



Application Note AN-NIR-093

Controllo di qualità dei processi di fermentazione

Determinazione di più parametri entro un minuto

Negli ultimi anni la produzione di biocombustibili da materie prime rinnovabili ha registrato una crescita enorme. Il bioetanolo rappresenta una delle alternative più interessanti ai combustibili fossili, in quanto producibile da materie prime ricche di zuccheri e amido. La fermentazione dell'etanolo è uno dei processi di fermentazione più datati e importanti utilizzati nel settore della biotecnologia. Sebbene il processo sia molto noto, esiste un grande potenziale di miglioramento e riduzione proporzionale dei costi

di produzione. Poiché la qualità delle materie prime varia a seconda della stagione, i produttori di etanolo devono monitorare il processo di fermentazione per garantire che la qualità del prodotto sia la stessa. Con la spettroscopia nel vicino infrarosso (NIRS) è possibile **prevedere in modo rapido e affidabile** il contenuto di etanolo, zuccheri, Brix, acido lattico, pH e solidi totali in qualsiasi fase del processo di fermentazione.

STRUMENTI DI ANALISI

La produzione di etanolo dal mais passa attraverso tre fasi tipiche: macinazione/liquefazione del mais in poltiglia di amido, fermentazione della poltiglia di amido con lievito e infine purificazione dell'etanolo risultante per distillazione. Un totale di 206 campioni (117 per l'indice Brix) di mosto di fermentazione sono stati analizzati sullo strumento DS2500 Solid Analyzer. A causa della grande quantità di solidi presenti nei campioni, tutte le misurazioni sono state eseguite in modalità di riflessione utilizzando il contenitore per campioni grande DS2500 (Figura 1). I campioni sono stati misurati in rotazione per raccogliere dati spettrali da diverse aree. La media spettrale dei segnali provenienti da diversi punti ha contribuito a ridurre la disomogeneità del campione. Il pacchetto software Metrohm Vision Air Complete è stato utilizzato per l'acquisizione di tutti i dati e lo sviluppo di modelli predittivi.

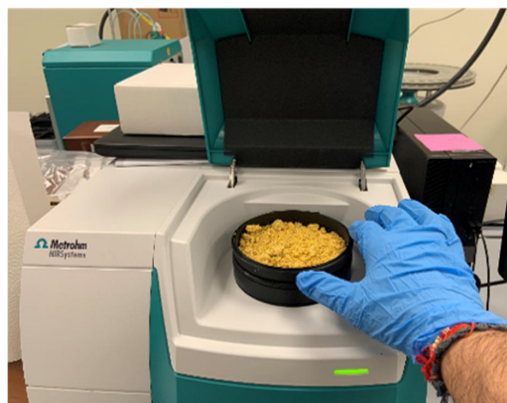


Figure 1. Campione di mosto di fermentazione posizionato sul DS2500 Solid Analyzer.

Tabella 1. Panoramica delle apparecchiature hardware e software

Attrezzatura	Numero metrohm
DS2500 Analyzer	2.922.0010
DS2500 Coppa campione grande	6.7402.050
Vision Air 2.0 completo	6.6072.208

RISULTATO

Tutti i 206 spettri Vis-NIR misurati (figura 2) sono stati utilizzati per creare un modello predittivo per la quantificazione dei parametri chiave di fermentazione. La qualità del modello di previsione è stata valutata utilizzando diagrammi di correlazione,

che mostrano una correlazione molto elevata tra la previsione Vis-NIR e i valori di riferimento. I rispettivi valori di riferimento (FOM) mostrano la precisione attesa di una previsione durante l'analisi di routine.



Figure 2. Spettri Vis-NIR di campioni di mosto di fermentazione analizzati su DS2500 Solid Analyzer.



Figure 3. Diagramma di correlazione per la previsione del contenuto di etanolo utilizzando un analizzatore solido DS2500. Il valore di laboratorio del contenuto di etanolo è stato valutato utilizzando HPLC.

