

Produzione di acido lattico da Melasso con il *Lactobacillus Sili*

Dott. Isidoro Politi - Lib. docente

(Ricevuto il 1° Marzo 1943)

Nel corso delle ricerche compiute intorno alle caratteristiche fisiologiche del *Lactobacillus sili* era emersa la spiccata attitudine posseduta dal germe stesso a crescere con notevole vigore e con alta produzione di acidità non volatile nei terreni zuccherini a base di sostanze vegetali. Da qui l'idea di effettuare delle prove di fermentazione al fine di riconoscere l'eventuale attitudine del predetto lactobacillo per la produzione industriale di acido lattico, produzione che in pratica viene realizzata mediante l'impiego di colture di *Lactobacillus Delbruck* (Leichmann) Beijerinck (*Thermobacterium cereale* Orla Jensen) o di *Lactobacillus lactis* (Orla Jensen) Holland (*Bacillus lactis acidi* Leichmann), rispettivamente per la fermentazione di mosti amilacei e di melassa o di siero di latte. Il *Lactobacillus sili* differisce da codesti fermenti per i caratteri fisiologici già indicati con precedenti note (I. Politi. Ricerche su fermenti lattici. Nota I. Questi Annali, 1940, 1, pag. 65 - I. Politi, Su alcuni caratteri fisiologici del *Lactobacillus sili*. Comportamento nelle colture aerobiche in rapporto al potenziale di ossido-riduzione; Boll. Sez. It. Soc. Int. di Microbiologia 1943) e particolarmente per i più ampi limiti di temperatura, per il potere fermentativo esteso ad un maggior numero di zuccheri e per la produzione di acido lattico inattivo anzichè levogiro.

Le osservazioni compiute in precedenza avevano però rivelato chiaramente che il *Lactobacillus sili* non poteva costituire un fermento adatto per il siero di latte e pertanto le ricerche vennero indirizzate verso l'utilizzazione del melasso come substrato fermentativo.

Alcuni saggi preliminari dimostrarono subito che il *Lact. sili* presentava effettivamente una notevole capacità di crescita in soluzioni di melasso addizionate semplicemente di piccole quantità di sali minerali, senza aggiunta alcuna di azoto organico nè di stimolanti.

Proseguendo nelle prove, venne indagata la capacità di crescita e l'andamento della fermentazione in soluzioni di melassa a differenti concentrazioni e con semplice addizione di piccole quantità di sali d'ammonio e di fosforo (2 per mille). Le prove vennero compiute in Erlenmeyer da 500 cc. con soluzioni al 10, 15, 20 % di melasso, contenenti il 2 per mille di solfato ammonico e fosfato monosodico; dopo sterilizzazione si aggiunse un eccesso di carbonato di calcio sterile e 10 cc. di coltura in brodo malto di 24 ore; si mantenne quindi in termostato a 38°, agitando di tanto in tanto per asse-

condare la neutralizzazione dell'acido prodotto. Giornalmente si fecero dei prelievi per la determinazione dello zucchero ancora presente (metodo Fehling-Bertrand dopo inversione) ed in tal modo si potè accertare che il *Lact. sili* è capace di intensa crescita e di completa fermentazione anche in liquidi al 20% di melasso (circa 10% di zuccheri).

Sempre operando con liquidi sterilizzati e con le aggiunte sopra indicate, vennero successivamente effettuate diverse prove di fermentazione su maggiori quantità di liquido. Si riassumono le condizioni ed i risultati di alcune di esse:

a) Litri 5 di soluzione al 18% di melassa vennero insemzati con cc. 200 di coltura attiva in soluzione di melassa pure al 18% e addizionati di carbonato di calcio in quantità di poco superiore a quella necessaria per la neutralizzazione dell'acido che si sarebbe presumibilmente formato da tutto lo zucchero presente. Si mantenne in termostato a 36-37°C., agitando alcune volte durante il giorno e prelevando successivamente dei campioncini per il controllo della fermentazione. Dopo 15 giorni, raggiunto il quasi completo esaurimento dello zucchero (0,08%), si determinò l'acido lattico prodotto mediante estrazione con etere e separazione come lattato di zinco. Il liquido di fermentazione risultò contenere l'8% di acido lattico puro, cosicchè la resa della fermentazione fu del 90% circa.

