análisis quimiométricos y técnicas de referencia como la HPLC se convierte en una técnica que permite el estudio de una considerable cantidad de compuestos del vino, la técnica tiene buenas condiciones de repetibilidad, lo cual permite realizar un análisis en el cual la muestra no sufre mayores daños.

La calidad y la autenticidad de los vinos es importante tanto para las bodegas como para los clientes, en este sentido la técnica FT-IR de la mano del análisis multivariante presta su utilidad para detectar la autenticidad y adulteración en base al color, variedad, dulzor y origen de los vinos. La espectroscopía infrarroja acoplada a la espectroscopía uv-vis se convierte también en una herramienta útil y rápida en la determinación de la calidad y autenticidad del vino, permitiendo dentro de las bodegas clasificar de manera rápida a los vinos en base a sus características y así asegurar tambien la calidad a los clientes (BANC et al., 2014).

El contenido de ácido láctico varía entre 0,56 a 2,04 g/l, dependiendo de si los vinos han sido sometidos o no al proceso de FML; el ácido láctico junto a otros subproductos formados o transformados, tiene por tanto diferentes parámetros en longitudes de ondas clave, lo cual sirve para crear funciones discriminantes que maximizan la separación entre clases de vinos, generando límites de clasificación en un espacio dimensional reducido. Así que dependiendo de los límites discriminantes en donde cae la muestra por medio del análisis PCA, se pueden clasificar los vinos (Budziak-Wieczorek et al., 2023).

La FTIR basa sus mediciones en métodos referenciales como el de la cromatografía de exclusión iónica mostrando una fuerte correlación y una gran exactitud en valores de una concentración de ácido láctico mayor a 0,6 g/l y baja exactitud para valores menores a este. Hay que tener en cuenta que la calibración y la validación depende de los componentes que posee la muestras y de la calidad de análisis del método referencial y que además puede mejorarse con una base de distribución de datos más completa (Regmi et al., 2014).

4.1.4. Determinación de ácido láctico en vinos por Electroforesis Capilar

La electroforesis capilar (EC) se basa en la separación de analitos debido a su carga y tamaño entre otras características, esto se logra mediante el flujo de la muestra contenida en un electrolito que fluye a través de un capilar donde el flujo está expuesto a un campo eléctrico, cuando la acción del campo eléctrico incide sobre las partículas en solución, causa un desplazamiento de las mismas (Kartsova et al., 2020; Štěpánová & Kašička, 2024).

La EC ofrece buena resolución, automatización y alta velocidad. La preparación de las muestras en este tipo de método es mínima y los reactivos que se puedan utilizar se usan

en muy baja cantidad. Para analizar ácidos orgánicos, métodos como la electroforesis capilar de zona extensa ha dado resultados excelentes y satisfactorios (Bolshakov & Amelin, 2023; Robles et al., 2019).

Cuando los componentes de las muestras están en grandes cantidades, métodos como la dilución y la filtración son suficientes previo al análisis por electroforesis capilar (Nicolaou & Kapnissi-Christodoulou, 2010). Las matrices biológicas requieren métodos de limpieza o de concentración para preparar las muestras aplicándose técnicas online cuando la técnica es en línea y técnicas offline como la microextracción de fase liquida (MFL) y la microextracción de fase sólida (MFS) (Jarvas et al., 2020).

Para obtener una buena separación se debe jugar con los valores de pH, viscosidad, fuerza iónica del tampón y la longitud del capilar. Además, para ácidos orgánicos, dentro de los cuales está el ácido láctico basta con una dilución 1: 40 y filtración antes del análisis (Robles et al., 2019).

La determinación de ácidos orgánicos conlleva la preparación de electrolitos portadores de fondo, para que por medio de la optimización de su composición facilite determinar los ácidos orgánicos. Castiñeira et al. (2002) prepararon un electrolito basado en fosfato y un electrolito basado en ácido ftálico con bromuro de miristil trimetil amonio (BMTA), que es un modificador de flujo electroosmótico que ayuda a la separación y mejora la resolución de los analitos similares. Entre otros electrolitos útiles para la determinación de ácidos de bajo peso molecular están el cromato, el fosfato y el tetraborato y ácidos como el trimetílico, el piromelítico, y el ftálico entre otros (Castiñeira et al., 2000).

Los tampones de fosfato y de ácido ftálico ofrecen una muy buena resolución cuando se trata de analizar ácidos orgánicos entre los cuales se encuentra el ácido láctico. El rango de pH en el que la movilidad de los solutos fue mejor, fue de entre 5,5 a 6 (Castiñeira et al., 2000, 2002).

El tampón de tetraborato a pH 9,3 también ha demostrado ser eficiente dentro de la EC, ya que en combinación con un modificador de flujo adecuado y el uso de cloruros a base de Ca^{2+} (10 ppm) y Mg^{2+} (10 ppm) que actúan como agentes complejantes, mejoran la resolución de los picos al analizar el ácido láctico junto con otros ácidos orgánicos presentes en el vino (M. de V. G. Moreno et al., 2001; M. V. G. Moreno et al., 2003).

La EC combinada con métodos de detección de la conductividad es efectivo para la detección de ácidos orgánicos, puesto que brinda buenos límites de detección, de

cuantificación y una linealidad satisfactoria ($R^2 > 0.992$). Haciendo de esta una técnica que adicionalmente puede automatizarse, quedando presto para análisis de rutina (Lelova et al., 2018).

La detección indirecta es otro método, por medio del cual, el ácido láctico puede ser identificado usando aniones absorbentes de luz UV, como el ácido 3-nitrobenzoico fuertemente absorbente a 254 nm, los ácidos como el ácido láctico tienen diferentes velocidades de migración que la especie absorbente, por lo que el sistema detecta los analitos cuando la especie absorbente está ausente (Golubenko et al., 2012).

La detección manejada por Castiñeira et al. (2002), es un método caracterizado por ser directo, en el que a una longitud de onda de 185 nm se logra detectar el ácido láctico, proporcionando 35 a 80 veces más sensibilidad que con el método de detección indirecta.

Para analizar adecuadamente el ácido láctico con este tipo de técnica, se realizan curvas de calibración con el uso de disoluciones estándar, representando el área de pico frente a la concentración del ácido láctico para verificar su comportamiento. Para la validación de precisión, se toman muestras de vino con concentraciones estándar conocidas de ácido láctico y por medio del método de adición estándar se verifican los valores estándar (Ivanova-Petropulos et al., 2018).

Pinheiro et al. (2021) desarrollaron un novedoso sistema de electroforesis de microchip ME-C4D para analizar componentes como el ácido láctico, que arroja resultados en menor tiempo (100 segundos) que la EC convencional. También se reduce el consumo de muestra y la producción de residuos. Al tener 85 mm de longitud, presenta una ventaja de portabilidad comparado al sistema de EC convencional; este sistema arrojó resultados equivalentes para varios componentes por ejemplo el ácido láctico con el método ME-C4D arrojó una concentración de $10,5 \pm 0,8$ mmol/l y con la CE-UV $10,5 \pm 0,1$ mmol/l evidenciándose que no son significativamente diferentes para un nivel de confianza del 95%.

