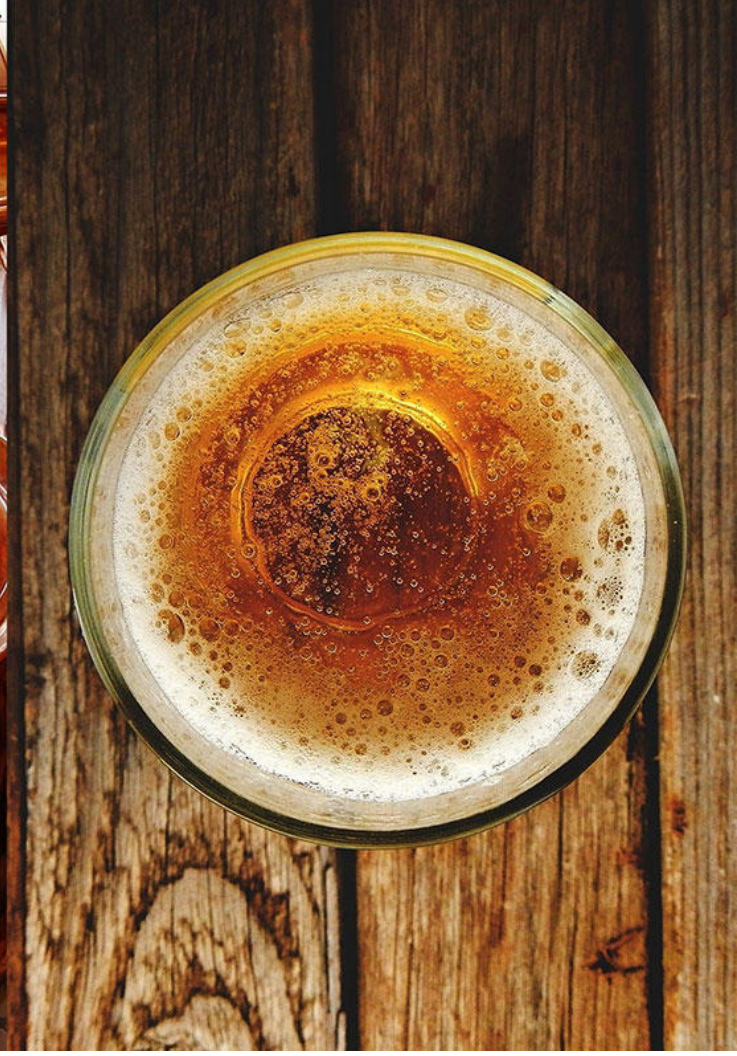




Application Note AN-EC-035

Uso de un sistema portátil e independiente para facilitar el monitoreo de la fermentación

Mediciones in situ de ácido láctico en cerveza mediante electrodos serigrafiados (SPE)

El ácido láctico (ácido 2-hidroxipropanoico) se encuentra principalmente en los productos lácteos ácidos. En la cerveza, la presencia de ácido láctico contribuye a su acidez y aromas lácticos, y generalmente aparece como resultado de la fermentación con bacterias de ácido láctico. Estas bacterias pueden introducirse deliberadamente en el mosto o también pueden aparecer como resultado de una infección.

Aunque el ácido láctico es esencial en la cerveza hasta cierta cantidad, en exceso se considera un defecto. Su umbral de percepción es de 0,0044 mol/L. Sin embargo, en algunas cervezas tipo lambic, la concentración de ácido láctico puede alcanzar niveles superiores a 0,0333 mol/L.

En esta nota de aplicación, se utiliza un sensor enzimático basado en un electrodo serigrafiado para medir el ácido láctico en cervezas comerciales como prueba de concepto para su posible aplicación durante el monitoreo de la fermentación.

INSTRUMENTATION AND SOFTWARE

Las mediciones se realizaron utilizando conectores DROPSTATPLUS y CASTDIR para electrodos serigrafiados (Figura 1).