Tabella 2. Valori di riferimento per la previsione del contenuto di etanolo utilizzando DS2500 Solid Analyzer.

Riferimento	Valore
R^2	0,998
Errore standard di calibrazione	0,21%
Errore standard di convalida incrociata	0,22%



Figure 4. Diagramma di correlazione per la previsione del contenuto solido utilizzando DS2500 Solid Analyzer. Il valore di laboratorio è stato valutato dal bilancio LOD.

Tabella 3. Valori di riferimento per la previsione del contenuto solido utilizzando DS2500 Solid Analyzer.

Riferimento	Valore
R^2	0,982
Errore standard di calibrazione	0,87%
Errore standard di convalida incrociata	1,06%

RISULTATO

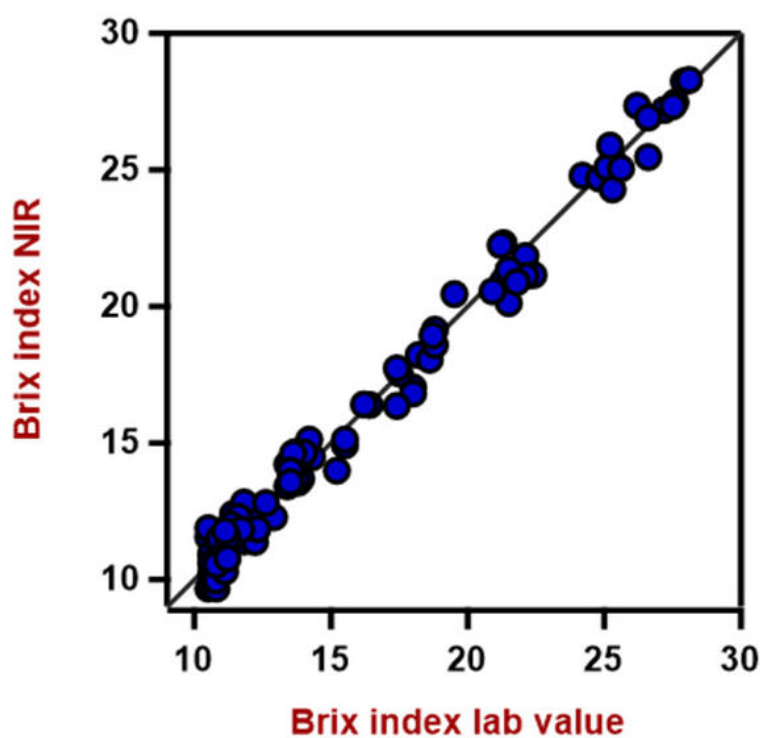


Figure 5. Diagramma di correlazione per la previsione dei valori dell'indice Brix. Il valore di laboratorio è stato misurato utilizzando un rifrattometro.

Tabella 4. Valori di riferimento per la previsione dei valori dell'indice Brix.

Riferimento	Valore
R^2	0,987
Errore standard di calibrazione	0,66
Errore standard di convalida incrociata	0,87

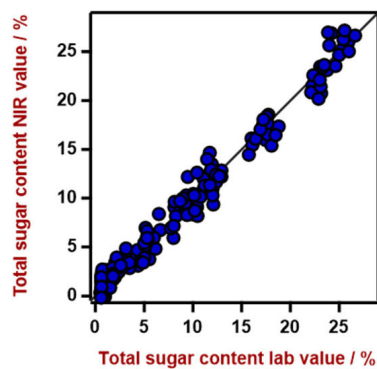


Figure 6. Diagramma di correlazione per la previsione del contenuto zuccherino totale. Il valore di laboratorio del contenuto di zucchero totale è stato misurato mediante HPLC.

Tabella 5. Valori di riferimento per la previsione del tenore zuccherino totale.

