

Application Note AN-EC-035

Utilizzo di un sistema autonomo portatile per un facile monitoraggio della fermentazione

Misurazioni in situ dell'acido lattico nella birra mediante elettrodi serigrafati (SPE)

L'acido lattico (2-hydroxypropanoic acid) si trova principalmente nei latticini acidi. Nella birra, la presenza di acido lattico contribuisce alla sua acidità e agli aromi lattici, e di solito si manifesta come risultato della fermentazione con batteri lattici. Questi batteri possono essere introdotti intenzionalmente nel mosto, oppure possono comparire a seguito di

un'infezione.

Sebbene l'acido lattico sia essenziale nella birra fino a una certa quantità, un eccesso è considerato un difetto. La sua soglia di percezione è 0,0044 mol/L. Tuttavia, in alcune birre di tipo lambic, la concentrazione di acido lattico può raggiungere livelli superiori a 0,0333 mol/L.

In questa Application Note, un sensore enzimatico basato su un elettrodo serigrafato viene utilizzato per misurare l'acido lattico nelle birre commerciali come

prova di concetto per la sua potenziale applicazione durante il monitoraggio della fermentazione.

STRUMENTAZIONE E SOFTWARE

Le misurazioni sono state eseguite utilizzando connettori DROPSTATPLUS e CASTDIR per elettrodi serigrafati (**Figura 1**).

Come substrato biosensibile sono stati utilizzati elettrodi serigrafati a base di L-lattato ossidasi (LACT10) per le loro proprietà di selettività. Il segnale analitico corrisponde al rilevamento di un intermedio di perossido di idrogeno. Questo sottoprodotto viene prodotto durante la conversione del lattato in acido piruvico a causa della reazione enzimatica che avviene sull'elettrodo di lavoro.

DROPSTATPLUS è un lettore elettrochimico basato su potenziostato personalizzato, configurato in base alle esigenze specifiche di ciascun utente. Specificando la tecnica elettrochimica, i suoi parametri e la curva di calibrazione, è possibile visualizzare automaticamente su uno schermo LCD la concentrazione dell'analita per il quale è stato sviluppato il sensore elettrochimico. Tutto l'hardware utilizzato per questo studio è riportato nella **Tabella 1**.



Figure 1. Lo strumento DROPSTATPLUS e CASTDIR utilizzati per collegare gli elettrodi serigrafati.

Tabella 1. Panoramica delle apparecchiature hardware e software.

Strumentazione	Codice articolo
Instrument	DROPSTATPLUS
Biosensor SPE	LACT10
Connection for SPEs	CASTDIR

RILEVAZIONE DELL'ACIDO LATTICO

In questo caso, la tecnica analitica scelta è stata la rilevazione amperometrica. Applicando un potenziale di -0,1 V, è possibile misurare l'acido lattico in meno di 75 s, ovvero quando il segnale di corrente raggiunge il suo stato stazionario. L'impiego di questo potenziale particolarmente basso è possibile grazie al mediatore, ed è fondamentale per superare i tipici segnali interferenti che si verificano quando si applicano potenziali più elevati [1].

Semplicemente posizionando una goccia di campione sul LACT10 SPE, è possibile misurare l'acido lattico nell'intervallo da 0 a 0,0004 mol/L. Una tipica curva di calibrazione ottenuta con dati triplicati è mostrata nella **Figura 2**. I risultati sono stati ottenuti in una soluzione acquosa di 0,1 mol/L di Tris-NO₃ a pH 7,2, dove l'acido lattico si trova solo nella sua forma dissociata, ovvero come lattato e non come acido lattico.

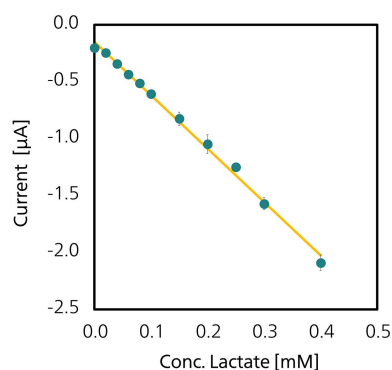


Figure 2. Curva di calibrazione tipica ottenuta con soluzioni standard di lattato tra 0 e 0,0004 mol/L in una soluzione acquosa di 0,1 mol/L di tris-nitrato (pH 7,2) utilizzando elettrodi LACT10. Il tempo di misurazione è stato di 75 s.

MISURAZIONE DELL'ACIDO LATTICO NELLA BIRRA COMMERCIALE

Sono stati selezionati quattro diversi tipi di birra provenienti da un birrificio locale (Cotoya) per testare i sensori LACT10 con campioni reali. Tra questi, un'India Pale Ale (IPA) in cui il contenuto di acido lattico è considerato a livelli normali, una birra acida prodotta con un malto acidulato appositamente trattato per acidificare la birra, una birra al vino d'orzo ad alto contenuto alcolico e una birra lambic (Al Debalu) ottenuta tramite un processo di fermentazione spontanea.