b) Vennero fatti fermentare a 36-37° C. litri 7 di soluzione di melasso all'11,6% di zucchero, insemzando con cc. 200 di coltura e con l'aggiunta dell'eccesso di carbonato di calcio. Si applicò inoltre un dispositivo di agitazione meccanica in modo da impedire il deposito del carbonato di calcio sul fondo del recipiente ed ottenere una più regolare neutralizzazione dell'acidità via via prodotta. Al nono giorno si verificò una precipitazione di lattato di calcio per cui tutta la massa divenne rapidamente densa e consistente, quasi come rappresa; poichè si aveva ancora un residuo zuccherino del 1,15% (zucchero fermentato 10,45%) si lasciò ancora in termostato senza agitazione, dopo di che si determinò l'acido lattico prodotto. Questo risultò del 9,9%, pari cioè al 90% dello zucchero fermentato.

c) Attivata la fermentazione di litri 5 di melassa al 9,50% di zuccheri previamente sterilizzati, si addizionarono i medesimi a litri 20 di soluzione di melasso pure al 9,5% di zuccheri, cui si fecero le solite aggiunte di sali minerali. Questa massa liquida, contenuta in una comune damigiana, non venne previamente sterilizzata; si impiegò inoltre del calcare macinato non sterile che venne aggiunto tutto in una volta appena iniziata la fermentazione. Si provvide alla agitazione continua ed al consueto controllo dell'andamento della fermentazione. Dopo 10 giorni lo zucchero residuo risultò del 0,5% ed il contenuto in acido lattico puro dell'8,1%, con una resa quindi del 90% dello zucchero fermentato.

Dalle prove sovra esposte emerge chiaramente la possibilità d'impiego del *Lactobacillus sili* per la produzione di acido lattico da melassa. Così pure appaiono fissate le condizioni di massima relative al processo medesimo, nonchè le rese ottenibili. La fermentazione appare infatti realizzabile con liquidi

contenenti il 10-12% di zuccheri addizionati semplicemente di piccole quantità di sali minerali d'azoto e di fosforo; la sterilizzazione dei mosti non sembra indispensabile, essendo sufficiente quella del liquido occorrente per la coltura madre; il carbonato di calcio necessario per la neutralizzazione dell'acido lattico, anziché in modo graduale nel corso della fermentazione, può essere addizionato in una sol volta all'inizio di questa. Importante ai fini del più rapido e regolare decorso della fermentazione è un'agitazione atta ad evitare la sedimentazione del carbonato di calcio. Date le caratteristiche fisiologiche del fermento non occorre alcuna aereazione; è preferibile anzi che la fermentazione si svolga in condizioni il più possibile anaerobiche. Le rese ottenibili sono sicuramente di almeno il 90 % di acido lattico puro rispetto allo zucchero fermentato, mentre la durata del processo, che nelle prove effettuate fu di 9-10 giorni, si prevede possa essere ridotta a 7-8 giorni facendo agire il fermento al suo optimum di temperatura; da prove all'uopo istituite questo è risultato di 40°C.

All'elevata resa in acido lattico corrisponde evidentemente un'esigua proporzione di prodotti secondari per cui l'estrazione e l'ottenimento di acido lattico puro risulta particolarmente agevole.

ZUSAMMENFASSUNG

Es werden die Resultate einer Reihe Gärungsproben angegeben aus welchen sich die Möglichkeit ergibt, bei der Erzeugung von Milchsäure aus Melasse den *Lactobacillus sili* anzuwenden.

Das Vergahren kann mittels Melasselösungen mit 10-12% Zucker bei Zusatz von kleinen Mengen Mineral-ammonium-und Phosphorsalzen ausgeführt werden. Die Sterilisierung der Moste ist nicht notwendig und es genügt sterile Flüssigkeiten bei der Herstellung der Ausgangskulturen anzuwenden. Das CaCO₃ kann am Anfang der Gärung auf einmal hinzugefügt werden; es ist jedoch wichtig die Flüssigkeit zu schütteln um die Bildung eines Niederschlages zu verhindern. Das Temperaturoptimum ist 40°C. Die Dauer 7-8 Tage. Der erhaltene Ertrag ist sicher, wenigstens 90 % reiner untätiger Milchsäure.