Zeravik et al. (2016) escogieron la EC como modelo de referencia para la validación de los resultados de su biosensor, ya que la EC logra identificar unitariamente los compuestos presentes en el vino. El método desarrollado, registró los resultados de un biosensor de lactato oxidasa LOX que midió directamente la concentración del ácido láctico en 31 vinos, encontrando un coeficiente de correlación entre los datos de ambos métodos de 0,9829 lo cual demostró una muy buena concordancia.

La EC al tener poder de identificar no solo el ácido láctico presente en las muestras, sino también a la suma de otros ácidos en el vino, tambien sirve como medio de validación para otro tipo de biosensores como el FUM/SOX que se inhibe debido a las contribuciones de la mayoría de los ácidos presentes. Se puede decir que por esta razón el FUMSOX no proporciona una relación directa para medir ácido láctico como lo hace el biosensor LOX, debido a que este último lo mide directamente (Milovanovic et al., 2019).

4.1.5. Determinación de ácido láctico AL por métodos electroquímicos

Las técnicas como la potenciométrica, la amperométrica y la voltamperométrica son algunas de las tantas variedades en las que se pueden dividir las técnicas electroquímicas (Baranwal et al., 2022).

La potenciometría es aquella que aprovecha las condiciones estáticas que se dan en la superficie de un electrodo de trabajo para producir una señal medible a través de la diferencia de potencial entre el electrodo de trabajo y un electrodo de referencia de modo que esta señal es proporcional a la concentración de un analito en específico (M. S. Ahmad et al., 2024).

Los electrodos selectivos de iones (ESI) son dentro de los métodos potenciométricos los más importantes debido a su aplicabilidad para medir iones en solución, además de tener buena sensibilidad y selectividad (Geană et al., 2020).

Los ESI los hay de distintas características dependiendo de su utilidad (identificación de especies catiónicas o aniónicas) o aplicabilidad en las diversas industrias como la farmacéutica, el análisis de efluentes entre otras y de acuerdo al material de la membrana se clasifican en ESI de vidrio, líquidos o sólidos (Wang, 1988).

La membrana de los que contienen una solución líquida en su interior tiene la facultad de ser semi impermeables permitiéndoles ser selectivas y facilitadoras del transporte de los analitos objetivos una vez pasan de la muestra a la solución líquida se produce una reacción entre el electrolito de cloro en la solución interna y un electrodo de plata que causa una diferencia de potencial (Ruiz-Gonzalez, 2024).

Los electrodos de contacto sólido son otra clase de ESI, son una modificación de los que internamente llevaban la membrana con solución líquida, convirtiéndose en una opción mejor valorada ya que presentan 2 fases: una la de la muestra y otra que era de solución

interna por lo que ya no tiene que calibrarse, mejorando su límite de detección (Hashem & Abdallah, 2024).

El sensor potenciométrico presenta ciertas desventajas al momento de determinar ácido láctico, aunque su límite de detección sea tolerable y su sensibilidad también, el rango lineal en el que opera el instrumento es muy limitado, además al momento de la determinación especies de la misma naturaleza con respecto al analito objetivo se vuelven interferentes lo que limita su selectividad haciendo que diversos caminos y condiciones se deban realizar y/o tener en cuenta para tomar muestras para ser analizadas por este método (García-Guzmán et al., 2022).

Con respecto a las demás técnicas analíticas aptas para medir ácido láctico la técnica electroquímica amperométrica lleva la vanguardia, ya que es simple, directa, útil para análisis en tiempo real. Tiene ventajas como su rápida detección, buena sensibilidad, alta selectividad, es económica y ofrece la opción de ser portable (Rathee et al., 2016).

La amperometría es aquella donde las reacciones redox de las especies electroquímicas contenidas en analitos objetivos, en un electrodo de trabajo producen corriente eléctrica a un potencial fijo (Choudhury, 2020; Jovanovski et al., 2022) .

El potencial aplicado produce una reacción ya sea de oxidación o reducción lo que conlleva a una transferencia de electrones entre el analito y el electrodo, esta transferencia se detecta como corriente, la cual está relacionada con la concentración de los analitos (Bocchetta et al., 2024; Fytory et al., 2025).

Este tipo de celdas electroquímicas están compuestas por un electrodo de trabajo que tiene relación directa con la reacción redox, un electrodo de referencia con un potencial constante y un contraelectrodo para completar el circuito. De esta manera se emite una señal desde un amplificador de control al electrodo de referencia permitiendo controlar automáticamente la corriente a través del contraelectrodo (Grasso et al., 2025).

El desarrollo de los electrodos comenzó a la par que los electrodos de mercurio, pero como estos requieren de adecuada instrucción para su manipulación, los electrodos de película de metal han visto su auge; siendo desarrollados y probados en distintos materiales mostrando buenos resultados en la detección de metales y ácidos orgánicos (Jovanovski et al., 2022).

Los materiales como el carbón, metales nobles y aniones pueden aprovecharse para formar sensores de gran interés para la comunidad científica, que pueden ser empleados en diversos campos operacionales (Chen et al., 2023; Sheraz Ahmad et al., 2023).

Los electrodos por si solos, muchas veces no ofrecen características adecuadas para detectar analitos. Para producir una sinergia, se recurre a modificar químicamente la superficie de los mismos, mejorando por un lado la sensibilidad por medio de la modificación de la transferencia de velocidad junto con la actividad electrocatalítica y por el otro la selectividad haciendo que adquiera preferencia por cierto tipo de analitos (Tomac et al., 2024).

Las técnicas electroanalíticas como la potenciometría, la voltamperometría y la amperometría pueden ser acopladas a sistemas de inyección de flujo (Trojanowicz & Pyszynska, 2022), de esta manera las muestras pueden ser pipeteadas a las celdas donde ocurre la medición analítica, la cual puede efectuarse por medio de una curva de calibración, consiguiendo que se aumente la velocidad del análisis y disminuya la equivocación del analista (Haššo & Švorc, 2022).

Los analitos según su naturaleza también son propicios de ser detectados a través de bioreceptores cuando los electrodos se pueden valer de estos, se convierten en biosensores. Es usual que en electroquímica se utilicen enzimas redox por su buena sensibilidad y selectividad. Cuando los sensores usan materiales como enzimas, orgánulos o microorganismos adquieren la facultad de convertirse en catalíticos, puesto que funcionan en base a la reducción o a la oxidación de los analitos objetivos en la superficie del electrodo para su reconocimiento. En cambio, cuando usan materiales como anticuerpos y ácidos nucleicos, se convierten en biosensores no catalíticos, por el hecho de que se unen de acuerdo a la afinidad que tengan con los analitos, ya sea que se dé una reacción de oxidación, reducción o se dé una unión por afinidad, esto causa que el electrodo en conjunto emita una señal medible (Wijayanti et al., 2023).

