

MINISTERIO DE EDUCACION DE LA NACION

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

120413 (1)

ESTUDIO DE LA FERMENTACION LACTICA

EN MEDIOS DE GLUCOSA Y

DISTINTAS SUSTANCIAS NUTRITIVAS

7-3-940
1 11.285.19
noy :

POR

120413 (1)

Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Exactas
Biblioteca
50 y 115 1° subsuelo
biblioteca@exactas.unlp.edu.ar
Tel 0221 422-6977/79 int. 129



DEX-28049

ONIO PEDRO BALATTI
1959

MINISTERIO DE EDUCACION DE LA NACION

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

ESTUDIO DE LA FERMENTACION LACTICA EN MEDIOS DE GLUCOSA
X DISTINTAS SUSTANCIAS NUTRITIVAS

Por

ANTONIO PEDRO BALATTI

Por

Fecha

7-3-960

Inv. N.º

Inv. B.º

28049



Trabajo de Tesis para optar al grado de Doctor en Química
realizado en la cátedra de Industrias Químico-Farmacéuticas,
pertenciente al Departamento de Tecnología Química de la
Facultad de Química y Farmacia de La Plata, bajo la dirección
del Profesor Dr. CARLOS H. CAMPI

Agradesco al Dr. Carlos H. Campi la dedicación
prestada para la resolución de los problemas
que se presentaron durante la realización del
presente trabajo y al Dr. Rodolfo J. Ertola su
estímulo y su gran colaboración

A MI ESPOSA E HIJOS

A MI MADRE

SUMARIO

- I) Acido láctico, generalidades
- II) Microorganismos usados en la fermentación láctica
- III) Características generales de la fermentación láctica
- IV) Métodos de obtención de ácido láctico por fermentación
- V) Aplicaciones del ácido láctico y del lactato de calcio
- VI) Métodos de valoración de ácido láctico en medios de cultivo

PARTE EXPERIMENTAL

- VII) Cepas y medios de cultivo utilizados
- VIII) Ensayos de diferentes sustancias nutritivas
- IX) Ensayos con un medio de hidrolizado de batata
- X) Ensayos en escala Planta piloto
- XI) Conclusiones
- XII) Bibliografía

.....
.....

CAPITULO PRIMERO

ACIDO LACTICO GENERALIDADES

El ácido láctico α - hidroxipropionico ($\text{CH}_3\text{-C}\begin{matrix} \text{H} \\ \text{OH} \end{matrix}\text{-CH}_3$) fué descubierto por Scheele quien lo aisló y lo identificó en el año 1790 dejando fermentar leche por varias semanas en presencia de hidróxido de calcio.

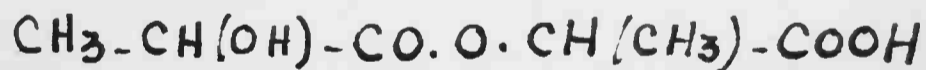
El ácido láctico, ya como un producto de fermentación fue bien identificado por Blondeau (1,2). Pasteur en el año 1857 le investigó como uno de sus primeros problemas microbiológicos y presenta un estudio a la sociedad científica de Lillio. Mas adelante en año 1867 (2) indica que la fermentación de la leche es causada por un fermento organizado. Semultze en el año 1868 demostro la presencia de ácido láctico en cultivos de levaduras. Pero recién en el año 1887 el Dr. Lister aisló el *Streptococcus lactis*, hasta ese entonces no se habían aislado bacterias productoras de ácido láctico en cultivos puros. En la misma época Delbrueckii se ocupa de determinar la temperatura óptima para la obtención de ácido láctico, En el año 1881 Avery de Littleton (Massachusetts) produjo ácido láctico en escala industrial con el objeto de sustituir los tartaratos empleados en los polvos de repostería por el lactato de calcio pero este no tuvo buen éxito. Leicheman en 1886 produjo un cultivo puro de un *microorganismo* al cual llama bacilo *Delbrueckii*. Luego la producción de ácido láctico por fermentación ha llegado a hacer una poderosa industria. Actualmente se le produce a partir de azúcar, glucosa suero de leche, y otros hidratos de carbono etc.

El ácido láctico α - hidroxipropionico se encuentra en la naturaleza en muchas sustancias fermentadas, en el tejido muscular y es uno de los principales ácidos orgánicos que se encuentra en los azúcares.

El ácido láctico (11) se presenta como un líquido siruposo a veces con un color amarillo claro con peso específico 1,294 a 25°C. es miscible con el agua, alcohol ester pero es insoluble en cloroformo.

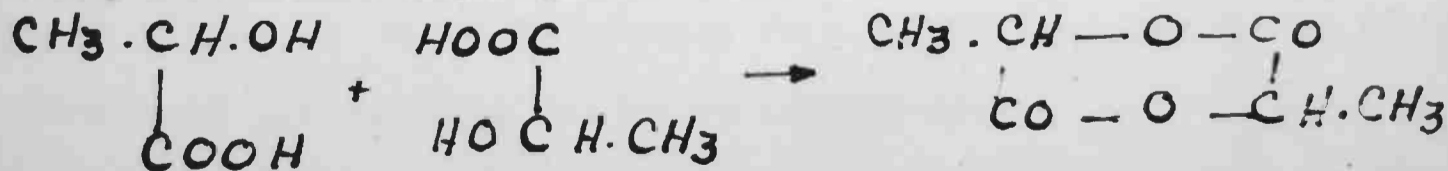
El ácido láctico contiene un carbono asimétrico y existe en tres formas (2) ácido láctico dextrógiro o ácido sarcoláctico modernamente designado L-(+) cuando es puro tiene punto de fusión de 52,8°C. esta forma es metabolizada por el cuerpo humano. El ácido levógiro propiamente designado como D-(-) tiene también punto de fusión de 52,0 C. Este no es metabolizado por el cuerpo humano y es así excretado como tal en grandes cantidades, sus sales son destrorotatorias.

Calentando vigorosamente las formas ópticamente activas del ácido láctico se convierten en la forma inactiva. El ácido láctico que se obtiene por fermentación generalmente es inactivo. Peterson (4,5) y Tatum (6) y colaboradores demostraron que el *Clostridium acetobutylicum*, era causa de que las bacterias lácticas que producían ácido activo originasen el inactivo. Así fueron finalmente Katagiri y Kitahara (7,8) quienes demostraron que la enzima racemiasa es la que convierte los ácidos lácticos activos en inactivos. Cuando se calienta una solución de ácido láctico para concentrarla, forma el anhídrido $\text{CH}_3\text{-CH(OH)-CO-O-CO-CH(OH)-CH}_3$ es un líquido siruposo, fácilmente transformable en ácido láctico por calentamiento a ebullición con soluciones diluidas de ácidos y álcalis. Si se trata de concentrar aún más la temperatura de 130-140°C. resulta la obtención de ácido láctil-láctico al cual se le asigna la siguiente estructura



el cual se presenta como una masa muy viscosa y amorfa, casi completamente insoluble en agua, soluble en alcohol en alcohol y éter.

Por prolongado calentamiento de ácido láctico se obtiene a 140°C. y 10 mm de presión, la lactida correspondiente.(11)



La lactida es suavemente hidrolizada a ácido láctico por tratamiento con agua y rápidamente por ebullición con álcalis

Salos del ácido láctico: (3)

Lactato de potasio, es un líquido viscoso que se conoce con el nombre comercial de perbaglicerina, se usa como sucedáneo de la glicerina.

Es cristalizable, es sumamente higroscópico y soluble en alcohol.

Lactato de sodio, es un líquido muy viscoso. No cristaliza, es soluble en alcohol, agua y es sumamente higroscópico.

Lactato de calcio, sólido blanco cristaliza con 5 moléculas de agua. Se obtiene en la fermentación láctica por neutralización con carbonato de calcio o de leche de cal, se disuelve lentamente en agua fría y rápidamente en agua caliente.

Lactato de bismuto, se presenta como un polvo blanco poco soluble en agua. Se obtiene a partir del subnitrate de bismuto tratándole con ácido láctico. Tiene aplicación medicinal.

Lactato de estroncio, cristaliza con una molécula de agua. Polvo blanco. Se obtiene del carbonato de estroncio y ácido láctico. Tiene aplicación medicinal.

Lactato de hierro (ferroso), cristaliza con tres moléculas de agua. Se presenta en forma de agujas de color verde claro o cristales blancoverdes. Se obtiene tratando una solución concentrada de lactato de calcio con la cantidad calculada de cloruro ferroso. Tiene aplicaciones medicinales.

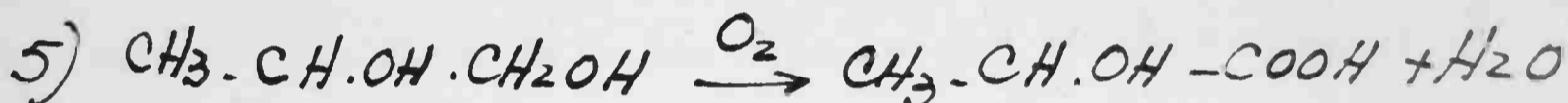
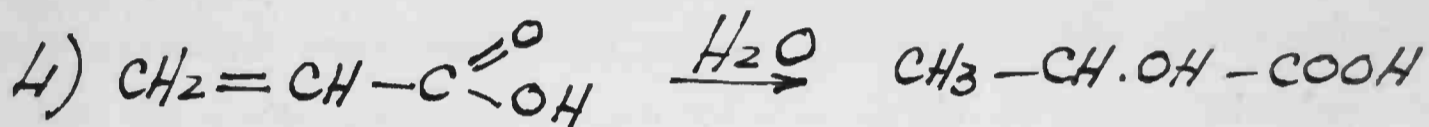
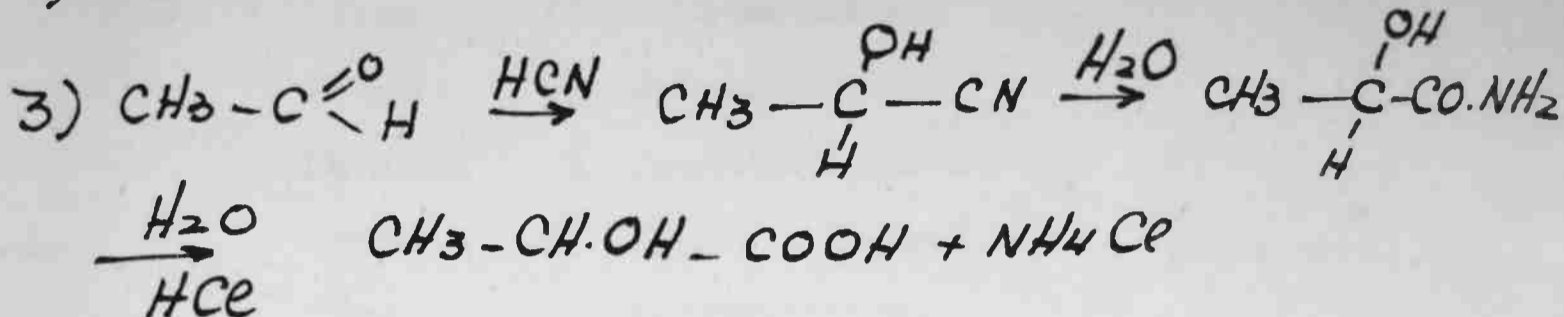
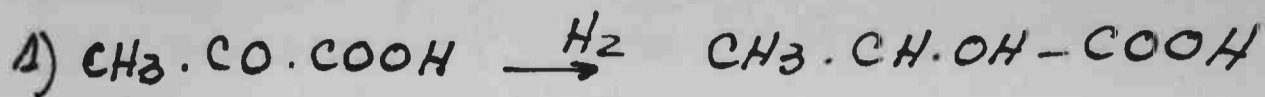
Lactato de magnesio, cristaliza con una molécula de agua. Se presenta en forma de agujas prismáticas. Se obtiene tratando el ácido láctico con una suspensión de carbonato de magnesio. Tiene aplicaciones medicinales.

Lactato de litio, es un polvo blanco. Se obtiene tratando ácido láctico con carbonato de litio. Esta sal no es higroscópica.

Lactato de mercurio, polvo blanco soluble en agua. Se obtiene a partir del ácido láctico y óxido de mercurio rojo.

4

El ácido láctico puede ser obtenido por síntesis (12) aplicando los métodos de obtención de ácidos alcoholés, por ejemplo.



Los métodos que se utilizan en la industria para la obtención de ácido láctico son por fermentación. Las materias primas usadas son harina de patatas, almidón de patatas, maíz, melazas, glucosa, suero de leche que contiene alrededor de 4% de lactosa. La harina de maíz o de patatas puede ser hidrolizada por enzimas o por ácidos (ácido sulfúrico). Los almidones también son sometidos a tratamientos de hidrólisis, para su transformación a maltosa y glucosa.

Siempre se elige el hidrato de carbono teniendo en cuenta su disponibilidad, su aplicación a la fermentación, ya sea con o sin tratamiento previo. Así en los Estados Unidos se emplean glucosa, melaza y suero. Alemania utiliza en gran escala almidón de patatas. En la República Argentina se usa suero de leche, glucosa. Recientemente se ha hecho un estudio de la utilización de las melazas argentinas empleando lactobacilos. (13)

CAPITULO SEGUNDO

MICROORGANISMOS USADOS EN LA FERMENTACION LACTICA

Las bacterias lácticas de acuerdo al Bergays Manual of Determinative Bacteriology (séptima edición, año 1957) están incluídas en la

- División I Protophyta
- Clase II Schizomycetes
- Orden VI Eubacteriales
- Familia X Lactobacillaceae
- Tribu II Lactobacillaceae
- Género I Lactobacillus

Las especies pertenecientes a este género son las más importantes desde el punto de vista, para la obtención de ácido láctico por fermentación.

La clave de clasificación de las especies del género Lactobacillus según el citado Manual, es la siguiente:

I. Homofermentativas. Producen fundamentalmente ácido láctico y trazas de otros productos, a partir de glucosa.

Sub-género Lactobacillus Beijerinck.

A. Temperatura óptima entre 37 y 60°C. & más

1. Producen ácido láctico a partir de lactosa

a. Temperatura óptima entre 37 y 45°C.

b. Producen ácido leve-rotatorio

1. Lactobacillus caucasicus

2. Lactobacillus lactis

bb. Producen ácido ópticamente inactivo o ácido dextroláctico

c. Microaerófilicos

3. Lactobacillus helveticus

4. Lactobacillus acidophilus

cc. Anaerobios aislados recientemente

5. Lactobacillus bifidus

6

aa. Temperatura óptima entre 45 y 62°C. no forman ácido a partir de maltosa

6. *Lactobacillus bulgaricus*

7. *Lactobacillus thermophilus*

2. No producen ácido a partir de lactosa

8. *Lactobacillus delbrueckii*

B. Temperatura óptima entre 23 y 32°C.

1. Producen ópticamente activo

a. Produce ácido dextro-rotatorio, a menudo prefiere lactosa a sacarosa y maltosa

9. *Lactobacillus casei*

aa. Produce ácido leve-rotatorio

10. *Lactobacillus leichmannii*

2. Produce ácido ópticamente activo

11. *Lactobacillus plantarum*

II. Heterofermentativas Producen considerables cantidades de otros productos además de ácido láctico a partir de glucosa (anhídrido carbónico, alcohol, ácido acético; manitol a partir de fructosa. Sub-género *Saccharobacillus* vanlaer