Se utilizaron electrodos serigrafiados basados en L-lactato oxidasa (LACT10) como sustrato biosensor debido a sus propiedades de selectividad. La senal analítica corresponde a la detección de un intermedio de peróxido de hidrógeno. Este subproducto se produce al convertir el lactato en ácido pirúvico debido a la reacción enzimática que ocurre en el electrodo de trabajo.

DROPSTATPLUS es un lector electroquímico basado en potenciostato personalizado que se configura según las necesidades específicas de cada usuario. Al especificar la técnica electroquímica y sus parámetros, así como la curva de calibración, es posible que un solo instrumento muestre automáticamente la concentración del analito para el cual se ha desarrollado el sensor electroquímico directamente en una pantalla LCD. Todo el hardware utilizado para este estudio está compilado en Tabla 1.



Figure 1. El instrumento DROPSTATPLUS y CASTDIR utilizados para conectar electrodos serigrafiados.

Tabla 1. Descripción general de equipos de hardware y software.

Equipo	Número de artículo
Instrumento	DROPSTATPLUS
Biosensor SPE	LACT10
Conexión para SPE	CASTDIR

DETECTION OF LACTIC ACID

En este caso se seleccionó la detección amperométrica como técnica analítica. Aplicando un potencial de -0,1 V, es posible medir el ácido láctico en menos de 75 s mientras la senal de corriente alcanza su estado estable. El uso de este potencial particularmente bajo es posible gracias al mediador, y es crucial para superar las senales de interferencia típicas que aparecen cuando se aplican potenciales más altos.[1].

Simplemente colocando una gota de muestra en el LACT10 SPE, es posible medir el ácido láctico en el rango de 0 a 0,0004 mol/L. En la figura se muestra una curva de calibración típica obtenida con datos triplicados. Figura 2Los resultados se obtuvieron en una solución acuosa de 0,1 mol/L de Tris-NO_3 a pH 7,2, donde el ácido láctico se encuentra sólo en su forma disociada, es decir, como lactato, no como ácido láctico.

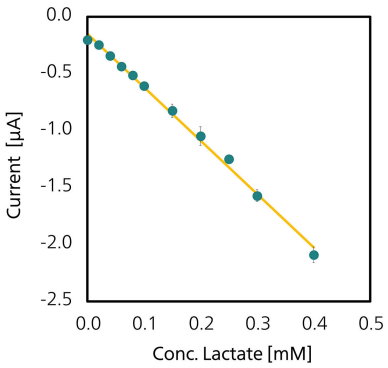


Figure 2. Curva de calibración típica obtenida con soluciones estándar de lactato entre 0 y 0,0004 mol/L en una solución acuosa de 0,1 mol/L de Tris-nitrato (pH 7,2) utilizando electrodos LACT10. El tiempo de medición fue de 75 s.

MEASURING LACTIC ACID IN COMMERCIAL BEER

Se seleccionaron cuatro tipos diferentes de cervezas de una cervecería local (Cotoya) para probar los sensores LACT10 con muestras reales. Entre ellas se incluyen una India Pale Ale (IPA) en la que el contenido de ácido láctico se considera en niveles normales, una cerveza agria elaborada con una malta acidulada especialmente tratada para acidificar la cerveza, una cerveza de vino de cebada con un alto contenido de alcohol y una cerveza lambic (Al Debalu) obtenida a través de un proceso de fermentación salvaje.

Para evitar efectos de matriz, se realizó una dilución de 1:10 con cada cerveza utilizando 0,1 mol/L Tris-NO_3 Solución acuosa de pH 7,2 antes de la medición. No es necesario desgasificar las muestras ya que los resultados obtenidos fueron muy similares con y sin desgasificar la cerveza.

Para validar los datos obtenidos se utilizó un kit comercial de ensayo de L-Lactato. Los experimentos ópticos se realizaron con el equipo SPELEC y el software DropView SPELEC. Fue necesaria una dilución de muestra diferente con el kit óptico para evitar efectos de matriz con cada estilo de cerveza. La muestra de cerveza agria se diluyó 1:100, la IPA 1:20, la cerveza Al Debalu (lambic) 1:50 y el vino de cebada se diluyó 1:10.