La técnica voltamperométrica es una variación de la amperometría que utiliza los mismos instrumentos, pero se la utiliza más bien para caracterizar previamente una muestra o solución, para luego trabajar vía amperométrica, la cual permite medir los analitos en el tiempo (Wang, 2006).

La voltamperometría permite analizar una muestra haciendo un barrido exploratorio variando el potencial, haciendo esto se consigue investigar los picos de corriente que son

producidos a determinados potenciales. Como a cada tipo de analito le corresponde un potencial distintivo, cuando se produce un pico de corriente a un determinado potencial es porque se está identificando el analito correspondiente a ese potencial. Los potenciales indican de que analito se trata, mientras que los picos de corriente determinan en qué cantidad está presente el analito (Maloy, 1983).

Las técnicas electroquímicas son sensibles, pueden utilizarse varias veces lo que incluso las hace útiles para mediciones *in situ*, específicamente la técnica amperométrica es fácil de monitorear, no requiere de conocimientos avanzados y como su respuesta es rápida se convierte en una técnica idónea por sus prestaciones (Pandiyarajan et al., 2025).

A continuación, se describe los últimos estudios con respecto al diseño de biosensores.

Istrate et al. (2021) desarrollaron un biosensor para inmovilizar L-lactato deshidrogenasa (LDH) en un electrodo, sus partes constaron básicamente de un electrodo serigrafiado que contenía un polielectrolito para recubrir el electrodo e inmovilizar la biomolécula, óxido de grafeno, para unir la LDH a la superficie del electrodo y nanopartículas de metal para prevenir la agregación del grafeno y colaborar para que el NADH sea detectado. De entre los dos métodos de inmovilización que se utilizaron para incrustar la enzima, se escogió el que era capaz de brindar un mayor pico de corriente, siendo en el que la enzima se unía después de que todos los compuestos estaban ya vinculados al electrodo.

Los electrodos de grafeno también fueron aprovechados por Smutok et al. (2022) usando LOx en concatenación de nanoenzimas miméticas de peroxidasa, para poder realizar una eficiente reducción del peróxido de hidrógeno producido por la LOx, debido a que la nanoenzima contiene platino, que le proporciona buenas características catalizadoras. El electrodo se probó en muestras de mosto y vino tinto, mostrando una sensibilidad 2.8 veces más alta que los sensores convencionales y una selectividad por el lactato que lo hace factible no solo para análisis de alimentos, sino también clínicos.

El monitoreo de los ácidos mágico y láctico al mismo tiempo, fue llevado a cabo por (Gamella et al., 2010), empleando 2 biosensores a la misma vez. El biosensor que detectaba ácido mágico estaba compuesto por un disco de oro (Au) recubierto con ácido mercapto-propiónico (AMP), con Tetrathiafulvaleno (TTF) como mediador y 2 enzimas inmovilizadas Malato deshidrogenasa (MDH), Diaforasa (DP) inmovilizadas y el biosensor que detectaba el ácido láctico (Au) (AMP) (TTF) y como enzimas inmovilizadas Lactato oxidasa (LOx) y

Peroxidasa de rábano picante (PRP), cuyas reacciones en cascada permiten cuantificar al ácido málico y al ácido láctico.

De igual manera Giménez-Gómez et al. (2020) desarrollaron un método biparamétrico, utilizando dos biosensores para medir al mismo tiempo el L-lactato que se produce y el L-malato que se convierte en la MLF. Su estructura es novedosa porque básicamente pone los biosensores en un chip de silicio de $11 \times 9 \text{ mm}^2$. En su interior están un contraelectrodo, dos electrodos de trabajo y el electrodo de pseudo-referencia; todo dentro de una celda electroquímica de $15 \mu\text{l}$ de volumen, con microcanales a través de los cuales fluye la muestra misma que permite fluir la corriente entre los electrodos de trabajo y el contraelectrodo.

La combinación de materiales, de acuerdo a sus prestaciones, es útil para mejorar las características de los biosensores. Por ejemplo al electrodeponer paladio y platino en electrodos de carbono, cada vez que se media corriente en soluciones cada vez más concentradas de peróxido de hidrógeno, se presentó un incremento en la corriente más alta de lo que normalmente lo harían sin esta adhesión, demostrado que la sensibilidad aumenta; así al inmovilizar LOx en ellos, su respuesta por el lactato también mejora y si además se agregan enzimas como lactitol y dextrano mejoran el desempeño de los electrodos lo largo del tiempo (Shkotova et al., 2019).

También es posible fabricar sensores sin enzimas. Shao et al. (2022) elaboraron un sensor electroquímico teniendo como base un electrodo de carbono vitreoso, que utilizando nanotubos de carbono multipared mezclados con polifthalocianina de cobalto, crearon un nanocompuesto que no solo termina siendo protector de los mismos nanotubos sino que mejora la transferencia de carga. Usando nafion como aglutinante (del nanocompuesto y el copolímero), se mejora la selectividad del electrodo hacia el ácido láctico, con un amplio rango de detección (10 a $240 \mu\text{M}$) y con un límite de detección de $2 \mu\text{M}$.

Los electrodos de carbono vitreoso también pueden ser modificados con óxido de níquel, al tener esta modificación presentan una alta sensibilidad, obteniendo una respuesta lineal ideal para trabajar en un rango de concentraciones de $0,005$ – 5 mM . Además, presenta una buena estabilidad, con un límite de detección de $5,7 \mu\text{M}$. Cabe decir que de entre los demás analitos presentes en las muestras, el electrodo muestra su preferencia por el ácido láctico. Demostrando su selectividad para medirlo en muestras como lácteos y vinos (Amin et al., 2019).

El electrodo de carbono vítreo cuando se modifica con moléculas de oro y óxido de grafeno sirve de base para electrodeponer poli(o-fenilendiamina) en su superficie de esta manera se fabrica un electrodo capaz de medir ácido láctico utilizando hexacianoferrato, de manera que en ausencia de ácido láctico muestre una corriente mayor de lo que lo hace cuando el ácido está presente. El electrodo muestra una respuesta líneal para concentraciones de ácido láctico que van de 0,1 nM a 1,0 nM con un límite de detección de 0,09 nM (Pereira & Stradiotto, 2019).

La potenciometría en combinación con cromatografía de exclusión iónica, es útil para identificar una serie de ácidos orgánicos como el ácido láctico presente en vinos y lácteos. Cuando el eluyente que sale del cromatógrafo recibe la acción de NH₃ gas con el fin de subir el pH y poder identificar los ácidos, conforme eluyen con el tiempo presentan una disminución de la señal de pH, lo interesante de este sistema es que no requiere calibración mediante analitos estándar, ya que por medio de una ecuación matemática se logra determinar las concentraciones de los analitos dentro del 5% del valor real (Ohira et al., 2021).