A. Temperatura óptima entre 28 y 32°C. Usualmente fermentan arabinosa

1. Fermentan rafinosa, sacarosa y lactosa

12. *Lactobacillus pastorianus*

13. *Lactobacillus buchneri*

2. No fermenta rafinosa y rara vez sacarosa y lactosa

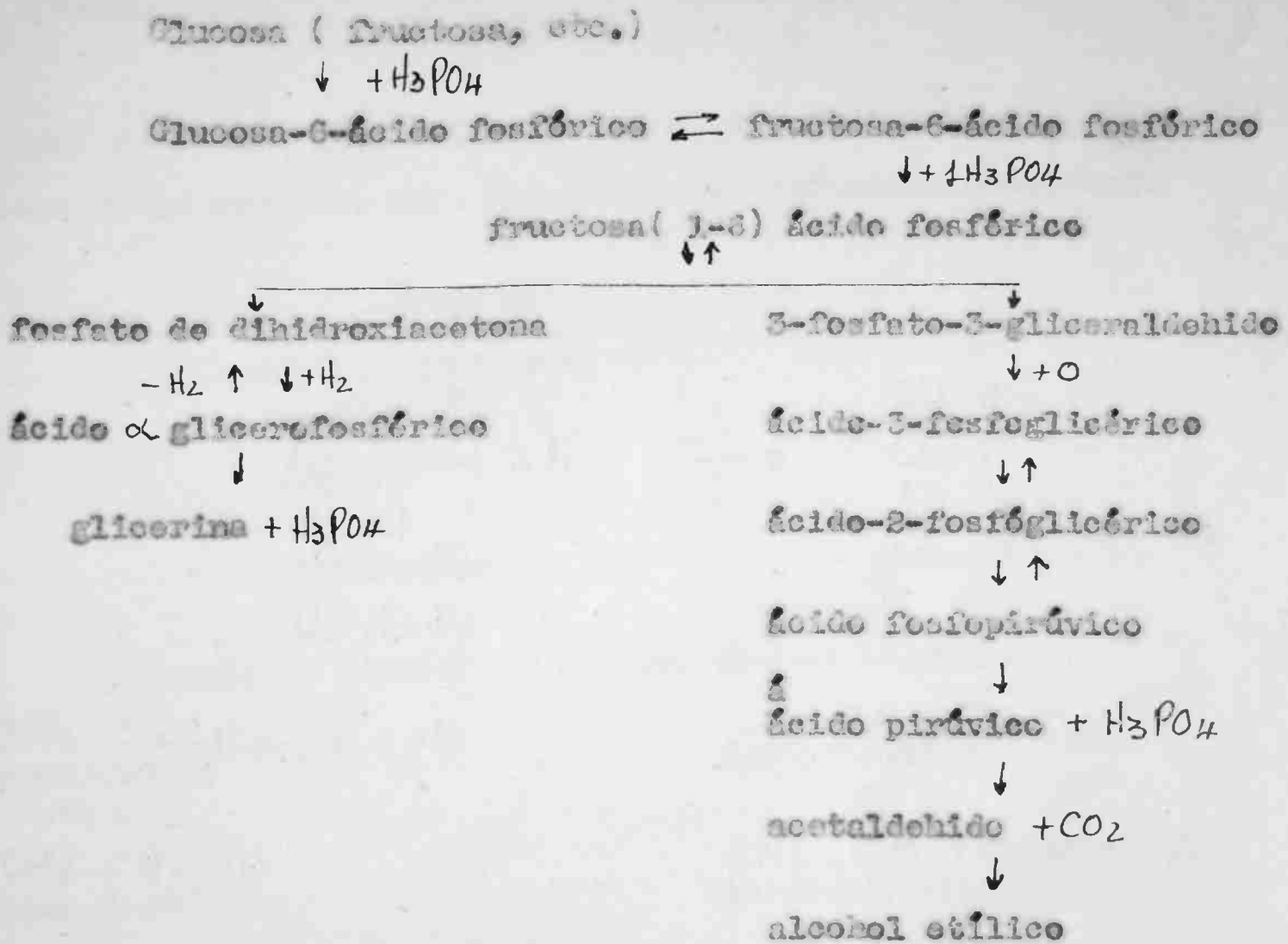
14. *Lactobacillus brevis*

B. Temperatura óptima entre 35 y 40°C. O'más no fermenta arabinosa

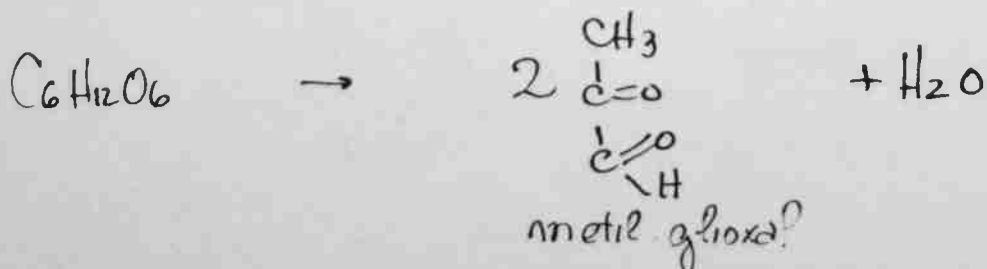
15. *Lactobacillus fermenti*

Se interpreta que la acción de las bacterias lácticas homofermentativas, sobre los hidratos de carbono, en la fermentación ocurre de la siguiente manera: se ha sugerido que los pasos iniciales de la fermentación láctica son iguales a los de la fermentación alcohólica(14)

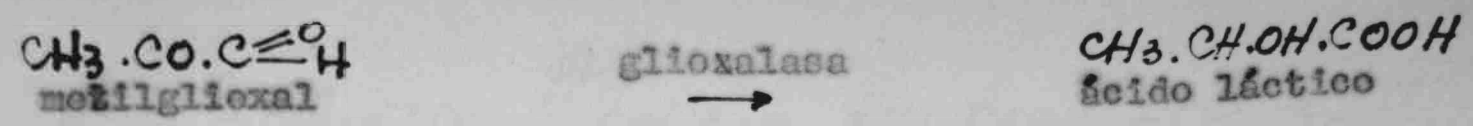
En el siguiente esquema de Meyerhof, que resume las reacciones reversibles, se indica la relación de cada producto intermediario o final con su predecesor inmediato.



El Lactobacillus delbrueckii convierte el hexosudifosfato, en metil glicoxal y a este último cuantitativamente en ácido láctico racémico



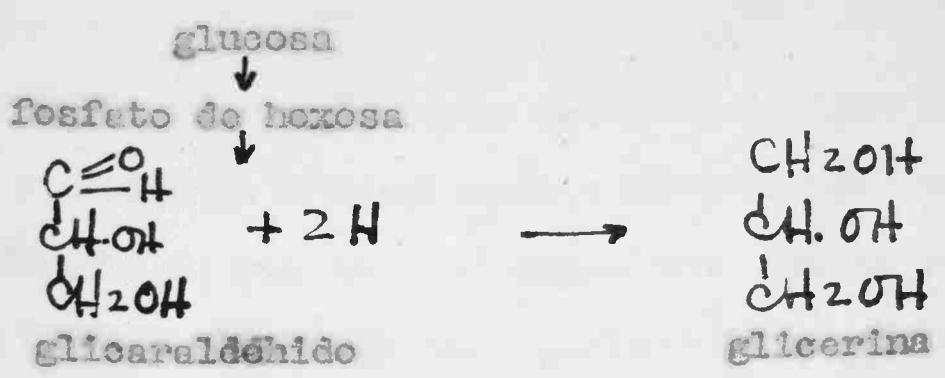
Por un mecanismo similar a la fermentación alcohólica



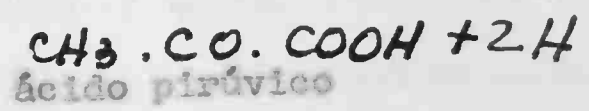
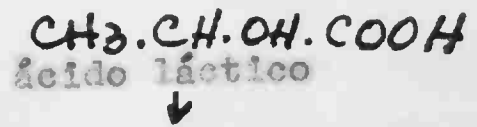
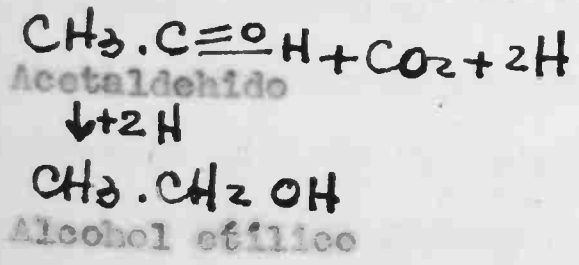
Resumiendo tenemos



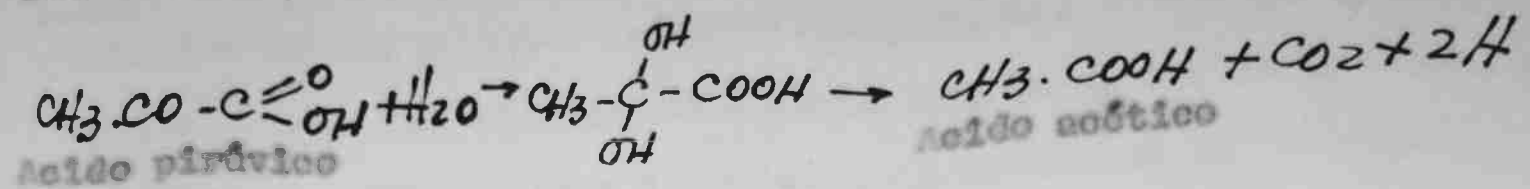
Nelson y Werhman (9,10) sugieren el siguiente esquema, para el catabolismo de la glucosa, para las bacterias Heterofermentativas.



compuesto de hipotético de tres átomos de carbono



Nelson y Verigan (10) han demostrado que el ácido pirúvico puede fermentar por el *L. lycopersici* para dar cantidades equimoleculares de ácido acético, ácido láctico y anhídrido carbonico



Una molécula de ácido pirúvico se hidrata para dar una de ácido acético y una de anhídrido carbonico mientras que otra molécula se reduce a ácido láctico.

Las cepas de las bacterias productoras de ácido láctico pueden ser mantenidas (26) en un medio de agar-glucosa o glucosa-peptona conteniendo un exceso de carbonato de calcio. Los organismos tienen larga vida cuando son colocados en un medio estéril que contiene 5% de glucosa y un exceso de carbonato de calcio, bajo estas condiciones los cultivos se conservan en perfecto estado en una heladera.

Un medio recomendado por Henneberg (42) para mantener bacterias lácticas se prepara así: 50 g. de centeno triturado se hacen hervir con un litro de agua y 10 g de carbonato de calcio vpdo. el cual anteriormente ha sido previamente esterilizado. El medio con el carbonato de calcio se esteriliza tres veces media hora cada vez, en corriente de vapor en intervalos de 24 hs.

Características del *Lactobacillus delbrueckii*

Bacilos de 0,5 a 0,8 por 2 a 9 micrones de largo, a menudo aislados y en cadenas cortas, no móviles y gram positivos. Producen ácido láctico a partir de maltosa, sacarosa, glucosa, fructosa, galactosa y dextrina.

CAPITULO TERCERO

CARACTERISTICAS GENERALES DE LA FERMENTACION LACTICA

El tipo de organismo a seleccionar para una fermentación depende en primer lugar del hidrato de carbono que ha de ser fermentado y de la temperatura que se vaya a emplear. Si se usa el *L. delbrueckii* la temperatura óptima esta entre 45-50°C. Esta temperatura tan elevada de la fermentación hace posible su realización sin esterilización previa.

El *L. Casei* o el *Strept. lactis* son incubados alrededor de 30°C.

El *L. bulgaricus* puede ser incubado de 45°-50°C.

La temperatura óptima debe determinarse experimentalmente para cada tipo de fermentación.

Para fermentar leche o suero pueden emplearse *L. bulgaricus*, *L. Casei*

Para fermentar fécula hidrolizadas, hidratos de carbono, glucosa y melazas se emplea frecuentemente el *L. delbrueckii*.

La concentración de azúcar de los mostos varía de 5-20% . Una elevada concentración produce medios muy viscosos y perjudica el efecto salino de alta concentración de lactato de calcio.

Las bacterias empleadas en la producción de ácido láctico, suelen ser de naturaleza microaerofílica o anaerobia. El *Strept. Lactis* se considera como aerobio facultativo.

En la fermentación láctica el pH. se mantiene alrededor de 5,6 este se logra adicionando carbonato de calcio en concentraciones de 6% al 10% Se produce lactato de calcio lo que impide que se desarrolle una gran acidez continuando la marcha de la fermentación normalmente.

Algunos investigadores (1) aconsejan el uso intermitente de carbonato de calcio, para que la reacción ácida en algunos instantes realice una purificación del medio de cultivo.

11

Para lograr fermentaciones rápidas, cuando se utilizan lactobacilos, es necesaria la presencia de ciertas sustancias que actúan como factores de crecimiento de dichos microorganismos. Ha quedado definitivamente demostrado, la importancia de la riboflavina, ácido pantoténico, ácido nicotínico y vitaminas B₆ y muchos otros (12,13,15,16,17,18). Es lógico entonces que dichas sustancias deben ser incorporadas, a los medios de cultivos utilizados en las fermentaciones. Así se ha utilizado con excelentes resultados, los brotes de malta como fuente nutritiva fundamental en la fermentación láctica de glucosa y otros hidratos de carbono incluyendo melazas (19,20,21,22).

También se han ensayado: corn steep (23), extracto de levaduras, micelio de penicillium (13).

El rendimiento y el tiempo de fermentación, dependen de la clase, cantidad y combinación de sustancias nutritivas.

Las fermentaciones suelen completarse en el espacio de 24 hs, a 7 días depende esto de la concentración de azúcar y sustancias nutritivas agregadas. Así se han obtenido rendimientos de más de 90% en ácido láctico (13).

Los brotes de la cebada germinada contiene un factor de crecimiento termolábil que se destruye por calentamiento durante 10 minutos a 65°C. (41).

Esta sustancia es recomendada para el lactobacilo *delbrueckii*. El requerimiento preciso varía para cada microorganismo, pero la mayor parte, incluye las vitaminas y sustancias ya mencionadas. Se han realizado fermentaciones industriales con éxito usando brotes de malta en mezclas con sales amoniacales (35).

Corn steep: líquido de maceración del maíz

CAPITULO CUARTO

MÉTODOS DE OBTENCIÓN DEL ÁCIDO POR FERMENTACIÓN

Roger y Whittier (27) estudiaron un proceso de fermentación continua para la producción de ácido láctico usando como medio de cultivo suero de leche.

La masa del fermentador se inoculara con un cultivo de *L. bulgaricus* o *L. casei*, y a veces con una levadura que a causa de su crecimiento asociado acelera la fermentación. Se agita el medio ya inoculado manteniendo la temperatura a 43°C, durante toda la fermentación.

Cuando el pH del medio desciende a 5,0, que ocurre generalmente después de 12 hs. se añade cal para llevar el pH. entre 5,0 y 5,8 que es zona favorable para las bacterias lácticas, pero inhibitoria para el desarrollo de los organismos perjudiciales. A intervalos regulares de 12hs. se determina el contenido del suero en lactosa; cuando la cantidad de esta es menor del 1% se da por terminada la fermentación. Se hierve el suero fermentado para impedir el desarrollo de bacterias y coagular las proteínas. Luego se filtra y por enfriamiento se separa lactato de calcio. Cuando se quiere obtener ácido láctico, se añade ácido sulfúrico para precipitar el calcio y liberar el ácido.

Existe un proceso comercial que se basa en las investigaciones de Rogers y sus colaboradores del Bureau of Animal Industry perteneciente, al departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norte América, habiendo contribuido a su industrialización Chapell y colaboradores. Este procedimiento ha sido descrito por el Dr. L. V. Burton (28).

Al suero previamente pasteurizado se inoculara con *L. bulgaricus*, durante la fermentación se neutraliza intermitentemente con cal, el ácido láctico. Al final de la fermentación se calienta para coagular proteínas se filtra y luego se decolora con carbon activado. Se obtiene así lactato de calcio que se puede purificar por cristalización o transformar en ácido láctico por tratamiento con ácido sulfúrico.

13

Tatum y Peterson (19) han descrito un método para obtener ácido d-láctico en pequeña escala trabajando con aproximadamente 20 lts. de medio, que contiene 3% de cereales y 3% de brotes de malta. Usan como fermentadores matraces Pyrex de 20 litros de capacidad. Este medio previamente esterilizado, se inocular con un cultivo puro de organismos productores de ácido d-láctico. La temperatura más favorable para el organismo empleado fue de 30 a 37°C. A las 24 hs. se añade un exceso de carbonato de calcio. Durante los días que dura la fermentación se agitan frecuentemente los matraces con el fin de facilitar la neutralización del ácido láctico. La fermentación es completa desde 6 a 10 días. La tabla siguiente contiene datos de varias fermentaciones realizadas por Tatum y Peterson.

organismo	temperatura del medio de cultivo	Glucosa convertida en ácido láctico
Strept. lactis, R.	30°C.	91%
Strept. lactis, R.	30°C.	97%
L. casei.	30°C.	93%
L. delbrueckii, S.	37°C.	98%
L. delbrueckii, S.	37°C.	96%
L. delbrueckii, S.	37°C.	92%

En el año 1940, Pan, Peterson y Johnson (21) realizan un trabajo en el cual para acelerar la fermentación láctica de melazas y glucosa, usan como sustancia nutritiva, para el lactobacilo *Delbrueckii*, brotes de cebada germinada. El incremento de la velocidad de fermentación lo ocasiona según los autores, un factor de crecimiento termolábil contenido en el germen de la cebada.

Estos autores han realizado fermentaciones con distintos microorganismos, en medios que contienen cantidades de glucosa que van del 5 al 10%,

carbonato de calcio 6% y brotes de cebada germinada 3%. Cada 24 hs, se hicieron análisis de glucosa por el método de Stiles Peterson y Fred (29). Al fin de cada fermentación valoraban el ácido láctico producido por el método de Friedeman y Graeser (40).

Con los valores obtenidos de los distintos ensayos realizados, se han formado las siguientes tablas.

TABLA N°1

Efecto de la temperatura y concentración de glucosa sobre la velocidad de fermentación (a)

Organismo	Temp. °C.	Glucosa concn. %	Fermentación en 48 Hs %	Tiempo para El 95% de Fer. Hr.
L. Delbrueckii A	37	10	18,5	250
L. helveticus	37	10	40,0	165
L. Delbrueckii B	37	10	33,5	200
L. Delbrueckii A	45	10	38,0	200
L. helveticus	45	10	39,5	250
L. Delbrueckii B	45	10	61,4	95
L. Delbrueckii A	45-52(b)	10	45,0	300
L. helveticus	45-52	10	31,0	300
L. Delbrueckii B	45-52	10	59,2	300
L. Delbrueckii A	45	5	35,8 (c)	90
L. helveticus	45	5	45,4 (c)	50
L. Delbrueckii B	45	5	63,3 (c)	38

(a) brotes de cebada germinada 3%; medio esterilizado

(b) 6 horas a 45°C., 12 horas a 48°C., el resto a 50-52°C.