Los resultados obtenidos con ambos métodos, electroquímico y óptico, se presentan en Figura 3.

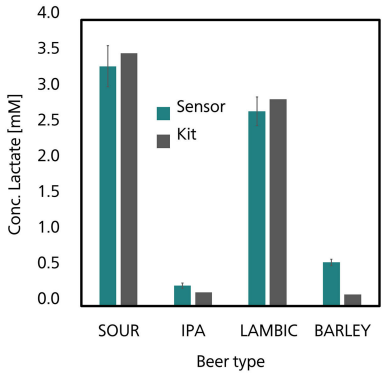


Figure 3. Comparación de datos obtenidos con el sensor de lactato electroquímico de Metrohm DropSens (en verde) y con un kit de ensayo óptico de L-Lactato (en gris).

Tenga en cuenta que el vino de cebada no se pudo medir correctamente con el kit de ensayo óptico debido a su color marrón oscuro que interfirió con la longitud de onda de medición del kit (450 nm). Existe un compromiso entre la absorción de la cerveza y la baja concentración de lactato que tiene. Por lo tanto, no hay suficiente sensibilidad para medirlo. Esto se puede solucionar sometiendo la cerveza a un tratamiento con PVPP (polivinilpolipirrolidona) que elimina el color y evita así que se absorba.

Considerando que los datos obtenidos con ambos métodos son bastante similares, este protocolo demuestra la posibilidad de detectar lactato en cerveza en menos de 75 s con un dispositivo portátil sin los requisitos de pretratamientos complejos o el uso de dispositivos ópticos voluminosos.

CONCLUSION

En este estudio, se propone un biosensor electroquímico para la detección de ácido láctico en cerveza. La muestra con el método electroquímico propuesto solo necesita diluirse 1:10 con una solución de 0,1 mol/L Tris-NO_3 a pH 7,2. Utilizando un ensayo amperométrico simple, es posible medir en 75 s la cantidad de ácido láctico en una muestra de cerveza sin ningún pretratamiento. Las mediciones obtenidas son similares a las tomadas con un kit de ensayo de L-lactato tradicional y dispositivos ópticos no portátiles.

REFERENCE

1. Biscay, J.; Rama, E. C.; García, M. B. G.; y otros. Sensor enzimático que utiliza electrodos de carbono serigrafiados con mediador. *Electroanálisis* 2011, *23* (1), 209–214. DOI:10.1002/elan.201000471

RELATED APPLICATION NOTES

AN-T-227 Determinación de lactato de sodio

AN-PAN-1057 Monitoreo en línea de procesos de fermentación

AN-NIR-093 Control de calidad de los procesos de fermentación

CONTACT

Metrohm México
Calle. Xicoténcatl #181, Col
Del Carmen, Alcaldía
Coyoacán.
04100. Ciudad de México
México

info@metrohm.mx

CONFIGURATION



Lector electroquímico autónomo personalizado para su aplicación final

DropStat Plus es un lector electroquímico personalizado destinado a los investigadores que han desarrollado satisfactoriamente un sensor electroquímico para obtener resultados inmediatos con base en un procedimiento optimizado. Al disponer de una pantalla táctil, una batería de iones de litio y la opción de transferir inalámbricamente sus datos, puede guardar hasta 3 métodos y hasta 8 calibraciones por método. Resulta ideal para personalizarlo como un aparato OEM o un aparato de etiqueta privada.



Conector de cable µStat para electrodos serigrafiados

Conecta electrodos serigrafiados simples (1 WE) a µStat 200, µStat 300, µStat 400, µStat 4000/P, µStat 8000/P, µStatECL, SpectroECL y la línea de aparatos SPELEC.



Sensor de lactato

Apto para la determinación de L(+)-lactato en muestras líquidas.