4.2. Método oficial para la determinación de ácido láctico en vinos

El método oficial OIV-MA-AS313-07 (Tipo II) para la determinación de ácido láctico es el referente oficial para la determinación de L-ácido láctico, D- láctico y ácido láctico total. El método se basa en la identificación del dinucleótido de nicotinamida y adenina reducida (NADH), el cual se produce al reaccionar el L-lactato y el D-lactato presentes en una muestra líquida con el dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) catalizados por las enzimas L-lactato deshidrogenasa (L-LDH) y D-lactato deshidrogenasa (D-LDH) respectivamente. Como las reacciones anteriormente mencionadas producen además de NADH, piruvato, para que no queden en equilibrio tendiendo hacia los lactatos en lugar de al piruvato, se transforma el piruvato en L-alanina con la ayuda de una solución tampón de L-glutamato junto con glutamato-piruvato-transaminasa (GPT) como catalizador.

Las soluciones de L-glutamato, NAD y GPT se adicionan en unas cubetas de vidrio que se analizan a una longitud de onda de 340 nm en un espectrofotómetro con lo cual se obtiene un primer registro de absorbancias para una cubeta de referencia (sin muestra) y una cubeta con muestra. Luego a estas cubetas se les agrega L-LDH, se analizan en el

espectrofotómetro con lo que se obtiene un segundo registro. Por último, se les agrega D-LDH y se analizan en el espectrofotómetro y se obtiene un tercer registro.

Se calcula la diferencia entre las absorbancias del primer registro y del segundo registro en las celdas de referencia y muestra, la concentración de L-ácido láctico se calcula por medio de una ecuación proporcional a la diferencia entre la diferencia de absorbancias de estas muestras y la diferencia de absorbancias de estas referencias.

Se calcula la diferencia entre las absorbancias del segundo registro y del tercer registro en las celdas de referencia y muestra, la concentración de D-ácido láctico se calcula por medio de una ecuación proporcional a la diferencia entre la diferencia de absorbancias de estas muestras y la diferencia de absorbancias de estas referencias.

Se calcula la diferencia entre las absorbancias del primer registro y del tercer registro en las celdas de referencia y muestra, la concentración de ácido láctico total se calcula por medio de una ecuación proporcional a la diferencia de absorbancias de estas muestras y la diferencia de absorbancias de estas referencias.

5. CONCLUSIONES

El HPLC es una técnica tradicional para medir ácido láctico en bebidas, se destaca por su poder de cuantificación, pero por el hecho de ser una técnica de especial conocimiento no es práctico para ser usado en análisis de rutina este hecho se aprovecha más bien para validar métodos considerados rutinarios en los que el HPLC es usado como su referente.

El método HNMR es un método relevante puesto que permite sustituir a los métodos multitécnica ya que brinda resultados equiparables haciendo eficientes los procesos de laboratorio.

El método HNMR en combinación con los datos estadísticos (de los cuales el ácido láctico hace parte) y los ACP es el más adecuado para llevar a cabo pruebas de trazabilidad como el origen geográfico de los vinos, identificación de vinos e identificación de falsificaciones.

El FTIR es una técnica que necesita apoyarse de técnicas quimiométricas para poder realizar cuantificaciones de analitos como el ácido láctico, valiéndose de estas técnicas y de otros compuestos o características del vino, también sirve para clasificación y aseguramiento de la calidad de los vinos.

Los métodos electroquímicos por su facilidad de operación requieren menos preparación especializada para su manejo, facilitando su uso por cualquier personal de un equipo de trabajo, además son métodos de rápida determinación y precisos en su cuantificación. Los métodos electroquímicos son interesantes puesto que ofrecen versatilidad a la hora de cuantificar ácido láctico, es decir, pueden servir para procesos in-situ en los que se requiere usarlo para realizar medidas en planta o también para mediciones que se requieren hacer en laboratorio.

6. . BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Rahman, M. A., Tashiro, Y., & Sonomoto, K. (2013). Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. In *Biotechnology Advances* (Vol. 31, Issue 6, pp. 877–902). <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.04.002>
- Abdullah, Wardhani, D. H., & Amalia, Y. (2024). Optimization of substrate concentration and inoculum concentration from banana peel on the production of L-lactic acid using *Lactobacillus plantarum* strain FNCC 0020. *AIP Conference Proceedings*, 3074(1). <https://doi.org/10.1063/5.0213555>
- Aguirre-Garcia, Y. L., Nery-Flores, S. D., Campos-Muzquiz, L. G., Flores-Gallegos, A. C., Palomo-Ligas, L., Ascacio-Valdés, J. A., Sepúlveda-Torres, L., & Rodríguez-Herrera, R. (2024). Lactic Acid Fermentation in the Food Industry and Bio-Preservation of Food. In *Fermentation* (Vol. 10, Issue 3). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/fermentation10030168>
- Ahmad, A., & Ayub, H. (2022). Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) Technique for Food Analysis and Authentication. In *Nondestructive Quality Assessment Techniques for Fresh Fruits and Vegetables* (pp. 103–142). Springer Nature. https://doi.org/10.1007/978-981-19-5422-1_6
- Ahmad, A., Banat, F., & Taher, H. (2020). A review on the lactic acid fermentation from low-cost renewable materials: Recent developments and challenges. In *Environmental Technology and Innovation* (Vol. 20). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101138>
- Ahmad, M. S., Chen, C.-L., & Shih, Y.-J. (2024). Electrochemical Sensors. In *Handbook of Nanosensors* (pp. 1–33). Springer Nature Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-031-16338-8_17-1
- Åkerberg, C., Hofvendahl, K., Zacchi, G., & Hahn-Hägerdal, B. (1998). Modelling the influence of pH, temperature, glucose and lactic acid concentrations on the kinetics of lactic acid production by *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ATCC 19435 in whole-wheat flour. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 49(6), 682–690.
- Almeida dos Anjos, V. H., de Brito Araújo Carvalho, A. J., Prudêncio Dutra, M. da C., Cândido da Silva, M. C., Santos Leite Neta, M. T., Cardoso Viana, A., & dos Santos Lima, M. (2024). Effect of commercial *Saccharomyces cerevisiae* and non-*Saccharomyces* yeasts on the chemical composition and bioaccessibility of pineapple wine. *Food Research International*, 194. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114888>