(c) Fermentación en 24 horas

El microorganismo, L. helveicus fermenta tan rápido a 45°C. Como a 37°. Para el L. Delbrueckii (A) y el L. Delbrueckii (B) la mejor temperatura

fué de 45°C. La velocidad de fermentación para concentraciones de glucosa del 5%, es menor de la mitad, que para el 10%.

La siguiente tabla muestra el efecto de distintas sustancias nutritivas sobre la velocidad de fermentación

TABLA N°2

Organismo		Sustancia nutritiva	Fermentación en 48 Hr.	Tiempo para 95% de fermentación
L. Delbrueckii	A	1,5 m.s.	23,0
L. Helveticus		1,5 m.s.
L. Delbrueckii	B	1,5 m.s.	33,3
L. Delbrueckii	A	3,0 m.s.	38,0	200
L. Helveticus		3,0 m.s.	39,5	250
L. Delbrueckii	B	3,0 m.s.	61,4	94
L. Delbrueckii	A	6,0 m.s.	53,5	150
L. Helveticus		6,0 m.s.	64,4	75
L. Delbrueckii	B	6,0 m.s.	95,4	48
L. Delbrueckii	A		50,2	110
L. Helveticus		3,0 m.s. más 0,5% de peptona	60,5	120
L. Delbrueckii	B		76,1	75
L. Delbrueckii	A	3,0 m.s.- 0,5 g.r.	47,0	125
L. Helveticus		3,0 m.s.- 0,5 g.r.	56,0	108
L. Delbrueckii	B	3,0 m.s.- 0,5 g.r.	87,0	59
L. Delbrueckii	A	3,0 m.s.- 1,0 g.r.	54,5	98
L. Helveticus		3,0 m.s.- 1,0 g.r.	75,0	72
L. Delbrueckii	B	3,0 m.s.- 1,0 g.r.	98,2	37

a) medio esterilizado, glucosa 10%, 45°C.

m.s. brotes de cebada germinada; g.r. residuos de granos (cereales) obtenidos de A. F. Langlykke de Hiram Walker, Inc.

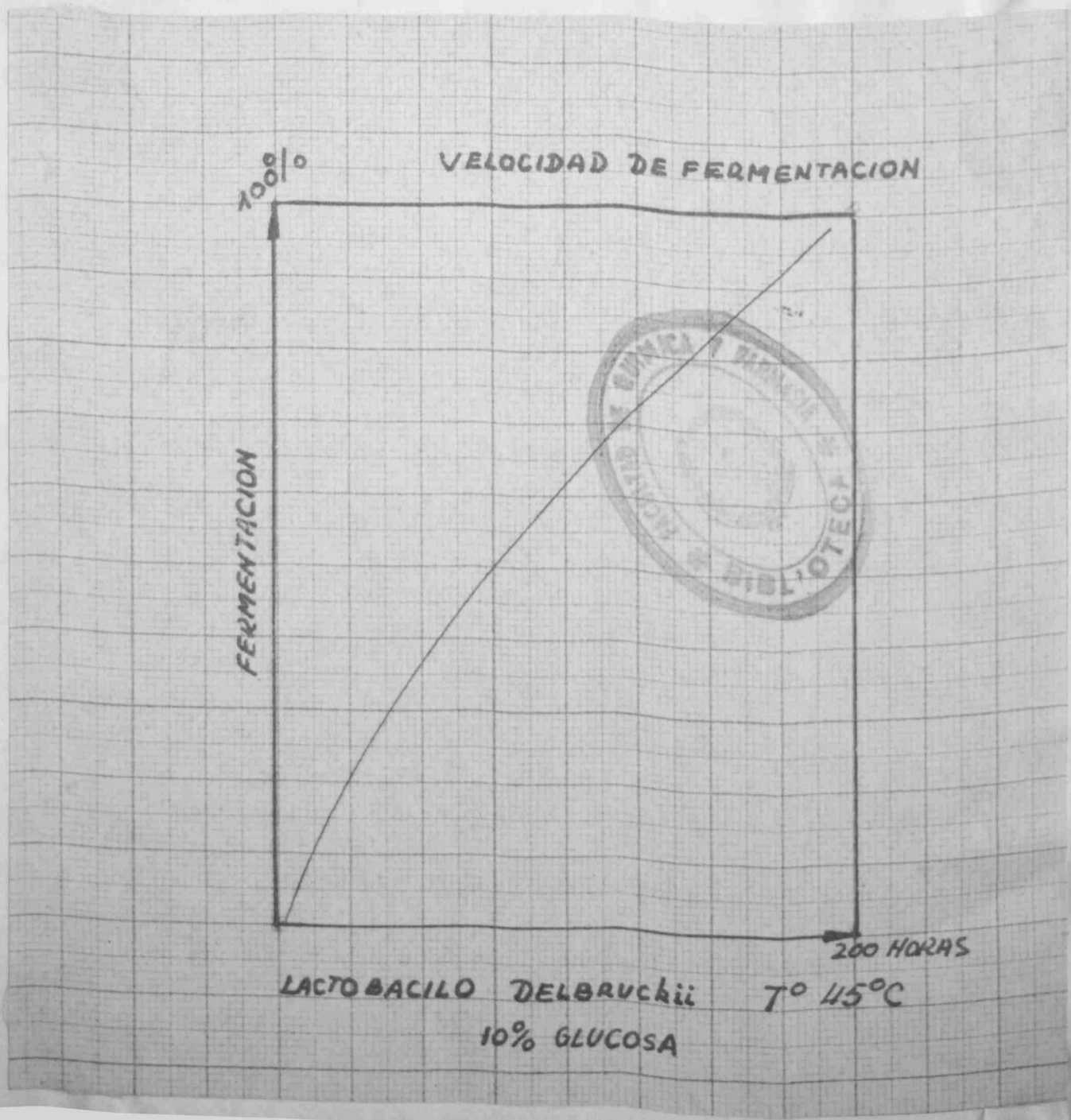
La tabla anterior muestra que el aumento de brotes de cebada germinada

16

hace que aumenta la velocidad de fermentación. Trabajando en las mismas condiciones con *L. delbrueckii* (2), se fermentaron con concentraciones de 10% de glucosa, en tres días. Los resultados de estos trabajos son similares a los resultados obtenidos por Saito and Jirassak (23). Los brotes de cebada germinada son una sustancia efectiva y los autores han realizado trabajos con éxito, reemplazándola por granos germinados de fermentación alcohólica.

El gráfico siguiente muestra como varía el porcentaje de fermentación con respecto al tiempo en horas. El microorganismo usado fue *L. delbrueckii* (2) en un medio que contenía 3% de brotes de cebada germinada y 10% de glucosa.

A y B son de capas distintas de *Lactobacillus delbrueckii*



17

Para la obtención de lactato de calcio o de ácido láctico la American Maise (24) usa como microorganismo *L. Delbrueckii* suministrado por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norte América. El inoculo es pasado de un tubo a un frasco de 500 ml. y finalmente a un frasco de 5 litros conteniendo 3 litros de medio, después de 24 hs. este fué usado para inocular 1425 litros de medio, esta operación se realiza en tanques de acero inoxidable equipados con agitadores verticales. Este medio contiene: 15% de glucosa, 0,375% de brotes de malta, 0,25% de fosfato diamónico como sustancias nutritivas y 10% de carbonato de calcio para mantener el pH. entre 5,8 a 6, después de 24 horas a 48°C. se inoculan los fermentadores que han sido cargados con el mismo medio. Cada tanque de medio de cultivo, sirve para inocular 25.000 litros. Los pequeños fermentadores son llenados con un volumen de 17.400 litros y los fermentadores grandes 91.200 litros. La temperatura de fermentación se mantiene regulada automáticamente a 48°C por medio de serpentinas con circulación de agua caliente. Después de cada operación los tanques son lavados con agua caliente luego llenados con agua y calentados a ebullición antes de ser usado. La fermentación se realiza controlando cada 24 hs. la concentración de glucosa y el pH. Se considera completa la fermentación cuando la concentración de glucosa es menor del 0,01%. El microorganismo es inactivado por calentamiento a 82°C. el tiempo de fermentación varía de 4 a 6 días. El ácido láctico producido reacciona con el carbonato de calcio, formando lactato de calcio. El gráfico N°2 muestra el aumento de la cantidad de lactato de calcio y la disminución de la concentración de glucosa, durante la fermentación, a medida que transcurre el tiempo. Del fermentador, el líquido es bombeado a un tanque de sedimentación donde se agrega lechada de cal hasta llegar al valor de pH. 10,8. La

PRODUCCION DE LACTATO DE CALCIO
CONSUMO DE GLUCOSA

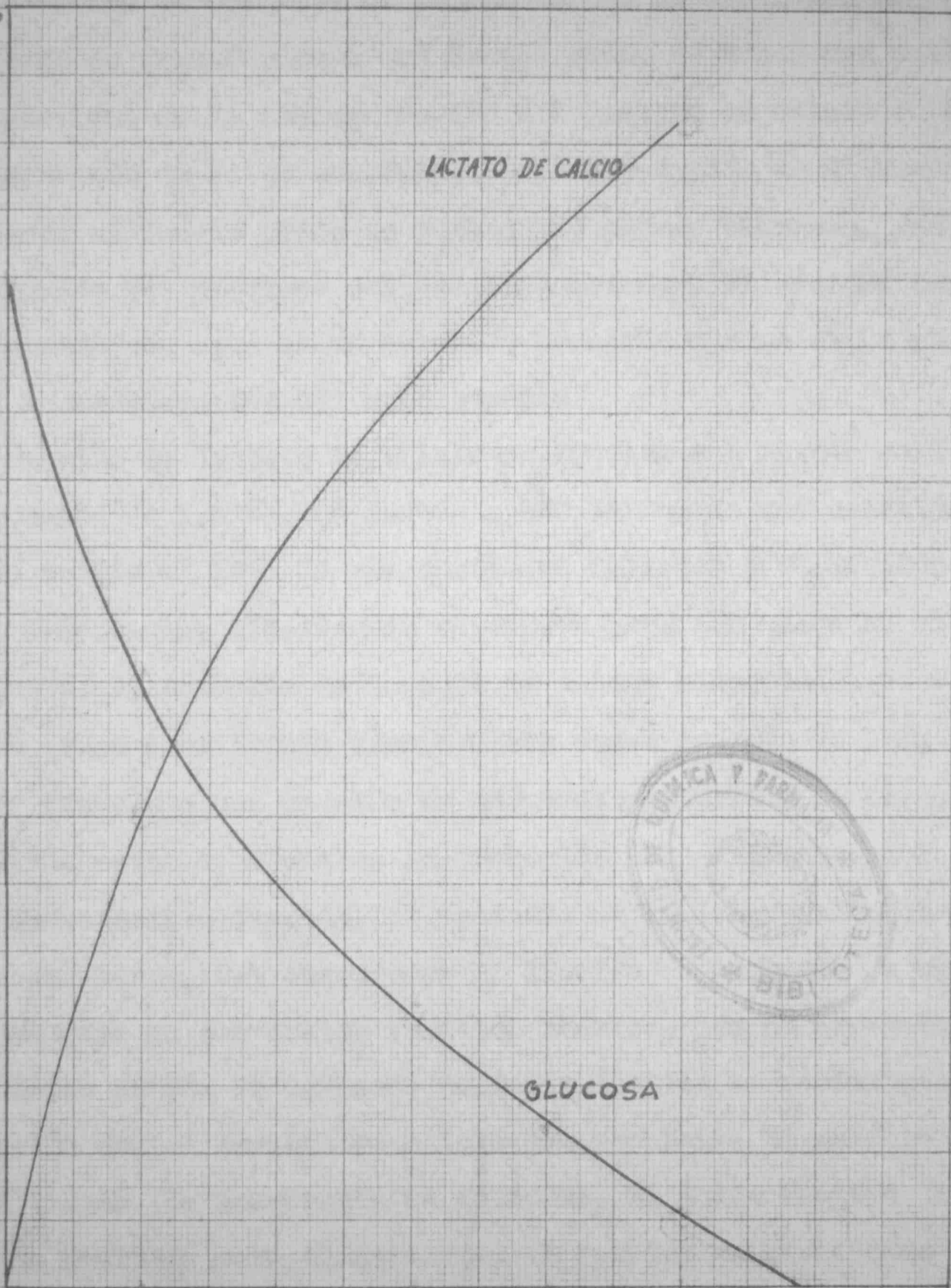
20%

20%

LACTATO DE CALCIO

GLUCOSA

7 DIAS



18

Y la temperatura es mantenida a 82°C. La elevada temperatura y el pH, indicado favorece la coagulación de proteínas, produciéndose una decantación completa, favoreciendo la ulterior filtración. Después de ajustar el pH, la suspensión es agitada durante 30 minutos, y luego se deja decantar de 2 a 6 horas. El líquido claro es decantado y por arriba es bombeado al primer tanque de blanqueo. El residuo por el fondo es transferido a una tanque donde se trata con sulfato de calcio que proviene de la transformación del lactato de calcio en ácido láctico por agregado de ácido sulfúrico, esta suspensión es filtrada. El líquido se manda al tanque donde se realiza el primer blanqueo, junto con el líquido que proviene del tanque decantador. El residuo torta es suspendido con agua en un tanque y bombeado a otra ^{parte} de la planta para la recuperación del subproducto.

La solución de lactato de calcio es tratada con carbon activado en la proporción de 1,4 Kg. de carbón a 152 litros de una solución de lactato de calcio al 14%. La suspensión es filtrada y el líquido se manda a un evaporador, el carbon es reservado para ser usado en el segundo blanqueo. La solución de lactato de calcio blanqueada, es concentrada en un evaporador simple afecto a una concentración de 32%. El evaporador trabaja a una presión de 425mm de mercurio a la temperatura de 71°C. estas condiciones de operación son suficientes para obtener una buena cristalización. El promedio de la evaporación es de 181 Kilos agua por hora. Del evaporador el líquido es bombeado a un tanque de madera para su conversión en ácido láctico, por el agregado de ácido sulfúrico 50°Bé. El agregado de ácido sulfúrico es controlado para que la reacción con el lactato de calcio sea completa. El sulfato de calcio ppdo en el tanque de conversión es filtrado. El ácido láctico se trata con carbon activado para blanquearlo. El residuo es suspendido con agua y

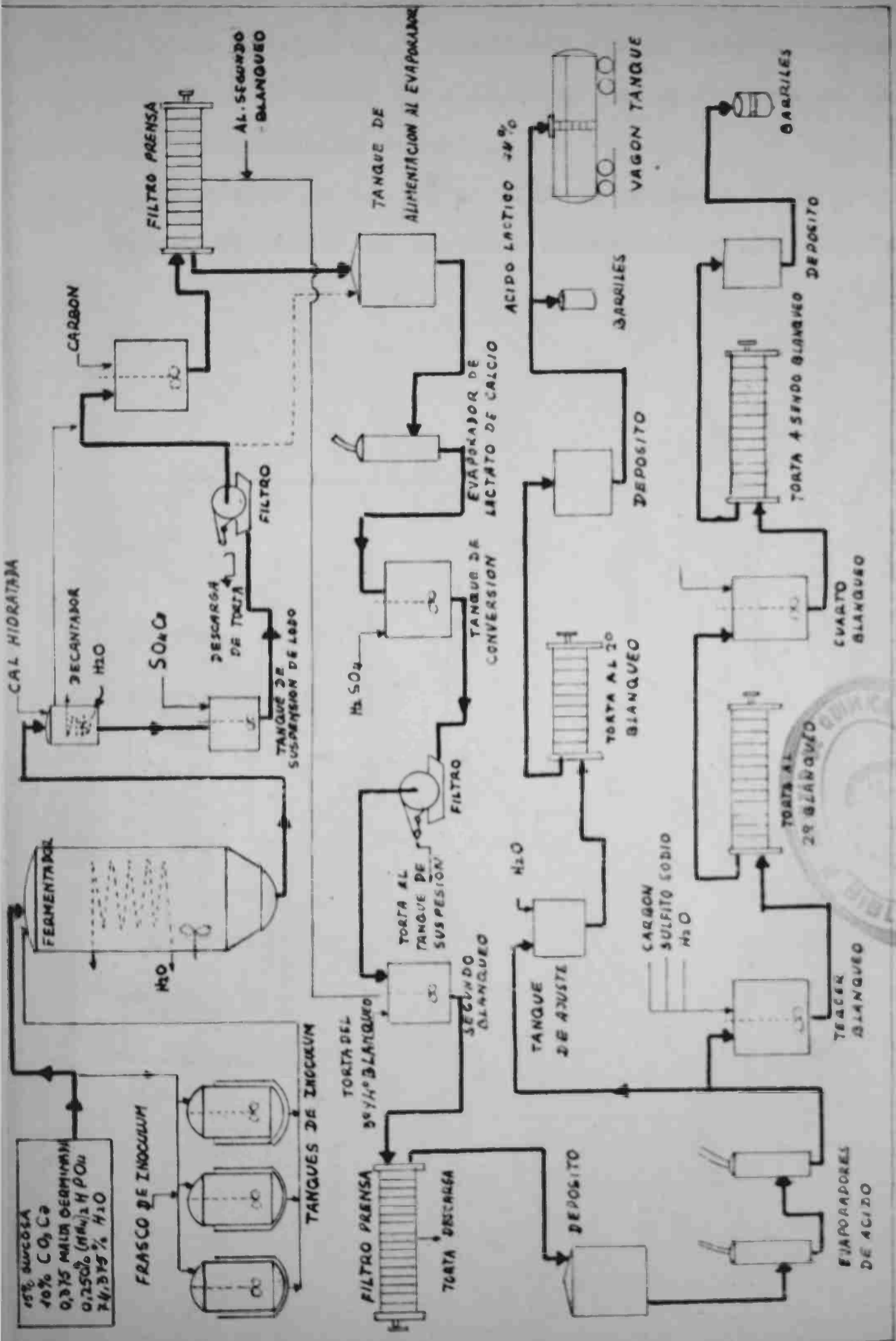


DIAGRAMA DE FABRICACION DE ACIDO LACTICO · PLANTA DE LA AMERICAN MAIZE · PRODUCT Co.