Riferimento	Valore
R^2	0,981
Errore standard di calibrazione	1,09%
Errore standard di convalida incrociata	1,30%

RISULTATO

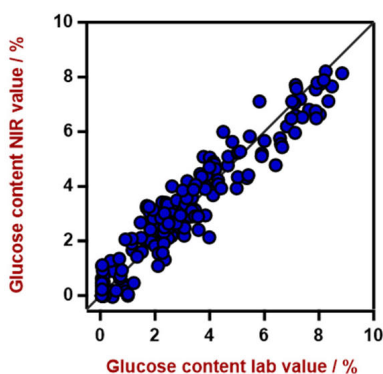


Figure 7. Diagramma di correlazione per la previsione del contenuto di glucosio. Il valore di laboratorio del contenuto di glucosio è stato misurato mediante HPLC.

Tabella 6. Valori di riferimento per la previsione del contenuto di glucosio.

Riferimento	Valore
R^2	0,920
Errore standard di calibrazione	0,70%
Errore standard di convalida incrociata	0,86%

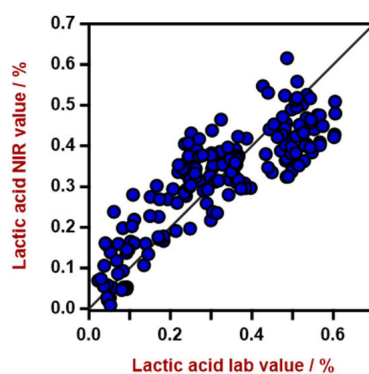


Figure 8. Diagramma di correlazione per la previsione del contenuto di acido lattico. Il valore di laboratorio dell'acido lattico è stato valutato mediante HPLC.

Tabella 7. Valori di riferimento per la previsione del contenuto di acido lattico.

Riferimento	Valore
R^2	0,722
Errore standard di calibrazione	0,09%
Errore standard di convalida incrociata	0,10%

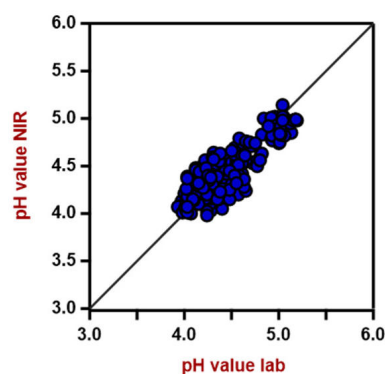


Figure 9. Diagramma di correlazione per la previsione del valore del pH. Il valore del pH di laboratorio è stato misurato utilizzando un pHmetro.

Tabella 8. Valori di riferimento per la previsione del valore del pH.

Riferimento	Valore
R^2	0,734
Errore standard di calibrazione	0,17
Errore standard di convalida incrociata	0,19

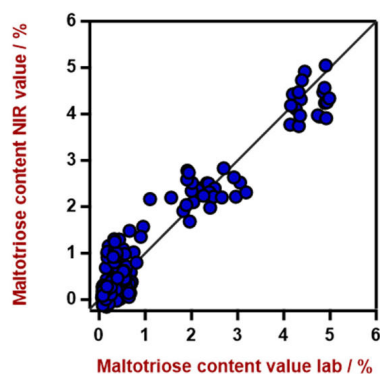


Figure 10. Diagramma di correlazione per la previsione del contenuto di maltotriosio. Il valore di laboratorio del maltotriosio è stato misurato mediante HPLC.

Tabella 9. Valori di riferimento per la previsione del contenuto di maltotriosio.

Riferimento	Valore
R^2	0,928
Errore standard di calibrazione	0,36%
Errore standard di convalida incrociata	0,42%

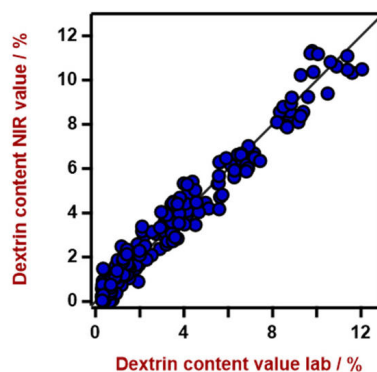


Figure 11. Diagramma di correlazione per la previsione del contenuto di destrina. Il valore del laboratorio di destrina è stato misurato mediante HPLC.