- Amin, S., Tahira, A., Solangi, A., Mazzaro, R., Ibupoto, Z. H., & Vomiero, A. (2019). A sensitive enzyme-free lactic acid sensor based on NiO nanoparticles for practical applications. *Analytical Methods*, 11(28), 3578–3583.
<https://doi.org/10.1039/c9ay00516a>
- Ángeles Pozo-Bayón, M., Pardo, I., Ferrer, S., & Moreno-Arribas, V. (2009). Molecular approaches for the identification and characterisation of oenological lactic acid bacteria. *African Journal of Biotechnology*, 8(17), 3995–4001.
<http://www.academicjournals.org/AJB>
- Antalick, G., Perello, M. C., & De Revel, G. (2012). Characterization of fruity aroma modifications in red wines during malolactic fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(50), 12371–12383. <https://doi.org/10.1021/jf303238n>
- Anumudu, C. K., Miri, T., & Onyeaka, H. (2024). Multifunctional Applications of Lactic Acid Bacteria: Enhancing Safety, Quality, and Nutritional Value in Foods and Fermented Beverages uno. In *Foods* (Vol. 13, Issue 23). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/foods13233714>
- Anuradha, R., Suresh, A. K., & Venkatesh, K. V. (1999). Simultaneous saccharification and fermentation of starch to lactic acid. In *Process Biochemistry* (Vol. 35).
www.elsevier.com/locate/procbio
- Aristidou, A., & Penttilä, M. (2000). Metabolic engineering applications to renewable resource utilization. *Current Opinion in Biotechnology*, 11(2), 187–198.
- BANC, R., LOGHIN, F., MIERE, D., FETEA, F., & SOCACIU, C. (2014). Romanian Wines Quality and Authenticity Using FT-MIR Spectroscopy Coupled with Multivariate Data Analysis. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42(2), 556–564.
<https://doi.org/10.15835/nbha4229674>
- Baranwal, J., Barse, B., Gatto, G., Broncova, G., & Kumar, A. (2022). Electrochemical Sensors and Their Applications: A Review. In *Chemosensors* (Vol. 10, Issue 9). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
<https://doi.org/10.3390/chemosensors10090363>
- Bartowsky, E. J. (2014). Wines: Malolactic Fermentation. In *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition* (pp. 800–804). Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00357-8>
- Bocchetta, P., Othman, A., Gupta, M., Andriani, G., Martin, P., Kumar, Y., Joly, N., Sacco, P., & Sufyan Javed, M. (2024). Chitosan in electrochemical (bio)sensors: nanostructuring

and methods of synthesis. In *European Polymer Journal* (Vol. 213). Elsevier Ltd.

<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2024.113092>

Bolshakov, D. S., & Amelin, V. G. (2023). Capillary Electrophoresis in Assessing the Quality and Safety of Foods. In *Journal of Analytical Chemistry* (Vol. 78, Issue 7, pp. 815–855). Pleiades Publishing. <https://doi.org/10.1134/S106193482307002X>

Budziak-Wieczorek, I., Mašán, V., Rząd, K., Gładyszewska, B., Karcz, D., Burg, P., Čížková, A., Gagoś, M., & Matwijczuk, A. (2023). Evaluation of the Quality of Selected White and Red Wines Produced from Moravia Region of Czech Republic Using Physicochemical Analysis, FTIR Infrared Spectroscopy and Chemometric Techniques. *Molecules*, 28(17). <https://doi.org/10.3390/molecules28176326>

Cai, H., Tao, L., Zhou, X., Liu, Y., Sun, D., Ma, Q., Yu, Z., & Jiang, W. (2024). Lactic acid bacteria in fermented fish: Enhancing flavor and ensuring safety. *Journal of Agriculture and Food Research*, 16. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101206>

Canal, C., & Ozen, B. (2017). Monitoring of Wine Process and Prediction of Its Parameters with Mid-Infrared Spectroscopy. *Journal of Food Process Engineering*, 40(1). <https://doi.org/10.1111/jfpe.12280>

Castiñeira, A., Peña, R. M., Herrero, C., & García-Martín, S. (2000). Simultaneous determination of organic acids in wine samples by capillary electrophoresis and UV detection: Optimization with five different background electrolytes. *HRC Journal of High Resolution Chromatography*, 23(11), 647–652. [https://doi.org/10.1002/1521-4168\(20001101\)23:11<647::AID-JHRC647>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/1521-4168(20001101)23:11<647::AID-JHRC647>3.0.CO;2-Z)

Castiñeira, A., Peña, R. M., Herrero, C., & García-Martín, S. (2002). Analysis of organic acids in wine by capillary electrophoresis with direct UV detection. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15(3), 319–331. <https://doi.org/10.1006/jfca.2002.1056>

Chen, K. L., Ahmad, M. S., & Chen, C. L. (2023). Enhanced nitrate reduction over functionalized Pd/Cu electrode with tunable conversion to nitrogen and sodium hydroxide recovery. *Science of the Total Environment*, 869. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161849>

Choudhury, S. (2020). Molecular tools for the detection of waterborne pathogens. In *Waterborne Pathogens: Detection and Treatment* (pp. 219–235). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818783-8.00012-8>

da Silva, L. A., Flumignan, D. L., Pezza, H. R., & Pezza, L. (2019). ¹H NMR spectroscopy combined with multivariate data analysis for differentiation of Brazilian lager beer

according to brewery. *European Food Research and Technology*, 245(11), 2365–2372.
<https://doi.org/10.1007/s00217-019-03354-5>

Delač Salopek, D., Vrhovsek, U., Carlin, S., Radeka, S., & Lukić, I. (2024). In-Depth Characterization of the Volatile Aroma Profile and Other Characteristics of White Wine Produced by Sequential Inoculation with a *Lachancea thermotolerans* Starter Yeast Strain. *Fermentation*, 10(10). <https://doi.org/10.3390/fermentation10100515>

Ding, Y., Wang, L., Gao, Y., Zhang, Z., Song, Y., Wang, H., & Li, H. (2024). Microbial succession during spontaneous fermentation of Ecolly grapes and their important contribution to flavor metabolites. *Food Bioscience*, 62.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.105149>

Dini, I., Di Lorenzo, R., Senatore, A., Coppola, D., & Laneri, S. (2021). Comparison between mid-infrared (Atr-ftir) spectroscopy and official analysis methods for determination of the concentrations of alcohol, so₂, and total acids in wine. *Separations*, 8(10).
<https://doi.org/10.3390/separations8100191>

Fytory, M., Giannetti, A., Baldini, F., Berneschi, S., Marcucci, N., Trono, C., & Tombelli, S. (2025). Glass-based microfluidics in biosensing and bioassays: from fabrication techniques to application to bacteria detection. *Optical Materials*, 167.
<https://doi.org/10.1016/j.optmat.2025.117350>

Gamella, M., Campuzano, S., Conzuelo, F., Curiel, J. A., Muñoz, R., Reviejo, A. J., & Pingarrón, J. M. (2010). Integrated multienzyme electrochemical biosensors for monitoring malolactic fermentation in wines. *Talanta*, 81(3), 925–933.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.01.038>

García-Guzmán, J. J., Sierra-Padilla, A., Palacios-Santander, J. M., Fernández-Alba, J. J., Macías, C. G., & Cubillana-Aguilera, L. (2022). What Is Left for Real-Life Lactate Monitoring? Current Advances in Electrochemical Lactate (Bio)Sensors for Agrifood and Biomedical Applications. In *Biosensors* (Vol. 12, Issue 11). MDPI.
<https://doi.org/10.3390/bios12110919>