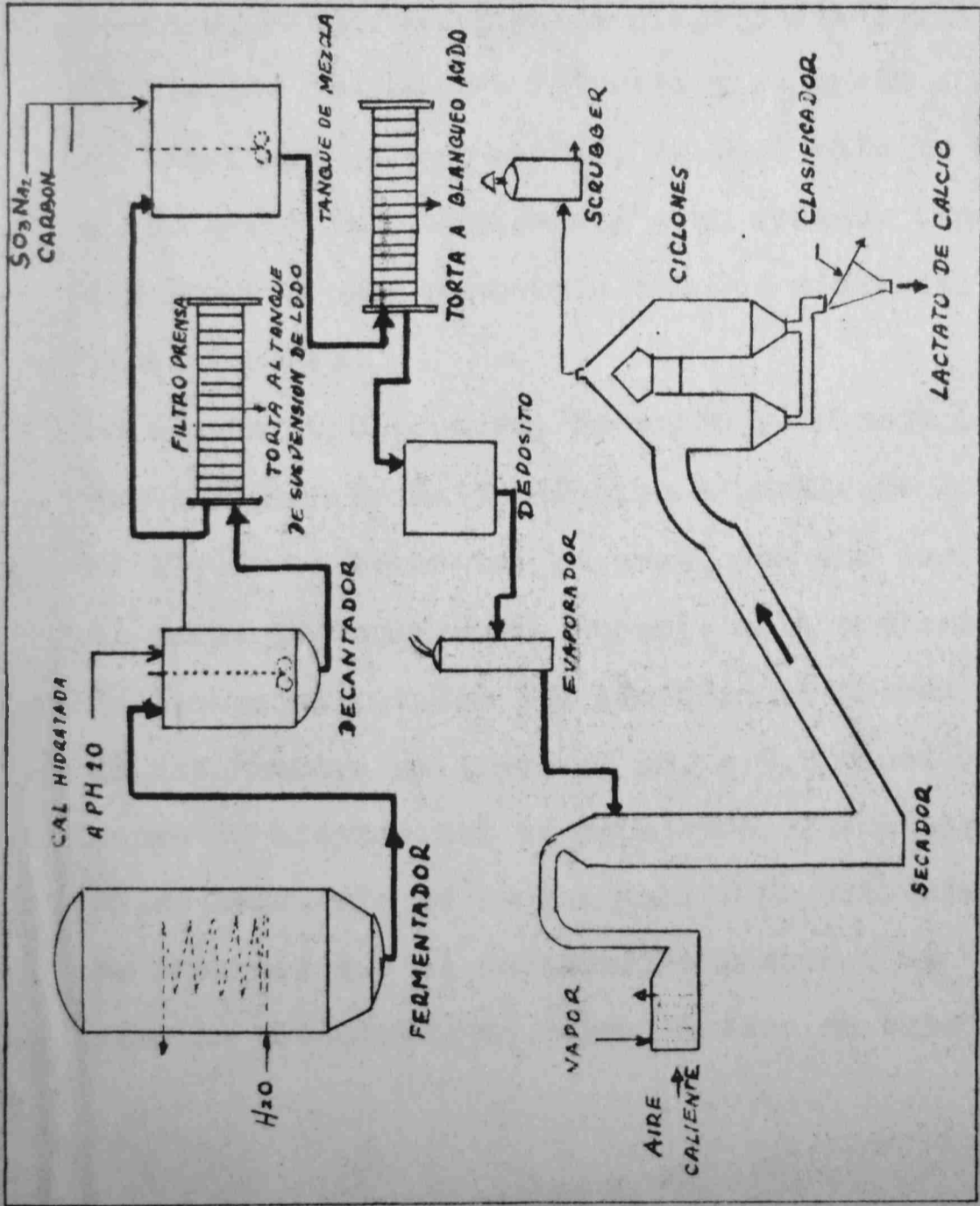


DIAGRAMA DE PRODUCCION DE LACTATO DE CALCIO - AMERICAN MAIZE PRODUCTS Co

lechada de cal para llevar el pH. a 10,0. Esta suspensión es bombeada al tanque que contiene el sludge del fermentador de esta forma se facilita la posterior filtración.

El ácido láctico ya filtrado del carbón activado se manda a un tanque de madera que actúa como depósito de un evaporador, para llevar el ácido a la concentración deseada.

El lactato de calcio es también un producto final y es usado como tal. Para su obtención la American Maize (24) aplica el siguiente procedimiento.

El líquido que proviene del fermentador es tratado con cal para llevar el pH. a 10,0 esta operación se realiza en un decantador, el líquido se pasa por un filtroprensa y luego pasa a un tanque de madera donde se adiciona carbón activado y sulfito de sodio para pptar metales pesados. El pH. es ajustado a 6,2 por adición de ácido láctico al 50%. El líquido tratado es filtrado y se manda a un tanque, que suministra el líquido a un evaporador, de aquí sale la concentración de la solución al 30% y va directamente a un secador tipo spray, que al final del proceso está conectado con dos ciclones, que comunican con un clasificador.

En el año 1948 Leonard, Peterson y Johnson (31) han estudiado un método de obtención de ácido láctico a partir de lejías sulfíticas residuales. El líquido a fermentar se trata con una corriente de vapor para eliminar el anhídrido sulfuroso, durante este tratamiento el pH. se reduce a cerca de 4, a continuación los líquidos se tratan con lechada de cal a 95°C. de esta manera se lleva el pH. a 8,5 y así se mantiene durante aproximadamente 25 minutos, así se ppta todo el sulfito y después se filtra. Si es necesario se emplea anhídrido carbónico para reducir el pH. a 7. Se encontró que el lactobacilo pentosus es superior a otras bacterias para la producción de ácido láctico en este medio. Se prepara para la

inoculación, por repiques repetidos a intervalos de 8 horas en un medio que contiene 3% de brotes de malta y 3% de glucosa. El medio inoculo se prepara haciendo crecer *L. pentosus* durante 8 horas a 30°C. en un caldo que contiene 3% de cebada germinada y 5% de melazas.

Leonard y sus colaboradores encuentran que las sustancias nutritivas no se pueden esterilizar en presencia de los líquidos sulfúricos residuales, por que algunos productos derivados de la lignina pntan con ciertas sustancias nutritivas esto trae como consecuencia una disminución en el rendimiento de ácido láctico. El líquido ya preparado se inocula con 10% en volumen de medio inoculo. El pH, que inicialmente es de 6,5 desciende a las 2,3 hs. hasta 5,6 se mantiene a este valor por adición de una suspensión de cal o de carbonato de calcio. La incubación se mantiene durante 40 a 48 horas a 30°C.

El ácido láctico se obtiene así: la malta residual se elimina por tamizado. El líquido se concentra hasta una concentración en sólido del 40% el pH del concentrado se reduce a 2 por adición de ácido sulfúrico y el ppdo de sulfato de calcio se separa por filtración o centrifugación. El residuo concentrado se extrae con alcohol amílico a 90°C. Este extracto se lava con agua para separar los ácidos (láctico y acético). La solución acuosa de los ácidos se condensa y el ácido acético se elimina por destilación. El producto final tiene aproximadamente la siguiente composición, 90% de ácido láctico, 6% de impurezas y 4% de agua.

En cuanto a los materiales con que se construyen los aparatos usados en la industria de obtención de ácido por fermentación, Peckham (33) aconseja acero inoxidable para los serpentines de transferencia de calor. El fermentador se hace generalmente de madera. No es recomendable el uso del cobre y sus aleaciones, por que son de muy poca vida e introducen considerable cantidad de metal en los líquidos fermentados. El metal noble

no es aplicable. Las bombas de circulación se hacen de acero inoxidable. Los evaporadores de lactato de calcio son equipados con tubos de cobre. El ácido sulfúrico es guardado en tanques recubiertos de plomo y mandado a través de tubos de plomo.

Los filtros prensa son construídos de madera, la tela para los filtros pueden ser algodón o nylon. Las válvulas son recubiertas con vidrios. En general el manejo del ácido láctico y sus materias primas presentan serios problemas de corrosión, los cuales todavía no han sido resueltos satisfactoriamente (33). Los materiales más resistentes a la corrosión son el tantalio y la plata pero no se puede usar por su gran precio.

Purificación

El ácido láctico obtenido por fermentación tiene con él impurezas como ser: glucosa, sulfato cálcico y otras sales. Smith L. T. y Claborn H. V. (32) han desarrollado seis métodos para resolver su separación.

Uno de ellos consiste en tratamiento del lactato de calcio con ácido sulfúrico para liberar ácido láctico (23).

El lactato de calcio es ppdo y sus cristales se lavan con agua, el agua de lavado se evapora hasta 13,5° B \acute{e} y se cristaliza nuevamente lactato de calcio, el agua de lavado se somete al mismo tratamiento. Se obtiene así tres clases de cristales que se mezclan y disuelven en pequeña cantidad de agua a la temperatura de 66°C. en un depósito esmaltado. Luego se agrega carbon decolorante y un coadyugante de la filtración, el líquido que sobre nada se lleva mediante una bomba a un filtro prensa. El líquido se concentra a 11,5° B \acute{e} y se lleva a cubas de cristalización.

La cristalización se efectua lentamente para obtener cristales muy puros. El agua de lavado se une al licor crudo. Los cristales se desecan en un desecador a tunel y constituye la calidad más pura de lactato de calcio. Los cristales así lavados pueden ser empleados en la

fabricación de las mejores calidades de ácido láctico.

Otro método consiste en convertir el lactato de calcio en lactato de cinc que cristaliza más rápidamente que otros lactatos (32). El lactato de cinc se purifica por repetidas cristalizaciones. Por agregado de ácido sulfhídrico, el lactato de cinc ppta sulfuro de cinc y se libera ácido láctico. Se añade a continuación carbón activado para decolorar y se filtra. El filtrado se concentra al vacío.

Un tercer método se fundamenta en la formación de ésteres que se purifican y se hidrolizan después para liberar ácido láctico puro.

Se agrega alcohol metílico al lactato en la proporción de 10 a 20 moles de metanol para un mol de lactato. Todas las pdes no solubles se separan por filtración y se añade ácido sulfúrico con dos finalidades, liberar ácido láctico y catalizar la reacción de esterificación. Para esterificar se calienta la mezcla a reflajo 8 horas, se separa por filtración las sustancias pdas y por destilación el exceso de metanol. El agua y el lactato de metilo se destilan en vacío a baja temperatura. Después de diluir el destilado por 2 ó 3 partes de agua destilada, se fracciona lentamente en la columna a la presión atmosférica.

Después de hidrolizar el lactato de metilo se recupera el alcohol metílico y se destila al vacío el ácido, este método parece ser el más eficaz y económico, para la preparación de ácido láctico químicamente puro.

También puede purificarse oxidando ligeramente el licor crudo que contiene los lactatos e ácido láctico. Como oxidante se usa hipoclorito de calcio e de sodio, permanganato de potasio, cromato de potasio ácido nítrico y agua oxigenada. El ácido láctico se extrae de sus soluciones acuosas por medio de varios disolventes, uno de los cuales es el éter isopropílico. Este método es peligroso a causa de inflamabilidad

del éter y la posibilidad de formación de peróxido explosivos.

En el año 1943 Filanchiones y Fisher (36) han descripto un método para purificar y preparar lactato de metilo directamente a partir de la solución acuosa de ácido impuro. Los vapores de alcohol metílico se pasan a través de la solución acuosa de ácido que se quiere purificar. Los vapores afluentes que son una mezcla de metanol, agua y lactato de metilo se condensan. El condensador se redestila para recuperar el lactato de metilo.

Calidades comerciales del ácido láctico.

Acido láctico comercial: se puede preparar a partir del licor crudo de lactato de calcio, este tiene una densidad de 13,5 Bé, se decolora con carbón activado y se trata además con agentes químicos, para ppar impurezas y metales pesados, la mezcla se adiciona de ácido sulfúrico y se filtra al vacío, el filtrado constituye una solución de 22% de concentración que se almacena en depósito de madera. Este ácido se concentra a (50 - 60%) el ácido concentrado se decolora y el líquido filtrado se lleva a depósitos esmaltados donde se ajusta la concentración del ácido al valor deseado 44 a 50%. La distribución se hace en barriles de madera.

Acido láctico para uso comestible se obtiene a partir del lactato de calcio de primera cristalización. El lactato de calcio se disuelve en pequeña cantidad de agua caliente, en un tanque de madera y a continuación se adiciona de ácido sulfúrico en cantidad para que todo el calcio pase a sulfato de calcio. Luego se trata con carbón activado y se agita bien la mezcla, se separan los ppos por filtración a vacío. El ácido láctico resultante de 28°Bé se diluye a concentración de 50 a 44% almacenándolos en barriles de madera. La calidad de ácido láctico transparente es de gran pureza y es empleada en la industria química. Para su fabricación se emplea lactato de calcio. El procedimiento es análogo al empleado para la

calidad anterior. Una vez neutralizado el calcio con el ácido sulfúrico se añade carbón activado se filtra al vacío. Luego se evapora hasta 18°Bé. Este ácido ha de estar enteramente desprovisto de calcio y así se emplea ácido sulfúrico para purificar las últimas trazas de esta sustancia. El ácido no debe dar ningún ppdo con oxalato de amonio. El exceso de ácido sulfúrico puede eliminarse por adición de hidróxido de bario, pero es conveniente que haya un ligero exceso de ácido sulfúrico que reaccione con el calcio, que seguramente ha de tener el agua de dilución, después del agregado de hidróxido de bario se filtra y se añade agua hasta la concentración deseada.

CAPITULO V

APLICACIONES DEL ACIDO LACTICO Y DEL LACTATO DE CALCIO

Una aplicación importante del ácido láctico es en la industria de la alimentación (35). El ácido comestible es usado como un acidulante en muchas clases de alimentos y bebidas. Las propiedades que lo hacen particularmente aplicable, para su uso en los productos alimenticios son: 1) tiene un suave gusto ácido. 2) El ácido láctico no enmascara ni suprime otros gustos. 3) En algunos alimentos actúa como preservativo. 4) En su forma líquida simplifica muchos problemas de aplicación.

Es empleado para ajustar el pH. en la producción de cerveza, gelatinas queso y otros alimentos. En la fabricación de cerveza es usado para ajustar el pH. del agua dura y para evitar el desarrollo de bacterias productoras de ácido butírico, durante la fermentación. El ácido láctico se forma naturalmente en el mosto de la cerveza, por lo tanto es preferible su uso a otros ácidos. El pH. de la gelatina debe ajustarse alrededor de 3,1 a 3,4 para obtener el endurecimiento apropiado, ello se consigue con el agregado de ácido láctico. El uso de ácido láctico elimina la necesidad de disolver parte el ácido, como lo requieren el cítrico o tártrico. En la elaboración de quesos el pH es ajustado de 4,8 a 5,1 con ácido láctico que actúa al mismo tiempo como preservativo. Pequeñas cantidades son usadas en la manteca sin salar por la misma razón, el ácido láctico se encuentra naturalmente en la leche agriada y por lo tanto su agregado, no es considerado una sustancia extraña. También es usado para acidular los pickles. En general se aplica a todos aquellos alimentos, a los cuales hay que darles un gusto ácido.

Algunas industrias usan el ácido técnico, otras la calidad comercial. Así se usa en la curtiembre, en la industria textil, en el teñido de ciertos tipos de lanas etc.

El lactato de amonio es usado como un catalizador en la aplicación de varios tipos de resinas para el acabado de fibras de rayon y algodón.

El ácido láctico es usado también en la producción de agentes humectantes de gran aplicación en la industria textil.

El lactato de calcio se usa en la formulación de polvos de hornear. Como agente humectante se usa en la industria del tabaco. Cuando es muy puro se preparan con él inyectables.

Fisher y Filanchione (36) han indicado con algún detalle, el valor del ácido láctico para su aplicación en diversas industrias.