Per evitare effetti matrice, è stata effettuata una diluizione 1:10 con ciascuna birra utilizzando una soluzione acquosa di 0.1 mol/L Tris-NO₃ a pH 7.2. Non è stato necessario degasare i campioni poiché i risultati ottenuti sono stati molto simili con e senza degasaggio della birra.

Per convalidare i dati ottenuti, è stato utilizzato un kit commerciale per il dosaggio dell'L-lattato. Gli esperimenti ottici sono stati condotti con l'apparecchiatura SPELEC e il software DropView SPELEC. Con il kit ottico, è stata necessaria una diluizione diversa del campione per evitare effetti matrice con ogni stile di birra. Il campione di birra acida è stato diluito 1:100, quello di IPA 1:20, quello di birra Al Debalu (lambic) 1:50 e quello di vino d'orzo 1:10.

I risultati ottenuti con entrambi i metodi, elettrochimico e ottico, sono presentati nella **Figura 3**.

Nota che il vino d'orzo non poteva essere misurato correttamente con il kit di analisi ottica a causa del suo colore marrone scuro che interferiva con la lunghezza d'onda di misurazione del kit (450 nm). Esiste un compromesso tra l'assorbimento della birra e la sua bassa concentrazione di lattato. Pertanto, la sensibilità per la misurazione non è sufficiente. Questo problema può essere superato sottoponendo la birra

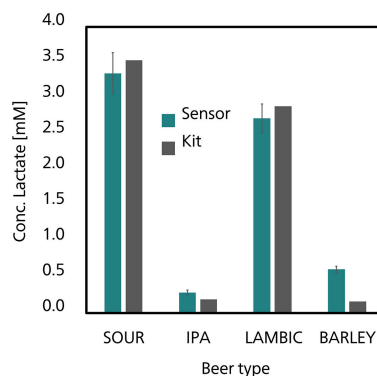


Figure 3. Confronto dei dati ottenuti con il sensore elettrochimico del lattato di Metrohm DropSens (in verde) e con un kit ottico per il dosaggio del lattato L (in grigio).

a un trattamento con PVPP (polivinilpolipirrolidone), che rimuove il colore e ne impedisce l'assorbimento. Considerando che i dati ottenuti con entrambi i metodi sono abbastanza simili, questo protocollo dimostra la possibilità di rilevare il lattato nella birra in meno di 75 s con un dispositivo portatile senza la necessità di pretrattamenti complessi o l'uso di dispositivi ottici ingombranti.

In questo studio viene proposto un biosensore elettrochimico per il rilevamento dell'acido lattico nella birra. Il campione con il metodo elettrochimico proposto deve essere solo diluito 1:10 con una soluzione di Tris-NO₃ 0,1 mol/L a pH 7.2. utilizzando un semplice test amperometrico, è possibile misurare in

75 secondi la quantità di acido lattico presente in un campione di birra senza alcun pretrattamento. Le misurazioni ottenute sono simili a quelle effettuate con un tradizionale kit di analisi dell'L-lattato e dispositivi ottici non portatili.

RIFERIMENTI

1. Biscay, J.; Rama, E. C.; García, M. B. G.; et al. Enzymatic Sensor Using Mediator-Screen-Printed Carbon Electrodes. *Electroanalysis* **2011**, 23 (1), 209–214.
[DOI:10.1002/elan.201000471](https://doi.org/10.1002/elan.201000471)

APPLICATION NOTES CORRELATE

[AN-T-227](#) Determinazione del lattato di sodio

[AN-PAN-1057](#) Monitoraggio in linea dei processi di fermentazione

[AN-NIR-093](#) Controllo di qualità dei processi di fermentazione

CONTACT

Metrohm Italiana Srl
Via G. Di Vittorio, 5
21040 Origgio (VA)

info@metrohm.it

CONFIGURAZIONE



Lettore elettrochimico autonomo personalizzato in base alla vostra applicazione finale
DropStat Plus è un lettore elettrochimico personalizzato concepito per quei ricercatori che hanno sviluppato con successo un sensore elettrochimico per ottenere risultati immediati basati su una procedura ottimizzata. Con un touchscreen, una batteria agli ioni di litio e la possibilità di trasferire i propri dati in modalità wireless, può memorizzare fino a 3 metodi e fino a 8 calibrazioni per metodo. Ideale per la personalizzazione come strumento OEM o con etichetta privata.



Connettore per cavi μ Stat per elettrodi a membrana
Serve a collegare gli elettrodi a membrana singoli (1 WE) a Stat 200, Stat 300, Stat 400, Stat 4000/P, Stat 8000/P, StatECL, SpectroECL e alla linea di strumenti SPELEC.



Sensore di lattato
Adatto alla determinazione del lattato L(+) in campioni liquidi.