García-Ruiz, A., Bartolomé, B., Martínez-Rodríguez, A. J., Pueyo, E., Martín-Álvarez, P. J., & Moreno-Arribas, M. V. (2008). Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. In *Food Control* (Vol. 19, Issue 9, pp. 835–841).
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.08.018>

Geană, E. I., Ciucure, C. T., & Apetrei, C. (2020). Electrochemical sensors coupled with multivariate statistical analysis as screening tools for wine authentication issues: A review. *Chemosensors*, 8(3). <https://doi.org/10.3390/CHEMOSENSORS8030059>

- Giménez-Gómez, P., Gutiérrez-Capitán, M., Capdevila, F., Puig-Pujol, A., Jiménez-Jorquera, C., & Fernández-Sánchez, C. (2020). Compact analytical flow system for the simultaneous determination of L-lactic and L-malic in red wines. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76502-7>
- Golubenko, A. M., Nikonorov, V. V., & Nikitina, T. G. (2012). Determination of hydroxycarboxylic acids in food products by capillary electrophoresis. *Journal of Analytical Chemistry*, 67(9), 778–782. <https://doi.org/10.1134/S1061934812090055>
- Gougeon, L., da Costa, G., Richard, T., & Guyon, F. (2019). Wine authenticity by quantitative ¹H NMR versus multitechnique analysis: A case study. *Food Analytical Methods*, 12(4), 956–965. <https://doi.org/10.1007/s12161-018-01425-z>
- Grasso, S., Di Loreto, M. V., Zompanti, A., Ciarrocchi, D., De Gara, L., Pennazza, G., Vollero, L., & Santonico, M. (2025). Intelligent Electrochemical Sensing: A New Frontier in On-the-Fly Coffee Quality Assessment. *Chemosensors*, 13(1). <https://doi.org/10.3390/chemosensors13010024>
- Hashem, H. M., & Abdallah, A. B. (2024). A rational study of transduction mechanisms of different materials for all solid contact-ISEs. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-55729-8>
- Haššo, M., & Švorc, L. (2022). Batch injection analysis in tandem with electrochemical detection: the recent trends and an overview of the latest applications (2015–2020). In *Monatshefte für Chemie* (Vol. 153, Issue 11, pp. 985–1000). Springer. <https://doi.org/10.1007/s00706-022-02898-9>
- Horská, E., & Rebič, T. (2018). ATTRIBUTES OF WINE ASSESSMENT. In E. Horská, Z. Kapsdorferová, & M. Hallová (Eds.), *International Scientific Days 2018. Towards Productive, Sustainable and Resilient Global Agriculture and Food Systems. Conference Proceedings* (pp. 649–659). Wolters Kluwer ČR.
- Huang, L. P., Jin, B., Lant, P., & Zhou, J. (2003). Biotechnological production of lactic acid integrated with potato wastewater treatment by Rhizopus arrhizus. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 78(8), 899–906. <https://doi.org/10.1002/jctb.877>
- Indrayanto, G., & Rohman, A. (2020). The Use of FTIR Spectroscopy Combined with Multivariate Analysis in Food Composition Analysis. In A. K. Shukla (Ed.), *Spectroscopic Techniques & Artificial Intelligence for Food and Beverage Analysis* (1st ed., pp. 25–51). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-6495-6_2

- Istrate, O. M., Rotariu, L., & Bala, C. (2021). Amperometric L-Lactate biosensor based upon a gold nanoparticles/reduced graphene oxide/polyallylamine hydrochloride modified screen-printed graphite electrode. *Chemosensors*, 9(4).
<https://doi.org/10.3390/chemosensors9040074>
- Ivanova-Petropulos, V., Naceva, Z., Sándor, V., Makszin, L., Deutsch-Nagy, L., Berkics, B., Stafilov, T., & Kilár, F. (2018). Fast determination of lactic, succinic, malic, tartaric, shikimic, and citric acids in red Vranec wines by CZE-ESI-QTOF-MS. *Electrophoresis*, 39(13), 1597–1605. <https://doi.org/10.1002/elps.201700492>
- Jarvas, G., Guttman, A., Miękus, N., Bączek, T., Jeong, S., Chung, D. S., Pätoprsty, V., Masár, M., Hutta, M., Datinská, V., & Foret, F. (2020). Practical sample pretreatment techniques coupled with capillary electrophoresis for real samples in complex matrices. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 122.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115702>
- Jastrzębska, A. (2022). Determination of home-made wine selected parameters and study of honey addition impact on pro-healthy components content. *European Food Research and Technology*, 248(4), 963–973. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03934-4>
- Jodłowski, G. S., & Strzelec, E. (2021). Use of glycerol waste in lactic acid bacteria metabolism for the production of lactic acid: State of the art in Poland. In *Open Chemistry* (Vol. 19, Issue 1, pp. 998–1008). De Gruyter Open Ltd.
<https://doi.org/10.1515/chem-2021-0073>
- Jovanovski, V., Xhanari, K., & Finšgar, M. (2022). Editorial: Recent advances of metal-film electrodes for trace electrochemical analysis. In *Frontiers in Chemistry* (Vol. 10). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.973672>
- Kartsova, L. A., Makeeva, D. V., & Bessonova, E. A. (2020). Current Status of Capillary Electrophoresis. *Journal of Analytical Chemistry*, 75(12), 1497–1513.
<https://doi.org/10.1134/S1061934820120084>
- Komesu, A., Allan Rocha de Oliveira, J., Helena da Silva Martins, L., Regina Wolf Maciel, M., & Maciel Filho, R. (2017). Lactic Acid Production to Purification: A Review. In *BioResources* (Vol. 12, Issue 2).
- Larsen, F. H., Van Den Berg, F., & Engelsen, S. B. (2006). An exploratory chemometric study of ^1H NMR spectra of table wines. *Journal of Chemometrics*, 20(5), 198–208.
<https://doi.org/10.1002/cem.991>