Los éteres y ésteres del ácido láctico tienen alto poder disolvente. Esto se debe a la presencia de dos o tres de los siguientes grupos, alcohólico, éster y éter.

Los más importantes comercialmente son los lactatos de metilo, etilo y n-butilo.

Esteres del ácido láctico considerando su poder solvente

Ester	punto de ebullición a 760 mm de Hg. °C	solubilidad en agua G./ 100 ml.
Metil lactato	144,8	miscible
Etil lactato	154,5	miscible
n-propil lactato	171,7	miscible
n-butil lactato	185,0	4,36
Metil lactato acetato	171,5	8,12
Etil lactato acetato	177,0 (a)	3,57
n-propil lactato acetato	195-6 (b)	0,99
n-butil lactato acetato	213,7 (c)	0,32
	(a) a 733 mm.	
	(b) a 766 mm.	
	(c) a 767 mm.	

El lactato de butilo es uno de los más importantes por su gran poder

disolvente de, nitrocelulosa, acetato butirato de celulosa, etil celulosa y ciertos polímeros vinílicos y otras gomas, resinas y colorantes.

Varios derivados del ácido láctico tienen uso como plastificante.

El ácido láctico puede ser usado en la preparación de derivados del ácido acrílico.

La preparación de ésteres a partir del lactato de amonio es descrita por Filachione y Costello (34).

CAPITULO VI

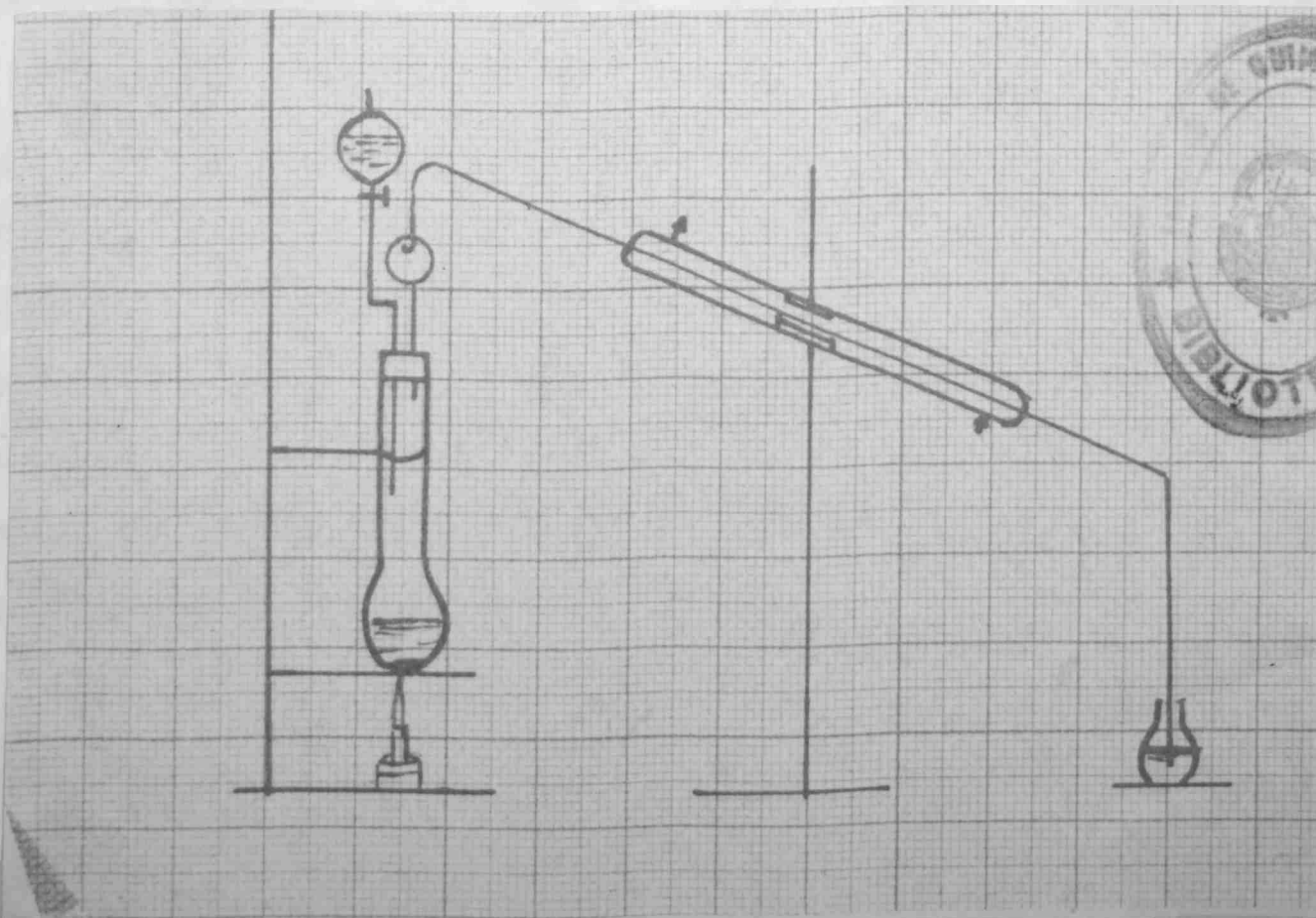
VALORACION DE ACIDO LACTICO EN MEDIOS DE CULTIVO

Se ensayó un método de valoración empleando solución titulada de carbonato de sodio usando azul de timol como indicador, pero no tuvo aplicación por dar altos resultados.

El método que se aplicó para valorar ácido láctico fué el de Friedeman y Grosser (40). Estos autores encuentran que la oxidación del ácido láctico a acetaldehído parece depender de factores tales como, concentración del agente oxidante agregado, acidez de la solución, concentración de la solución de sulfato de manganeso y probablemente de la cantidad de ácido láctico oxidado. Los mejores valores fueron obtenidos con soluciones muy diluidas de agentes oxidantes y una alta concentración de sulfato de manganeso.

Aparato usado

Un balón Kjeldahl de 300 cc. de capacidad que posee en la parte superior un tapón de goma por el que pasa una ampolla de decantación y una trampa para gases que se conecta con un condensador cuyo tubo es de estafío. El extremo del condensador pesca en un balón de 150 ml. El calentamiento se realiza con un micro mechero.



Reactivos

Agente oxidante. Para la oxidación se pueden usar permanganato de potasio o bioxido de manganeso coloidal en solución 0,02 N a 0,01 Normal.

Solución de ácido fosfórico y sulfato de manganeso. 100 gramos de sulfato de manganeso son disueltos en 500 ml. de agua caliente, a la que se adicionen 25 ml. de solución de ácido fosfórico (85%). Se enfría y se completa el volumen de 1 litro en un matraz aforado.

Talco de grano muy fino.

Solución de bisulfito de sodio. En dos litros de agua son disueltos 25 gramos de bisulfato de sodio puro. La solución debe ser guardada en un frasco color caramelo con tapa esmerilada.

Solución alcalina para liberar el bisulfito cambiando.

a) solución saturada de bicarbonato de sodio

b) solución al 10% de carbonato de sodio.

Engrudo de almidón. 5 gramos de almidón son suspendidos en 10 a 20 cc. de agua fría y vertidos en 500 ml de agua caliente se mantiene en ebullición 15 minutos. La solución sobrenadante se decanta.

Solución de iodo concentrada. 40 gramos de iodo y 75 gramos de ioduro de potasio son disueltos en una pequeña cantidad de agua y luego se lleva la solución a volumen de dos litros. Esta solución es usada para oxidar el exceso de bisulfito.

Solución valorada de iodo. Se prepara una solución 0,01 a 0,002 N. por dilución de una solución valorada de iodo 0,1 N. o a partir de una solución 0,1 N de iodato de potasio. Esta última se prefiere a la primera. La solución 0,1 N de iodato de potasio contiene 3,567 gramos por litro.

Solución de tiosulfato de sodio

Solución 0,1 N de tiosulfato de sodio.

Solución de ácido láctico valorada

Lactato de cinc o lactato de litio pueden ser usados para preparar una solución con título exacto de ácido láctico. Es preferible usar la sal de litio, debido a que esta no es higroscópica.

El lactato de litio se prepara así: el ácido láctico al 85% es diluido con igual volumen de agua, se le agrega gotas de indicador de rojo de metilo y entonces se adiciona solución saturada de hidróxido de litio al 20% en ligero exceso, hasta viraje del indicador. La solución es calentada a ebullición y si es necesario, se agrega hidróxido de litio nuevamente hasta débil alcalinidad. Se enfría y se adicionan 4 volúmenes de alcohol de 95°. Se filtran, se recristalizan en agua y seca a 100°.

9,6 gramos de lactato de litio son transferidos, a un matraz aforado se agrega ácido sulfúrico y completa a volumen de un litro. La solución debe tener un título 0,1 M.

Solución de sulfato de cobre

200 gramos de sulfato de cobre que cristaliza con 5 moléculas de agua de cristalización son disueltos en agua destilada y se completa el volumen a 1 litro.

Lechada de cal

1 kilogramo de cal fresca es apagada con agua y luego se lleva el volumen a 5 litros. Antes de ser usada se agita, se deja decantar y se pipetea la cantidad que sea necesaria.

Preparación de la muestra para el análisis

25 ml. del medio de cultivo son pipeteados en un matraz aforado de 250 ml. conteniendo 25 ml. de ácido sulfúrico N. La muestra acidificada ^{y se completa a volumen con agua destilada} se puede guardar por mucho tiempo en una heladera. De esta solución se toman 25 ml. se colocan en un matraz aforado de 250 ml. luego

se adicionan 150 ml de agua, 10 ml de solución de sulfato de cobre, y 10 ml de suspensión de lechada de cal, se agita y completa a volumen con agua destilada. La solución se filtra y en una porción alícuota que representa no más de 0,5 ml del medio de cultivo, se realiza la determinación.

Procedimiento

Se colocan en el balón 10 ml de la solución ácido fosfórico- sulfato de manganeso, unos miligramos de talco y la solución a ser analizada. El volumen se lleva a 100 ml y el balón se conecta al aparato. 10ml de solución de bisulfito de sodio son colocados en el balón de extracción de 150 ml de capacidad. El micromechero es ajustado de manera tal que la solución entre en ebullición a los 3 minutos. La adición de agente oxidante se hace cuando los primeros vapores pasan al condensador. La forma de agregado se hace de manera de tener desde el comienzo de la operación hasta el final un exceso de agente oxidante, esto queda indicado por un color marrón o marrón rojizo. Se recomienda agregar agente oxidante en forma continua durante la oxidación. 25 a 40 ml son generalmente necesarios. Se recomienda el período de oxidación de 15 minutos. El balón de extracción es retirado del aparato y enfriado con agua y hielo. Esta precaución es necesaria solamente cuando la temperatura del ambiente es superior a los 25°C. El exceso de bisulfito no combinado se elimina, adicionando 1 ml de solución de almidón y luego solución concentrada de iodo en ligero exceso, luego se lleva a incoloro con el agregado de solución diluida de tiosulfato de sodio.

Se lavan las paredes del recipiente con agua destilada y se lleva la solución a color azul débil con solución de iodo muy diluida.

El frasco es enfriado y el bisulfito combinado con el acetaldehído es ahora titulado. Se adicionan 15 ml de solución saturada de bicarbonato

de sodio y luego se agrega rápidamente se adiciona la solución de iodo valorada hasta débil color azul. Si fuese necesario si la descomposición ocurre despacio además del bicarbonato se adiciona 1 ml de solución de carbonato de sodio.

Para hacer el cálculo se tiene en cuenta que cada ml de la solución 0,01 N de iodo usada en la titulación del bisulfite combinada es equivalente a 0,45 miligramos de ácido láctico.

PORTE EXPERIMENTALCAPITULO VIICepa y medios de cultivo utilizados

Se utilizó en todos los ensayos una cepa proveniente del laboratorio de OCEFA ^{CONSERVADA} con el N°123 lactobacilo *delbrueckii*, proveniente de la A.T.C.C. Esta fué mantenida en un medio que contiene

- a) glucosa 5%
- b) raíz de malta 3%
- c) carbonato de calcio 0%
- d) agua destilada c.s. para 100 ml.

Este medio se prepara así: se disuelven en un poco de agua destilada los 5 gramos de glucosa purísima, luego se agrega el carbonato de calcio se completa a volumen de 100 ml y se adiciona la raíz de malta.

La suspensión se agita y se reparte en tubos de ensayos. Estos se esterilizan en autoclave a un a atmósfera de presión durante 30 minutos.

Se dejan enfriar los tubos y se replica con ansa de platino. Se incuban a 45° durante 24 horas y se guardan en la heládera. El lactobacilo se replicó cada mes.

Para inocular el lactobacilo a los medios de cultivo se preparó un medio que contiene la misma composición que el medio de mantenimiento de la cepa. Se esteriliza una hora a 70° se deja enfriar y se coloca en la estufa a la temperatura de 47°C. durante 24 horas. Con este se inoculó en todos los ensayos realizados en la proporción del 5% con respecto al medio a fermentar.

Se trabajó en todos los casos con Erlenmeyers de 500 ml, con un volumen de 200 ml de medio a fermentar.

Los Erlenmeyers se agitaron cada 24 horas. Los medios de cultivos utilizados fueron los siguientes.

Medio N° 1

- glucosa 11,2%
- carbonato de calcio 6%
- raíz de malta 3%
- agua c.s. para 100 ml.

Este se preparó así: en un poco de agua destilada se disuelve la glucosa. La glucosa es purísima anhidra. Luego se agrega el carbonato de calcio puro extra liviano, se completa a 100 ml y finalmente se agrega la raíz de malta, que nos fué suministrada por la fábrica de cerveza de Mercedes Saia de Buenos Aires.

Medio N° 2

- glucosa 11,2%
- carbonato de calcio 6%
- raíz de malta 2%
- agua destilada c.s. para 100 ml.

En este medio se ha disminuído la cantidad de raíz de malta usándose la misma cantidad de carbonato de calcio que en el medio N°1

Medio N° 3

- glucosa 11,2%
- carbonato de calcio 10%
- raíz de malta 3%
- agua destilada c.s. para 100ml.

En este medio se ha aumentado la cantidad de carbonato de calcio de 6 a 10%.

Medio N° 4

- glucosa 11,2%
- carbonato de calcio 10%
- raíz de malta 2%
- agua destilada c.s. para 100 ml.

Medio N° 5

Aquí se ha elevado la concentración de glucosa de 11,2 a 13%.

- glucosa 13%
- carbonato de calcio 10%
- raíz de malta 1%
- agua destilada c.s. para 100 ml.

La concentración del carbonato de calcio de 10% es la que se usa en todos los medios que siguen

Medio N° 6

- glucosa 13%
- carbonato de calcio 10%
- raíz de malta 2%
- agua c.s. para 100 ml.

se ensaya aquí mayor concentración de raíz de malta 2%

Medio N° 7

- glucosa 13%
- carbonato de calcio 10%
- raíz de malta 3%
- agua destilada c.s. para 100 ml.

en este medio se aumenta con respecto al anterior la concentración de raíz de malta al 3%

Medio N° 8

- glucosa 13%
- carbonato de calcio 10%
- raíz de malta 4%
- agua destilada c.s. para 100 ml.

Medio N°9

- glucosa 13%
- carbonato de calcio 10%
- raiz de malta 5%
- agua destilada c.s. para 100 ml

En los medios N°8 y 9 se ha elevado la concentración de la raíz de malta a 4 y 5% respectivamente.

Medio N°10

- glucosa 13%
- carbonato de calcio 10%
- Corn steep 0,5%
- agua destilada c.s. para 100 ml.

El corn steep corresponde a un producto original de la compañía Argentina Refinería de maíz y tiene un valor de extracto seco de 58,85%.

Medio N°11

- glucosa 13%
- carbonato de calcio 10%
- corn steep 1%
- agua destilada c.s. para 100 ml.

En el medio N°11 se ha aumentado la cantidad de corn steep en 0,5%

Medio N°12

- glucosa 2%
- carbonato de calcio 10%
- corn steep 2%
- agua destilada c.s. para 100 ml.

corn steep: líquido de incineración del maíz

Medio N°13

- glucosa 13%
- carbonato de calcio 10%
- corn steep 3%
- agua destilada c.s. para 100 ml.

En los dos medios anteriores se ha elvado la concentración de corn steep a 2 y 3% respectivamente.

Medio N°14

- glucosa 13%
- carbonato de calcio 10%
- cebada germinada sin testar 0,375%
- fosfato diamónico 0,25%

En este medio se ensaya la combinación de sustancias nutritivas con sales amoniacales.

Medio N°15

- glucosa 13%
- carbonato de calcio 10%
- raíz de malta 0,375%
- fosfato diamónico 0,25%
- agua destilada c.s. para 100 ml.

Aquí se ha reemplazado la cebada germinada sin testar por raíz de malta.

Medio N°16

- glucosa 13%
- carbonato de calcio 10%
- bagazo de malta 3%
- agua destilada c.s. para 100 ml.

En el medio N°16 se usa como sustancia nutritiva el bagazo de malta que es un residuo de la industria cervecera. El bagazo de malta usado proviene de la Fábrica de cerveza de Mercedes Pcia de Buenos Aires.