Tabella 10. Valori di riferimento per la previsione del contenuto di destrine.

Riferimento	Valore
R^2	0,964
Errore standard di calibrazione	0,60%
Errore standard di convalida incrociata	0,68%

CONCLUSIONE

Questa Application Note dimostra la fattibilità per determinare più parametri chiave del processo di fermentazione con la spettroscopia NIR. La fermentazione del mais è un processo consolidato che in genere dura dalle 55 alle 60 ore. I campioni vengono estratti dai fermentatori ogni poche ore e inviati al laboratorio per la misurazione analitica. È

necessario utilizzare diversi metodi analitici per monitorare i parametri di qualità chiave per il processo di fermentazione. La spettroscopia Vis-NIR consente un'alternativa veloce con elevata precisione e rappresenta quindi un metodo unico adatto per monitorare il processo di fermentazione.

Tabella 11. Panoramica del tempo per il risultato per i diversi parametri

Parametro	Metodo	Tempo per il risultato
Etanolo, zuccheri	HPLC	30–45 min
Indice Brix	Rifrattometro	3–5 min
pH	misuratore di acidita `	3–5 min
Solidi	LOD equilibrio	10–15 min

CONTACT

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

info@metrohm.it



DS2500 Solid Analyzer

Robusta spettroscopia nel vicino infrarosso per il controllo di qualità in laboratorio e nell'ambiente di produzione.

DS2500 Analyzer è la soluzione comprovata e flessibile per l'analisi di routine di sostanze solide, creme ed eventualmente anche liquidi lungo tutta la catena produttiva. Il design robusto rende lo strumento DS2500 Analyzer insensibile a polveri, umidità, vibrazioni e oscillazioni di temperatura e quindi ideale per l'utilizzo in ambienti di produzione difficili.

DS2500 copre l'intero campo spettrale da 400 a 2.500 nm e fornisce risultati precisi e riproducibili in meno di un minuto. DS2500 Analyzer soddisfa i requisiti dell'industria farmaceutica e supporta gli utenti, grazie alla facilità di utilizzo, nelle loro attività di routine quotidiane.

Grazie agli accessori perfetti per l'apparecchio, è possibile ottenere risultati ottimali anche con i tipi di campioni più impegnativi, quali per esempio sostanze solide a grana grossa come i granulati oppure i campioni semisolidi-liquidi come creme. Nella misurazione delle sostanze solide è possibile migliorare la produttività grazie all'impiego di MultiSample Cup, che consentono misure automatiche in serie fino a 9 campioni.



Recipiente per campioni DS2500, grande

Recipiente per campioni grande per la rilevazione degli spettri di polveri e granulati in riflessione in punti diversi del campione tramite NIRS DS2500 Analyzer.



Vision Air 2.0 Complete

Vision Air - Software universale per la spettroscopia.

Vision Air Complete è una soluzione software moderna e facile da utilizzare per l'impiego in ambiente regolamentato.

Panoramica dei vantaggi di Vision Air:

- le applicazioni software individuali con interfacce utente personalizzate garantiscono un funzionamento intuitivo e semplice
- semplice creazione e manutenzione dei protocolli
- banca dati SQL per una gestione dei dati sicura e semplice

La versione Vision Air Complete (66072208) include tutte le applicazioni per la garanzia della qualità tramite spettroscopia Vis-NIR:

- applicazione per la gestione degli strumenti e dei dati
- applicazione per lo sviluppo di metodi
- applicazione per l'analisi di routine

Altre soluzioni Vision Air Complete:

- 66072207 (Vision Air Network Complete)
- 66072209 (Vision Air Pharma Complete)
- 66072210 (Vision Air Pharma Network Complete)