- Le Mao, I., Da Costa, G., Bautista, C., de Revel, G., & Richard, T. (2023). Application of ^1H NMR metabolomics to French sparkling wines. *Food Control*, 145. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109423>
- Le Mao, I., Martin-Pernier, J., Bautista, C., Lacampagne, S., Richard, T., & Da Costa, G. (2021). ^1H -NMR metabolomics as a tool for winemaking monitoring. *Molecules*, 26(22). <https://doi.org/10.3390/molecules26226771>
- Lee, B. L., Rout, M., Dong, Y., Lipfert, M., Berjanskii, M., Shahin, F., Bhattacharyya, D., Selim, A., Mandal, R., & Wishart, D. S. (2024). Automatic Chemical Profiling of Wine by Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *ACS Food Science and Technology*, 4(8), 1937–1949. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.4c00298>
- Lelova, Z., Ivanova-Petropulos, V., Masár, M., Lisjak, K., & Bodor, R. (2018). Optimization and Validation of a New Capillary Electrophoresis Method with Conductivity Detection for Determination of Small Anions in Red Wines. *Food Analytical Methods*, 11(5), 1457–1466. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-1117-6>
- Lerm, E., Engelbrecht, L., & Du Toit, M. (2010). Malolactic Fermentation: The ABC's of MLF. *J. Enol. Vitic.*, 31(2), 186–207.
- Liu, X., & Narbad, A. (2018). Lactic acid bacteria-based food fermentations. In *Lactic Acid Bacteria in Foodborne Hazards Reduction: Physiology to Practice* (pp. 141–181). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-1559-6_6
- Maloy, J. T. (1983). *Voltammetry Factors Affecting the Shape of Current-Potential Curves* (Vol. 60). UTC. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>
- Mao, I., Le, Da Costa, G., & Richard, T. (2023). ^1H -NMR metabolomics for wine screening and analysis. In *Oeno One* (Vol. 57, Issue 1, pp. 15–31). International Viticulture and Enology Society. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2023.57.1.7134>
- Marena, M., A, V. Z., & E.E.H, W. (2001). 6.The evaluation of the applicability. *South African Society for Enology and Viticulture*, 22(2), 93–100. <https://doi.org/10.21548/22-2-2201>
- Matsumoto, S., Breniaux, M., Claisse, O., Gotti, C., Bourassa, S., Droit, A., Deleris-Bou, M., Krieger, S., Weidmann, S., Rudolf, J., & Lucas, P. (2022). The production of preconditioned freeze-dried *Oenococcus oeni* primes its metabolism to withstand environmental stresses encountered upon inoculation into wine. *International Journal of Food Microbiology*, 369. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109617>

- Milovanovic, M., Žeravík, J., Obořil, M., Pelcová, M., Lacina, K., Cakar, U., Petrovic, A., Glatz, Z., & Skládal, P. (2019). A novel method for classification of wine based on organic acids. *Food Chemistry*, 284, 296–302.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.113>
- Mira de Orduña, R. (2010). Climate change associated effects on grape and wine quality and production. *Food Research International*, 43(7), 1844–1855.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.05.001>
- Moreno, M. de V. G., Campoy, C. J. J., & Barroso, C. G. (2001). Method devised for determining low molecular weight organic acids in vinic samples by capillary electrophoresis: Validation of the method with real samples. *European Food Research and Technology*, 213(4–5), 381–385. <https://doi.org/10.1007/s002170100398>
- Moreno, M. V. G., Jurado, / C J, & Barroso, / C G. (2003). *Determination of Organic Acids by Capillary Electrophoresis with Simultaneous Addition of Ca and Mg as Complexing Agents* (Vol. 57).
- Muñoz, R., Moreno-Arribas, M. V., & Rivas, B. de las. (2011). Lactic Acid Bacteria. In *Molecular Wine Microbiology* (pp. 191–226). Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375021-1.10008-6>
- Nakano, S., Ugwu, C. U., & Tokiwa, Y. (2012). Efficient production of d-(–)-lactic acid from broken rice by *Lactobacillus delbrueckii* using Ca(OH) 2 as a neutralizing agent. *Bioresource Technology*, 104, 791–794.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.10.017>
- Nicolaou, I. N., & Kapnissi-Christodoulou, C. P. (2010). Analysis of polyphenols using capillary zone electrophoresis - Determination of the most effective wine sample pre-treatment method. *Electrophoresis*, 31(23–24), 3895–3902.
<https://doi.org/10.1002/elps.201000316>
- Ocaña-Rios, I., Ruiz-Terán, F., García-Aguilera, M. E., Tovar-Osorio, K., Rodríguez De San Miguel, E., & Esturau-Escofet, N. (2021). Comparison of two sample preparation methods for 1H-NMR wine profiling: Direct analysis and solid-phase extraction. *Vitis - Journal of Grapevine Research*, 60(2), 69–75.
<https://doi.org/10.5073/vitis.2021.60.69-75>
- Ohira, S. I., Sato, Y., Horiuchi, K., Shelor, C. P., & Toda, K. (2021). Indirect Potentiometric pH Detection of Weak Acids with Absolute Quantitation by a Theoretical Approach. *Analytical Chemistry*, 93(36), 12305–12311.
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c01987>

- Oziegbe, O., Azeta, J. I., & Obafemi, Y. D. (2024). Functional Use of Lactic Acid in Food Fermentation: Overview, Current Trends and Future Perspectives. In *Tropical Journal of Natural Product Research* (Vol. 8, Issue 11, pp. 8955–8966). Faculty of Pharmacy, University of Benin. <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v8i11.2>
- Pandiyarajan, C., Yusoff, N., Seikh, A. H., Rameshkumar, P., Karim, M. R., Murugesan, S., Dhanabalan, K., & Oh, T. H. (2025). Electrochemical properties of silver nanoparticles decorated aminosilicate functionalized TiO₂ nanocomposite in hydrazine sensing. *Physica B: Condensed Matter*, 699. <https://doi.org/10.1016/j.physb.2024.416818>
- Pereira, T. C., & Stradiotto, N. R. (2019). Electrochemical sensing of lactate by using an electrode modified with molecularly imprinted polymers, reduced graphene oxide and gold nanoparticles. *Microchimica Acta*, 186(12). <https://doi.org/10.1007/s00604-019-3898-3>
- Pinheiro, K. M. P., Duarte, L. M., Duarte-Junior, G. F., & Coltro, W. K. T. (2021). Chip-based separation of organic and inorganic anions and multivariate analysis of wines according to grape varieties. *Talanta*, 231. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122381>
- Power, A. C., Chapman, J., Chandra, S., Roberts, J. J., Dambergs, R., & Cozzolino, D. (2021). The assessment of grape products (berry, juice, and wine) quality using vibrational spectroscopy coupled with multivariate analysis. In *Managing Wine Quality: Volume One: Viticulture and Wine Quality* (pp. 187–206). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102067-8.00004-X>
- Rathee, K., Dhull, V., Dhull, R., & Singh, S. (2016). Biosensors based on electrochemical lactate detection: A comprehensive review. In *Biochemistry and Biophysics Reports* (Vol. 5, pp. 35–54). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2015.11.010>
- Rawoof, S. A. A., Kumar, P. S., Vo, D. V. N., Devaraj, K., Mani, Y., Devaraj, T., & Subramanian, S. (2021). Production of optically pure lactic acid by microbial fermentation: a review. In *Environmental Chemistry Letters* (Vol. 19, Issue 1, pp. 539–556). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01083-w>
- Regmi, U., Rai, K. P., & Palma, M. (2014). Determination of Organic Acids in Wine and Spirit Drinks by Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy. *Journal of Food Science and Technology Nepal*, 7, 36–43.
- Richter, K., & Berthold, ; C. (1998). Biotechnological Conversion of Sugar and Starchy Crops into Lactic Acid. In *J. agric. Engng Res* (Vol. 71).