Medio N°17

- glucosa 13%
- carbonato de calcio 10%
- bagazo de malta 4%
- agua destilada e.s. para 100 ml.

CAPITULO VIII

ENSAYOS DE DIFERENTES SUSTANCIAS NUTRITIVAS

Los ensayos se realizaron en Erlenmeyers con 200 ml. de medio de cultivo, en todos los ensayos se inocularon con el medio descrito en la pag. N^o 33 en la proporción del 5% con respecto al medio de cultivo. Cada 24 horas se realizaron determinaciones de azúcares reductores y al final de cada fermentación se practicó la determinación de ácido láctico, empleando el método de Friedman y Graesser (40).

Resultados obtenidos.

Los resultados obtenidos se consignan en las siguientes tablas de valores. Se representa gráficamente la variación de la concentración de glucosa y del porcentaje de fermentación (por ciento de glucosa transformada con respecto a la concentración inicial) en función del tiempo).

Los resultados expresados de ácido láctico corresponden al promedio en cada caso de todas las fermentaciones realizadas.

Medio N °1

Sin esterilizar, temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

% de azúcares reductores

11,211,211,211,2	Promedio	ac.
Inicial11,211,211,211,2		
24 horas	7,05	7,30	6,80	6,55	6,94	láctico
48 horas	4,13	4,22	4,13	4,22	4,17	
72 horas	3,63	3,06	2,56	2,43	2,69	
96 horas	2,26	2,37	2,20	1,28	2,02	
120 horas	1,90	1,82	1,69	1,18	1,64	
144 horas	1,72	1,69	1,53	1,05	1,49	
168 horas	1,58	1,53	1,53	—	1,17	9,18%

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

22% valor promedio

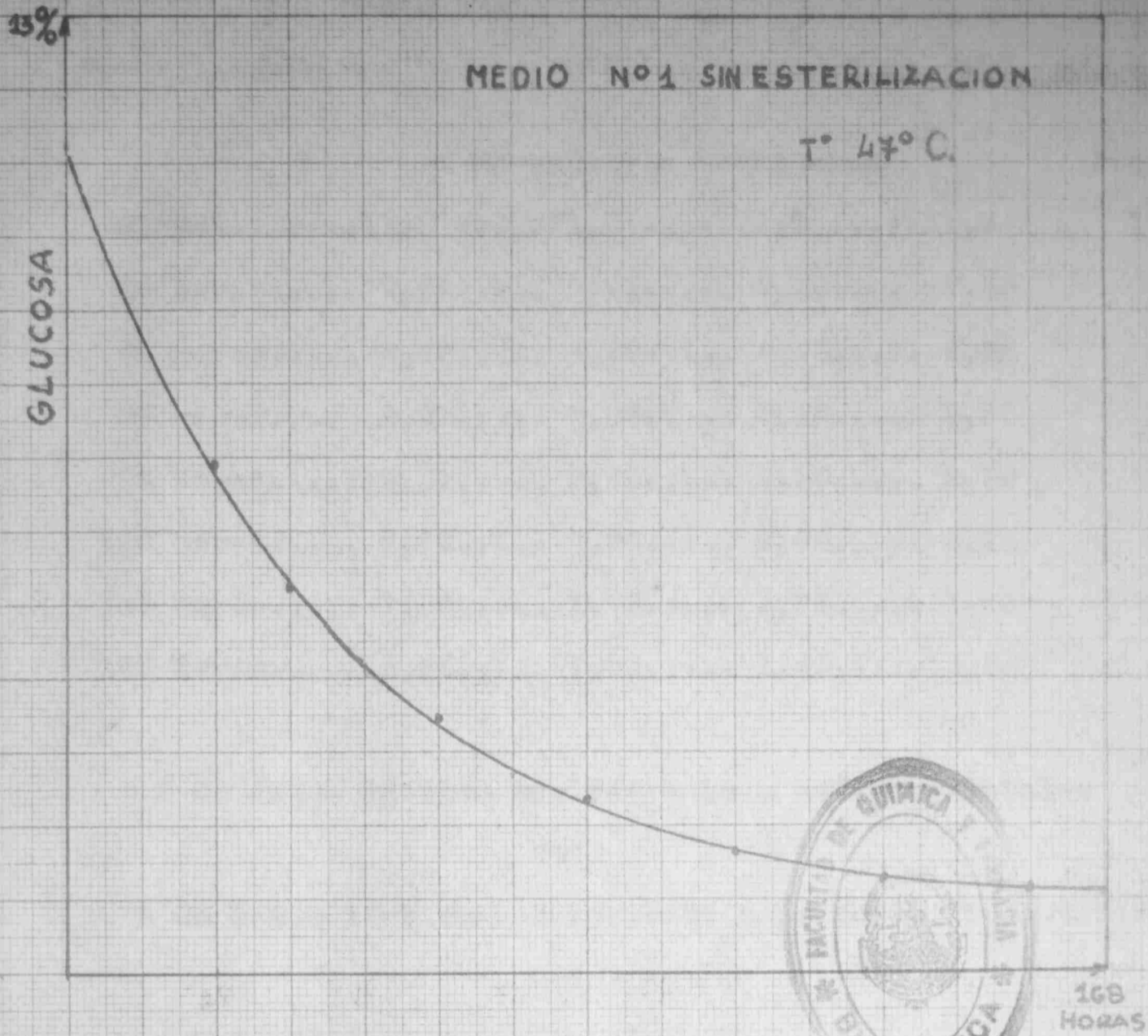
% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

91,3% valor promedio

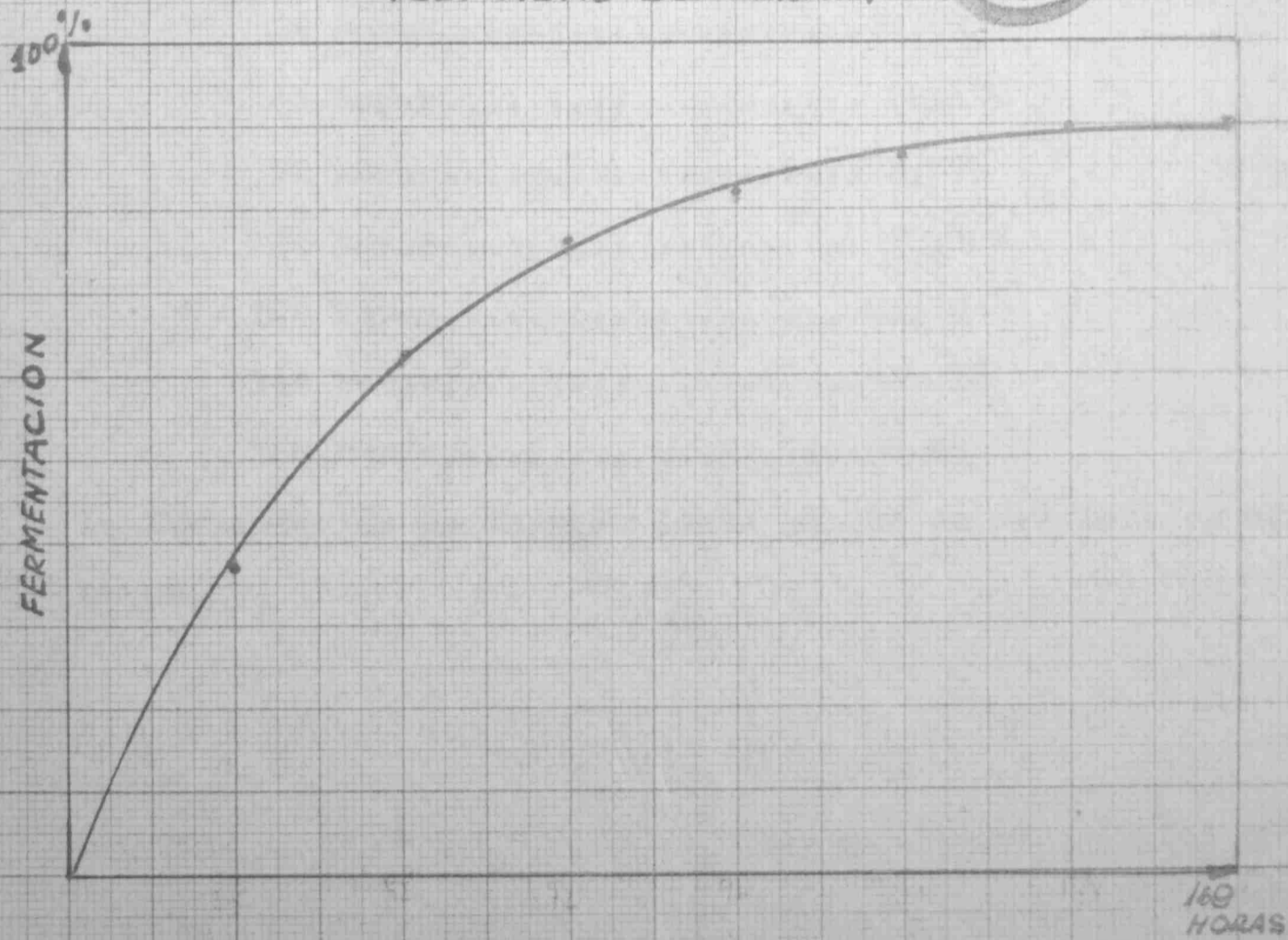
Velocidad de fermentación

24 horas	38,03%
48 horas	62,70%
72 horas	76,10%
96 horas	81,90%
120 horas	85,30%
144 horas	86,69%
168 horas	89,56%

CONSUMO DE GLUCOSA



VELOCIDAD DE FERMENTACION



Medio N°1

Esterilizando una hora a 70°C. de temperatura 47°C. pH. 5,6

	% de azúcares reductores				Promedio	Acido láctico
Inicial.....	11,2	11,2	11,2	11,2	11,20	
24 horas.....	7,91	7,91	7,30	7,30	7,60	
48 horas.....	4,46	4,52	4,75	4,52	4,56	
72 horas.....	3,96	3,06	3,16	3,06	3,06	
96 horas.....	2,31	2,43	2,50	2,56	2,45	
120 horas.....	2,02	2,06	2,06	2,11	2,05	
144 horas.....	1,82	1,75	1,75	1,86	1,79	
168 horas.....	1,66	1,63	1,63	1,62	1,63	8,28%

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

74%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

86%

Velocidad de fermentación

24 horas.....	32,50%
48 horas.....	59,19%
72 horas.....	72,67%
96 horas.....	78,12%
120 horas.....	81,69%
144 horas.....	84,01%
168 horas.....	85,44%

La fermentación es un poco lenta ya que se completa en más de 168 horas.

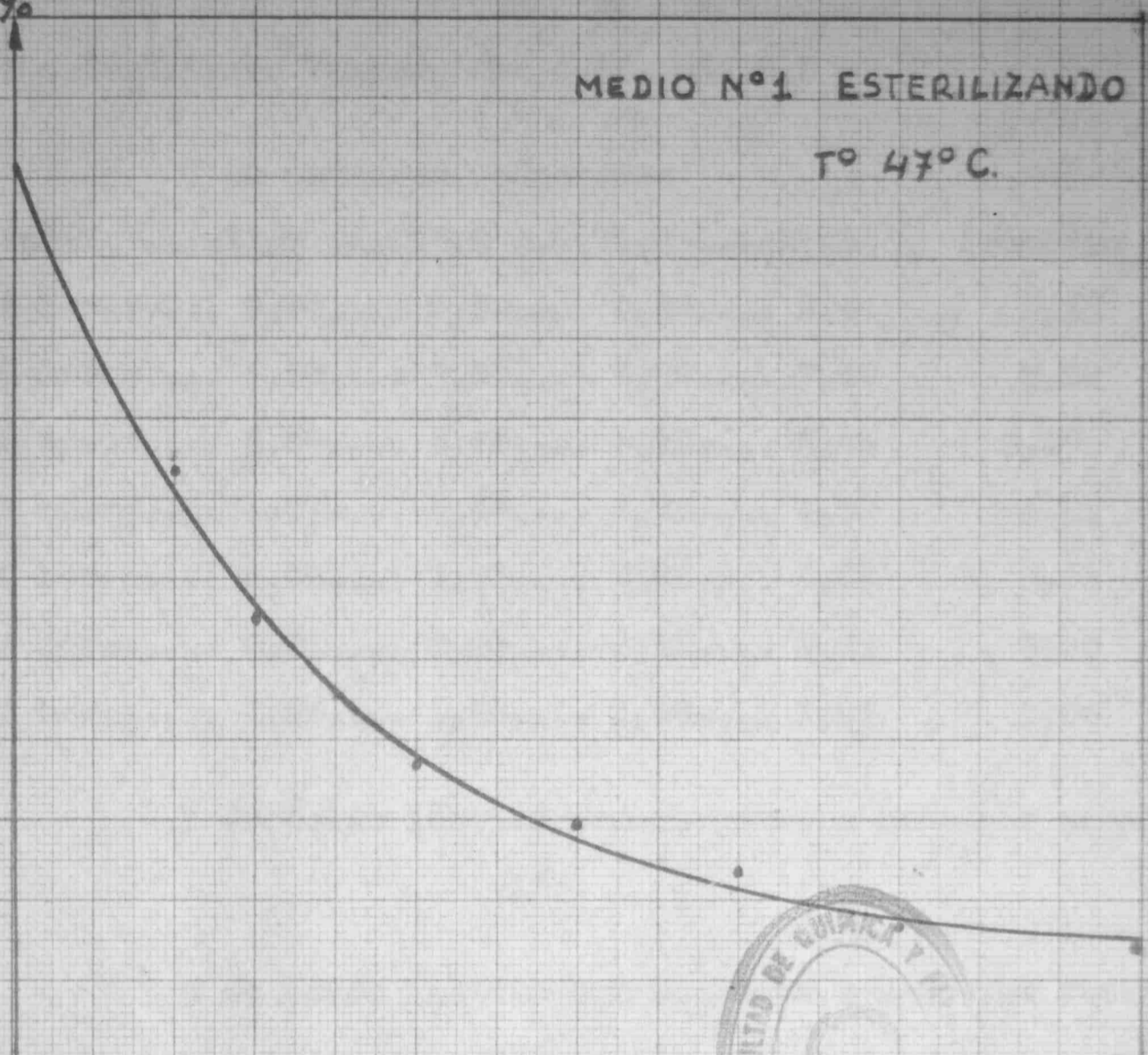
CONSUMO DE GLUCOSA

MEDIO N°1 ESTERILIZANDO

T° 47° C.

13%

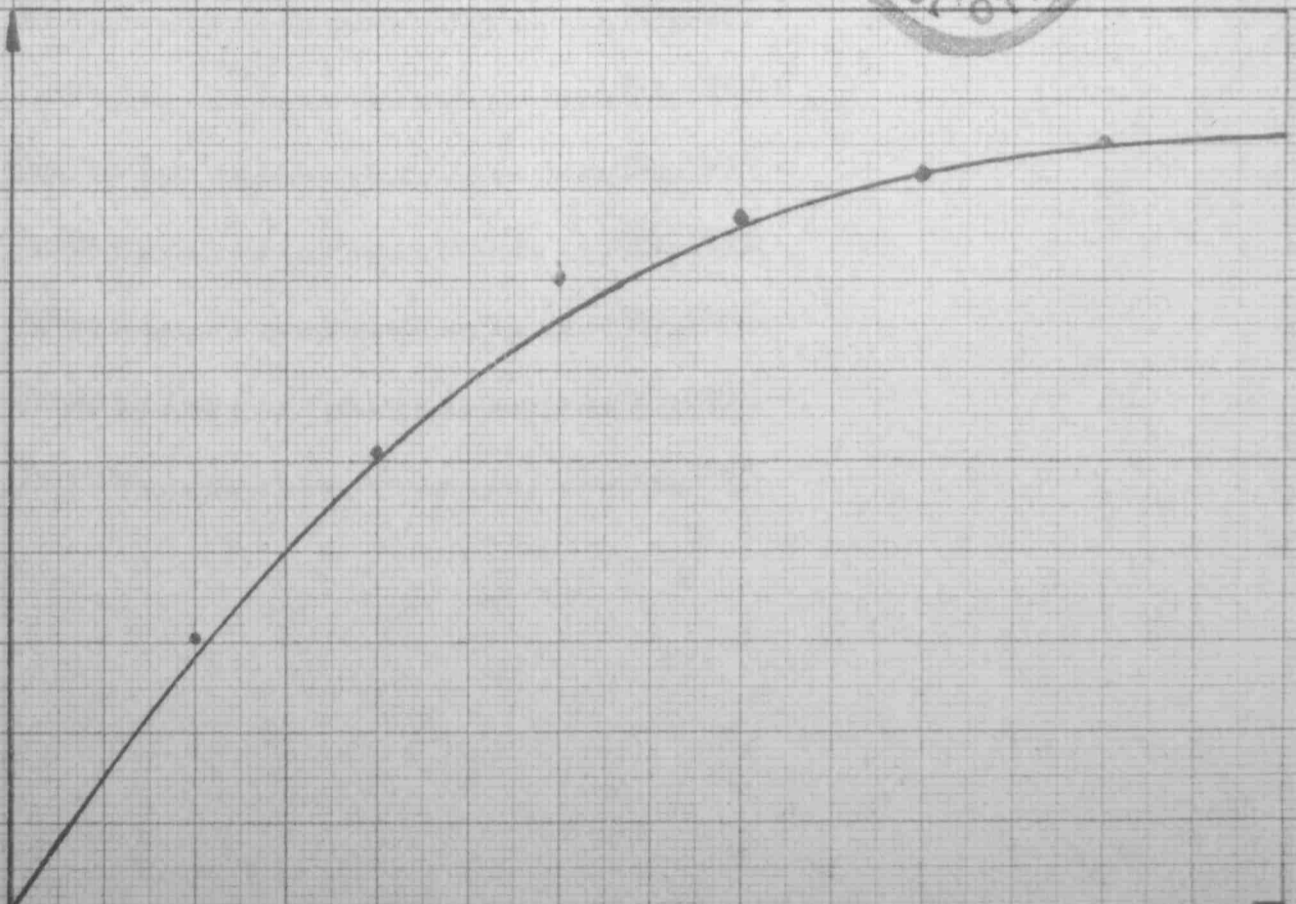
GLUCOSA



168 HORAS

VELOCIDAD DE FERMENTACION

FERMENTACION



168 HORAS

Medio N° 2

Sin esterilizar. Temperatura 47°C. pH. 5,5

% de azúcares reductores

11,211,211,211,2	Promedio	Acido láctico
Inicial11,211,211,211,2		
24 horas	9,50	9,50	9,63	9,4	9,51	
48 horas	7,30	7,30	6,88	7,42	7,22	
72 horas	5,58	5,75	5,19	5,49	5,49	
96 horas	4,31	4,47	4,75	4,52	4,51	
120 horas	2,96	3,01	2,96	3,02	3,08	
144 horas	2,21	2,23	2,11	2,27	2,20	7,95%
168 horas	1,93	1,93	1,90	1,97	1,93	

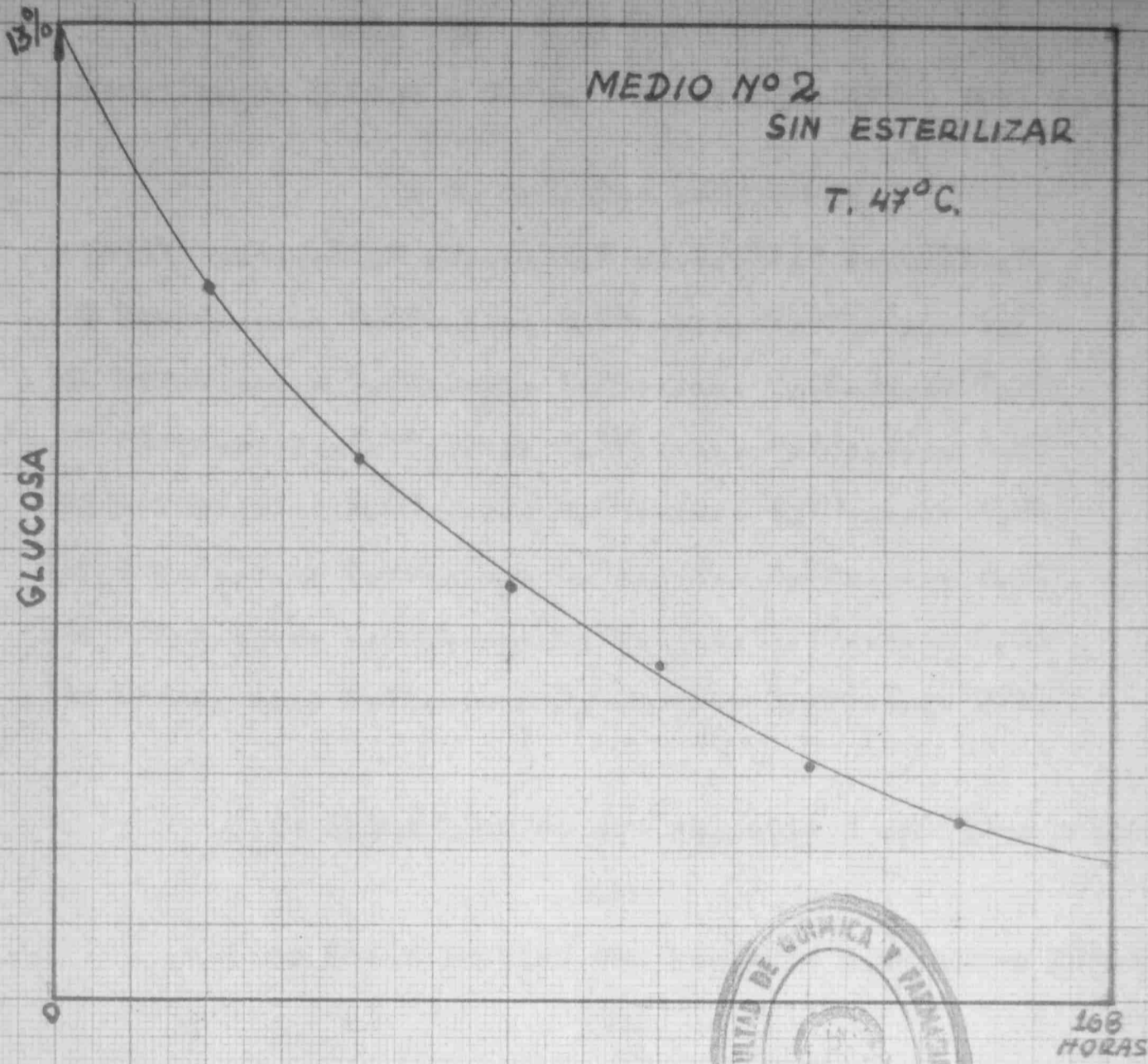
% de ácido láctico con respecto a azúcares totales 70%
71%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados
85%

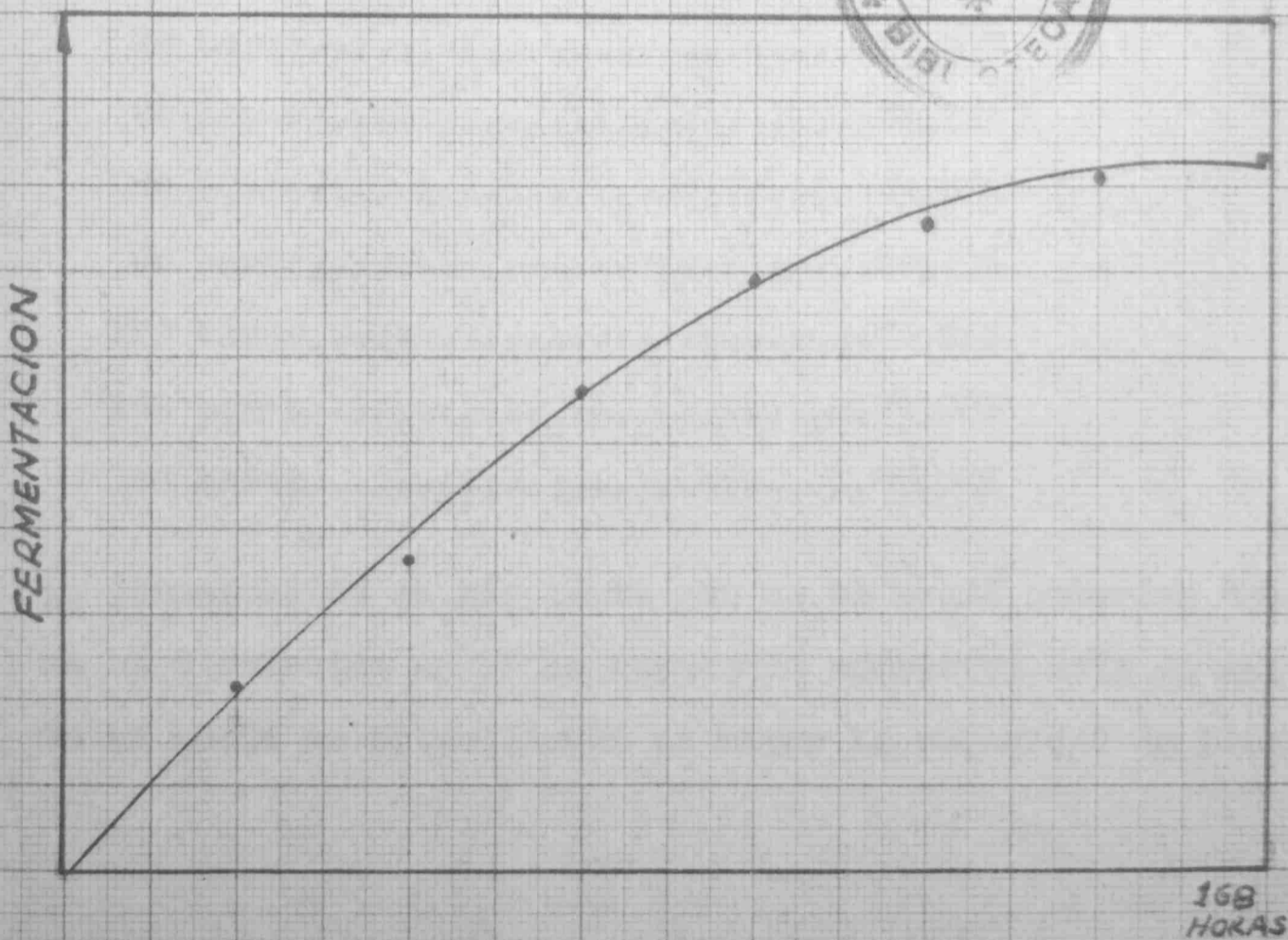
Velocidad de fermentación

24 horas	18,21%
48 horas	35,53%
72 horas	56,88%
96 horas	59,73%
120 horas	73,21%
144 horas	80,53%
168 horas	82,77%

CONSUMO DE GLUCOSA



VELOCIDAD DE FERMENTACION



Medio N°2

Esterilizando 1 hora a 70°C. Temperatura 47°C. pH. 5,6

% de azúcares reductores

					Promedio	Acido
Inicial11,211,211,211,2		
24 horas 8,50 8,63 8,63 9,50	9,06	lático
48 horas 7,81 7,52 7,52 7,52	7,64	
72 horas 6,32 6,12 6,12 6,33	6,72	
96 horas 5,00 4,87 4,79 4,84	4,87	
120 horas 3,39 3,33 3,29 3,41	3,35	
144 horas 2,50 2,46 2,45 2,51	2,48	
168 horas 2,11 2,03 2,07 2,11	2,08	7,63%

% de ácido láctico con respecto a azúcares reductores total

69%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

85%

Velocidad de fermentación

24 horas19,27%
48 horas31,15%
72 horas44,55%
96 horas56,51%
120 horas70,08%
144 horas77,85%
168 horas83,21%

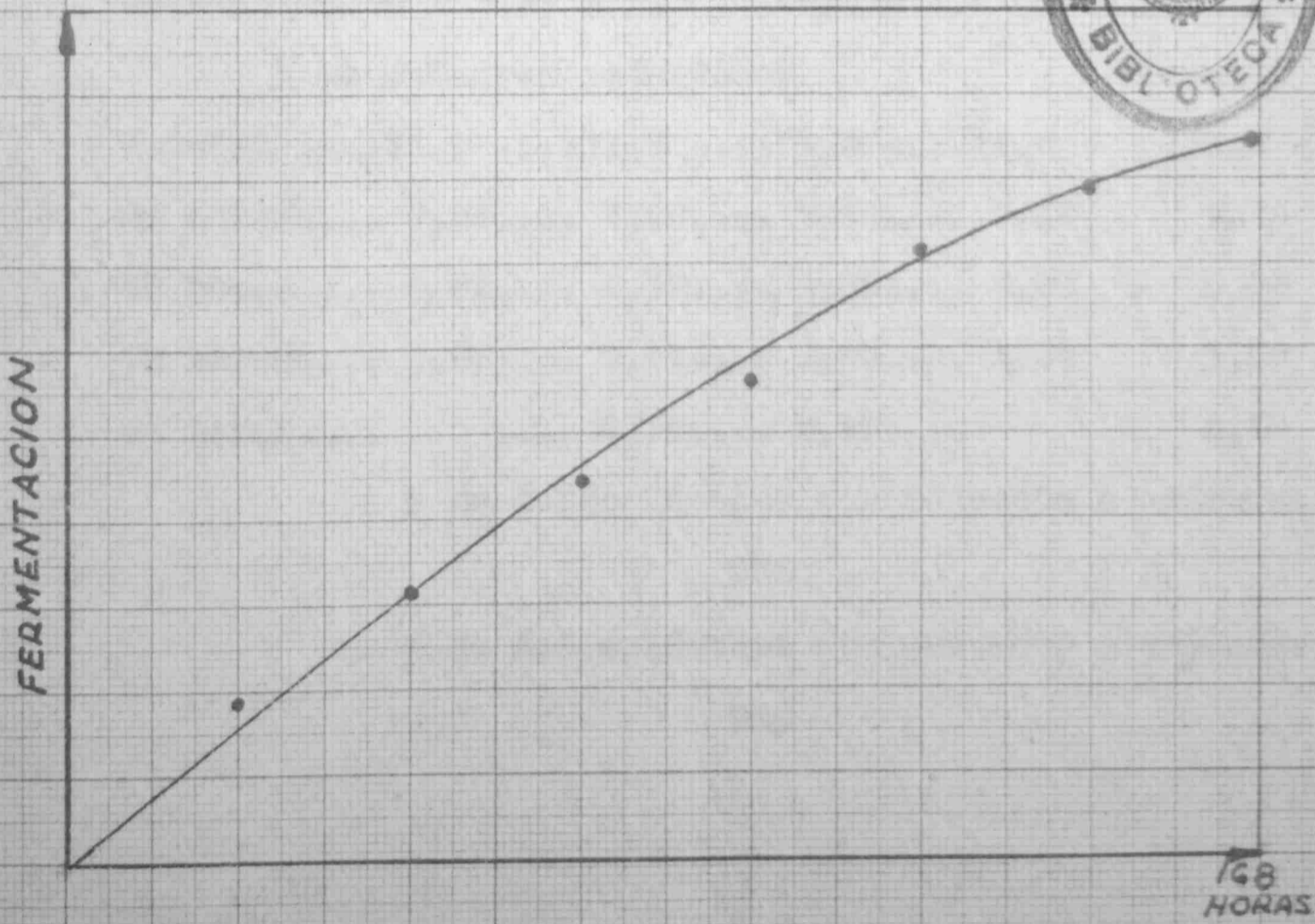
La fermentación es más lenta que en el medio anterior debido a que se ha disminuido en 1% la sustancia nutritiva raíz de malta.

En el medio no esterilizado es mayor la velocidad de fermentación

CONSUMO DE GLUCOSA



VELOCIDAD DE FERMENTACION



Medio N° 3

Sin esterilizar. Temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

% de azúcares reductores					Promedio	Acido láctico
Inicial11,211,211,211,2	11,2	
24 horas 6,80 6,51 6,66 6,63	6,65	
48 horas 3,01 3,54 3,70 3,44	3,42	
72 horas 0,90 1,15 1,60 1,12	1,19	10,00%

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

89%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

99%

Velocidad de fermentación

24 horas40,63
48 horas69,46
72 horas90,00

Medio N° 3

Esterilizando 1 hora a 70°C. Temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

% de azúcares reductores					Promedio	Acido láctico
Inicial11,211,211,211,2	11,2	
24 horas 7,56 7,80 7,68 7,38	7,73	
48 horas 5,04 4,92 4,88 4,98	4,95	
72 horas 1,90 2,01 1,88 1,67	1,96	
96 horas — 0,30 0,10 —	0,10	10,00

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

90%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

98%

Medio N° 3 (continuación)

Velocidad de fermentación

24 horas.....	31,16
48 horas.....	55,80
72 horas.....	82,52
96 horas.....	99,99

El aumento de concentración del carbonato de calcio de 6 a 10% favorece la velocidad de fermentación posiblemente porque se neutraliza mejor el ácido a medida que se forma.

CONSUMO DE GLUCOSA

MEDIO N° 3

SIN ESTERILIZAR

T° 47°C.