- Robles, A., Fabjanowicz, M., Chmiel, T., & Płotka-Wasylka, J. (2019). Determination and identification of organic acids in wine samples. Problems and challenges. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 120. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115630>
- Ruiz-Gonzalez, A. (2024). Ion-Selective Electrodes in the Food Industry: Development Trends in the Potentiometric Determination of Ionic Pollutants. In *Electrochem* (Vol. 5, Issue 2, pp. 178–212). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/electrochem5020012>
- Saurina, J. (2010). Characterization of wines using compositional profiles and chemometrics. In *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* (Vol. 29, Issue 3, pp. 234–245). <https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.11.008>
- Sgouros, G., Mallouchos, A., Filippousi, M. E., Banilas, G., & Nisiotou, A. (2020). Molecular characterization and enological potential of a high lactic acid-producing *lachancea thermotolerans* vineyard strain. *Foods*, 9(5). <https://doi.org/10.3390/foods9050595>
- Shao, W., Mai, J., & Wei, Z. (2022). Nonenzymatic Lactic Acid Detection Using Cobalt Polyphthalocyanine/Carboxylated Multiwalled Carbon Nanotube Nanocomposites Modified Sensor. *Chemosensors*, 10(2). <https://doi.org/10.3390/chemosensors10020083>
- Sheraz Ahmad, M., Hoong Ng, K., Chen, C. L., Kabir, F., Witoon, T., Wu, T. Y., & Kui Cheng, C. (2023). Nitrogen-phosphorous co-doped palladium electrocatalyst for glycerol electro-oxidation reaction (GEOR): An efficient system for mesoxalic acid and dihydroxyacetone production. *Fuel*, 333. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.126471>
- Shkotova, L., Bohush, A., Voloshina, I., Smutok, O., & Dzyadovych, S. (2019). Amperometric biosensor modified with platinum and palladium nanoparticles for detection of lactate concentrations in wine. *SN Applied Sciences*, 1(4). <https://doi.org/10.1007/s42452-019-0315-9>
- Sionek, B., Szydłowska, A., Küçükgöz, K., & Kołożyn-Krajewska, D. (2023). Traditional and New Microorganisms in Lactic Acid Fermentation of Food. In *Fermentation* (Vol. 9, Issue 12). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/fermentation9121019>
- Smutok, O., Kavetsky, T., Prokopiv, T., Serkiz, R., Šauša, O., Novák, I., Švajdlenková, H., Maťko, I., Gonchar, M., & Katz, E. (2022). Biosensor Based on Peroxidase-Mimetic Nanozyme and Lactate Oxidase for Accurate L-Lactate Analysis in Beverages. *Biosensors*, 12(11). <https://doi.org/10.3390/bios12111042>

- Štěpánová, S., & Kašička, V. (2024). Determination of physicochemical parameters of (bio)molecules and (bio)particles by capillary electromigration methods. *Journal of Separation Science*, 47(11). <https://doi.org/10.1002/jssc.202400174>
- Swetwiwathana, A., & Visessanguan, W. (2015). Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for safety improvements of traditional Thai fermented meat and human health. *Meat Science*, 109, 101–105. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.05.030>
- Teipel, J. C., Hausler, T., Sommerfeld, K., Schäringer, A., Walch, S. G., Lachenmeier, D. W., & Kuballa, T. (2020). Application of 1h nuclear magnetic resonance spectroscopy as spirit drinks screener for quality and authenticity control. *Foods*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/foods9101355>
- Tomac, I., Adam, V., & Labuda, J. (2024). Advanced chemically modified electrodes and platforms in food analysis and monitoring. In *Food Chemistry* (Vol. 460). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140548>
- Tristezza, M., di Feo, L., Tufariello, M., Grieco, F., Capozzi, V., Spano, G., & Mita, G. (2016). Simultaneous inoculation of yeasts and lactic acid bacteria: Effects on fermentation dynamics and chemical composition of Negroamaro wine. *LWT*, 66, 406–412. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.064>
- Trojanowicz, M., & Pyszynska, M. (2022). Flow-Injection Methods in Water Analysis—Recent Developments. In *Molecules* (Vol. 27, Issue 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules27041410>
- Tsao, G. T., Cao, N. J., Du, J., & Gong, C. S. (1999). Production of Multifunctional Organic Acids from Renewable Resources. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 65, 243–280.
- Viecelli, C. (2021). Local bubbles: natural wines between globalisation and locavorism. *Mondialités Du Vin*, 51(3), 589–599.
- Vignesh Kumar, B., Muthumari, B., Kavitha, M., John Praveen Kumar, J. K., Thavamurugan, S., Arun, A., & Jothi Basu, M. (2022). Studies on Optimization of Sustainable Lactic Acid Production by *Bacillus amyloliquefaciens* from Sugarcane Molasses through Microbial Fermentation. *Sustainability (Switzerland)*, 14(12). <https://doi.org/10.3390/su14127400>
- Vijayakumar, J., Aravindan, R., & Viruthagiri, T. (n.d.). *Recent Trends in the Production, Purification and Application of Lactic Acid*.

- Virdis, C., Sumby, K., Bartowsky, E., & Jiranek, V. (2021). Lactic Acid Bacteria in Wine: Technological Advances and Evaluation of Their Functional Role. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.612118>
- Wang, J. (1988). *Electroanalytical Techniques in Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. VCH.
- Wang, J. (2006). Controlled-Potential Techniques. In *Analytical Electrochemistry* (pp. 67–114). Wiley. <https://doi.org/10.1002/0471790303.ch3>
- Wei, J., Zhang, Y., Wang, Y., Ju, H., Niu, C., Song, Z., Yuan, Y., & Yue, T. (2020). Assessment of chemical composition and sensorial properties of ciders fermented with different non-Saccharomyces yeasts in pure and mixed fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, 318. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108471>
- Wijayanti, S. D., Tsvik, L., & Haltrich, D. (2023). Recent Advances in Electrochemical Enzyme-Based Biosensors for Food and Beverage Analysis. In *Foods* (Vol. 12, Issue 18). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/foods12183355>
- Yin, P., Nishina, N., Kosakai, Y., Yahir0, K., Park, Y., & Okabe2, M. (1997). Enhanced Production of L(+)-Lactic Acid from Corn Starch in a Culture of *Rhizopus oryzae* Using an Air-Lift Bioreactor. In *JOURNAL OF FERMENTATION AND BIOENGINEERING* (Vol. 84, Issue 3).
- Zeravik, J., Fohlerova, Z., Milovanovic, M., Kubesa, O., Zeisbergerova, M., Lacina, K., Petrovic, A., Glatz, Z., & Skladal, P. (2016). Various instrumental approaches for determination of organic acids in wines. *Food Chemistry*, 194, 432–440. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.013>
- Zhang, T., Liao, Z., Li, Z., Liu, Y., Bi, J., Liu, Y., Song, Y., & Qin, Y. (2025). Revealing the flavor differences of Sauvignon Blanc wines fermented in different oak barrels and stainless-steel tanks through GC-MS, GC-IMS, electronic, and artificial sensory analyses. *Food Chemistry: X*, 25. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2025.102188>