13%

GLUCOSA

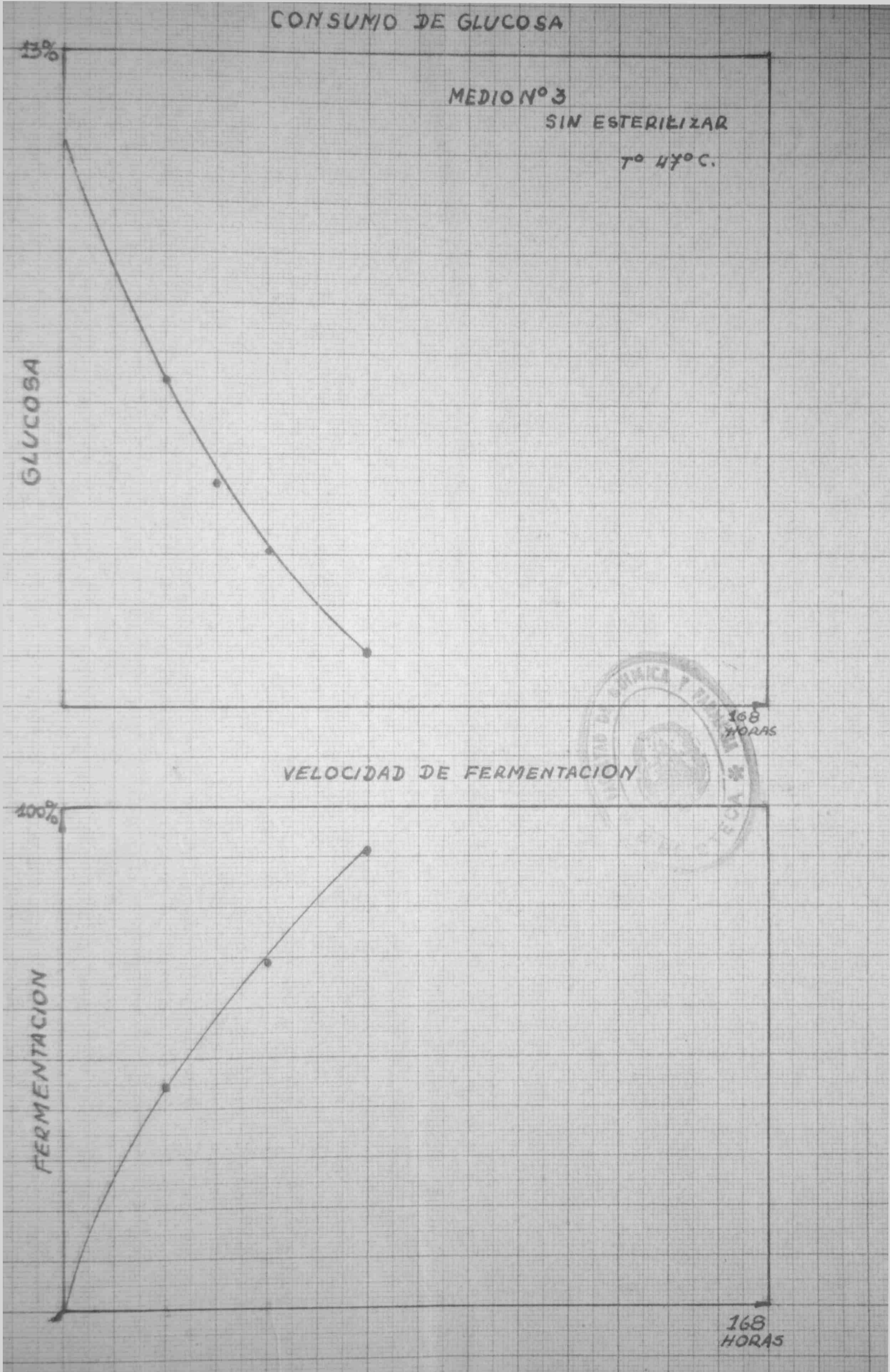
168 HORAS

VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

FERMENTACION

168 HORAS



CONSUMO DE GLUCOSA

13%

GLUCOSA

MEDIO N°3

ESTERILIZANDO

T° 47°C

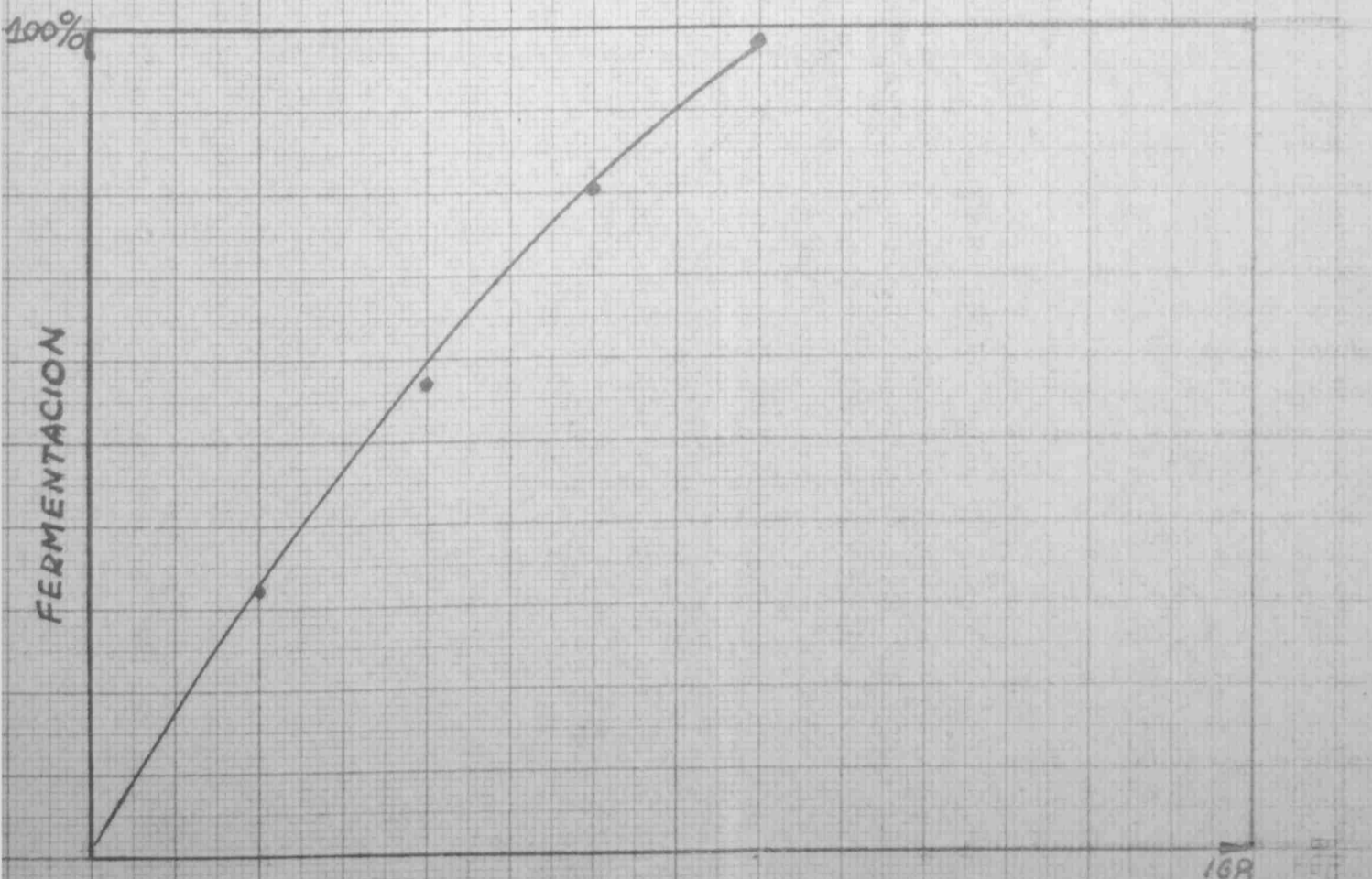
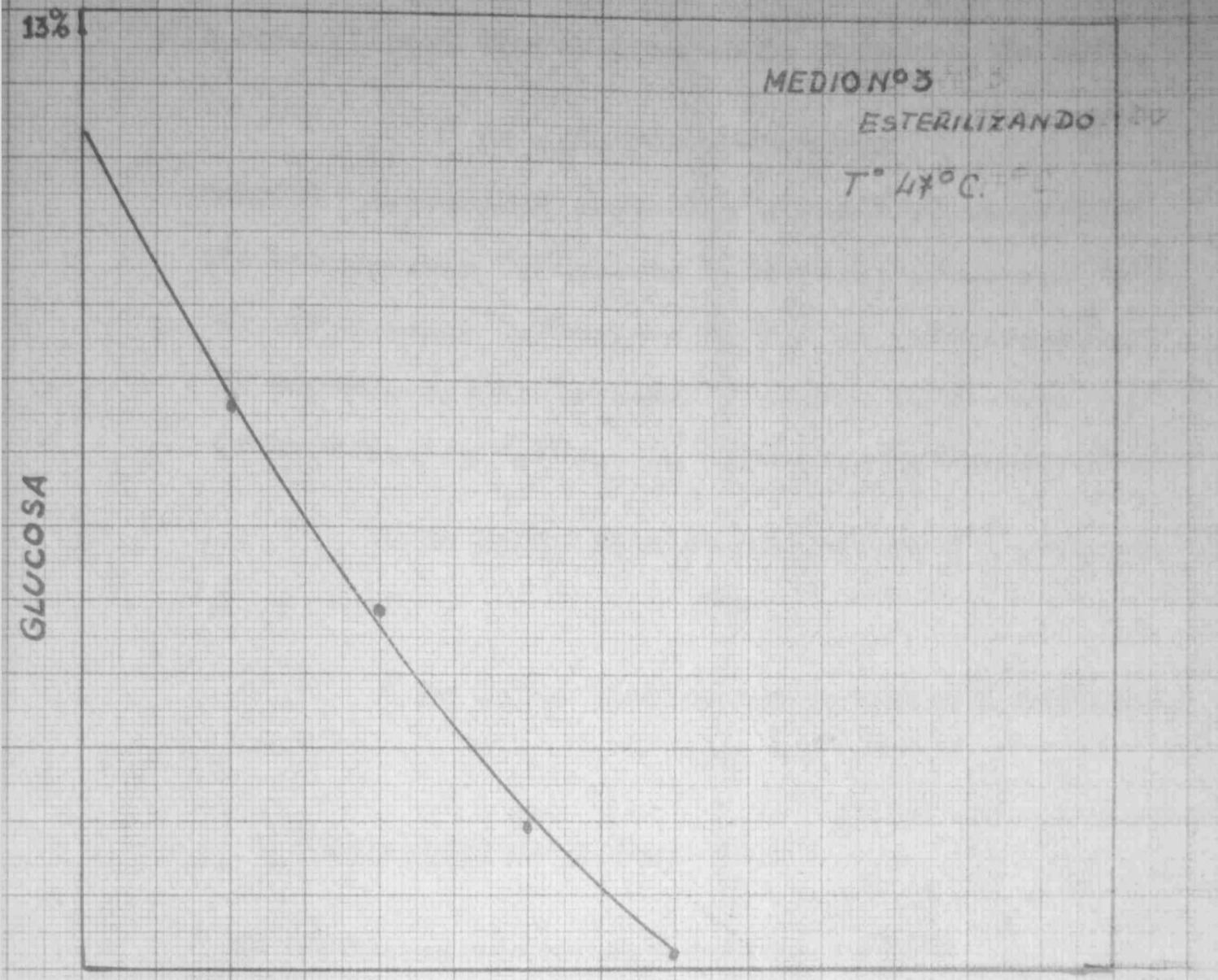
168 HORAS

VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

FERMENTACION

168 HORAS



Medio N° 4

Sin esterilizar. Temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

% de azúcares reductores					Acido Láctico
				Promedio	
Inicial11,211,211,211,2	11,2
24 horas 8,63 8,39 8,35 8,20	8,59
48 horas 5,91 4,99 5,39 5,09	5,06
72 horas 2,91 1,97 1,95 2,30	2,06
96 horas 0,50 0,45 0,70 0,53	0,54

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

10,00

90%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

13%

Velocidad de fermentación

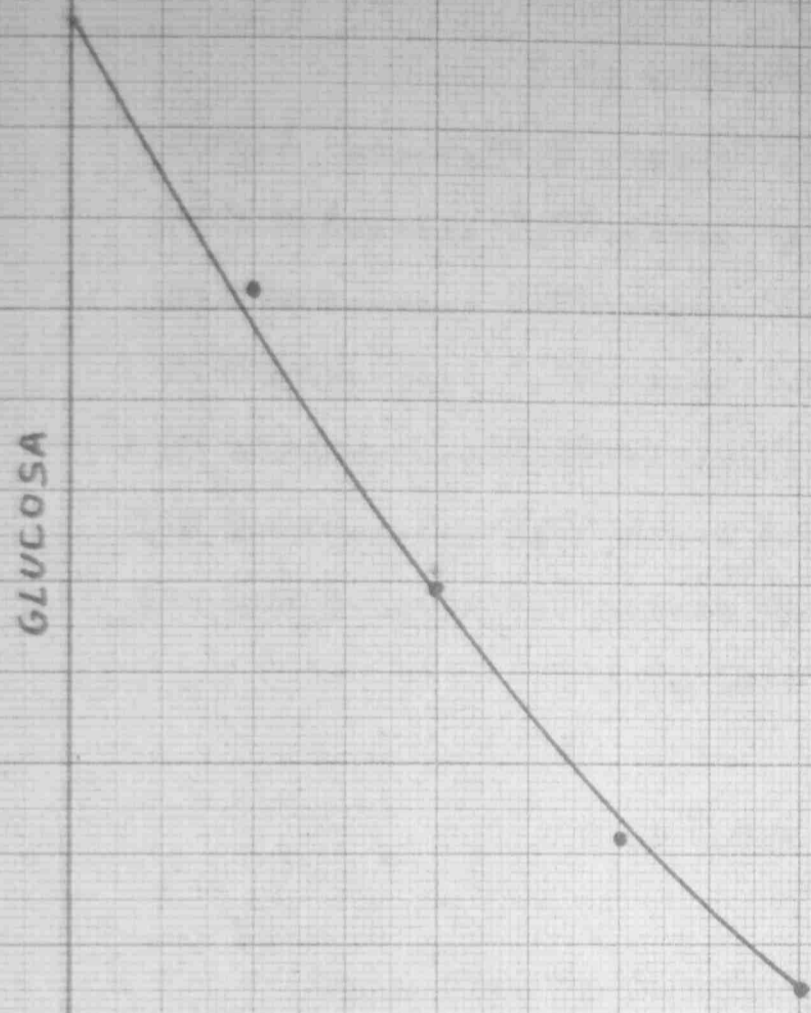
24 horas25,09
48 horas55,09
72 horas61,59
96 horas00,18

CONSUMO DE GLUCOSA

MEDIO N° 4
SIN ESTERILIZAR
T° 47°C.

3%

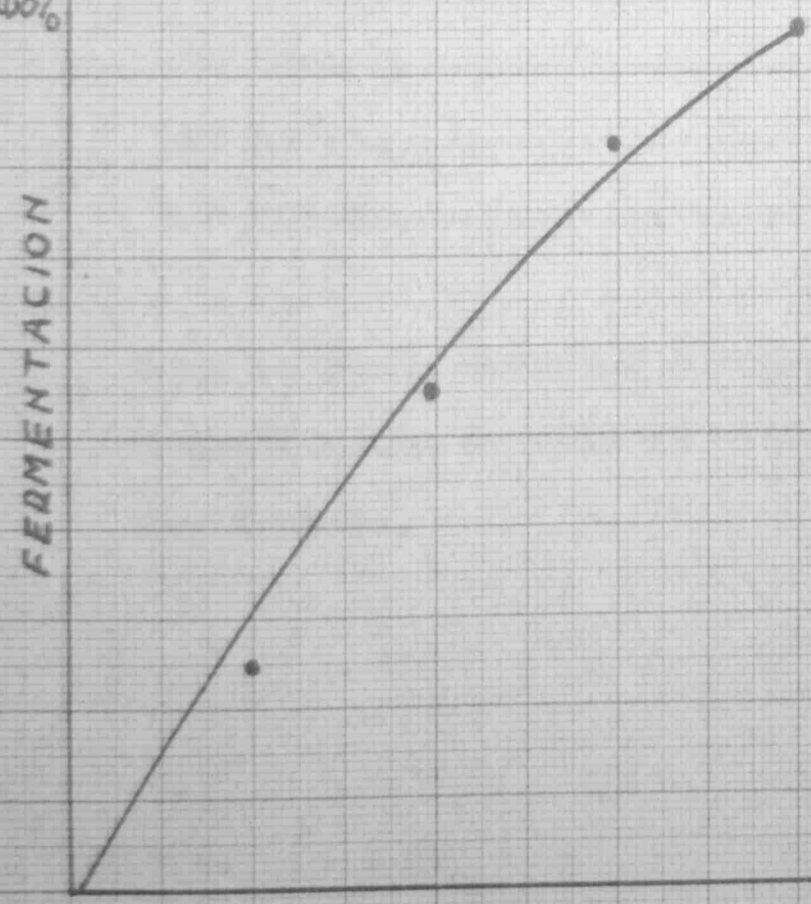
GLUCOSA



168 HORAS

100%

FERMENTACION



168 HORAS

Medio N° 4

Esterilizando 1 hora a 70°C. Temperatura de la fermentación 47°C. pH 5,6

	% de azúcares reductores				Promedio	Acido
Inicial11,211,211,211,2	11,2	Láctico
24 horas 8,50 8,70 8,35 8,22	8,44	
48 horas 6,20 6,31 6,22 6,35	6,27	
72 horas 4,11 4,00 4,50 4,21	4,20	
96 horas 2,01 2,02 2,07 2,00	2,01	
120 horas 1,30 1,50 1,20 1,21	1,47	
144 horas 0,99 0,56 0,60 0,77	0,73	

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales **10,03**

87%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

94%

Velocidad de fermentación

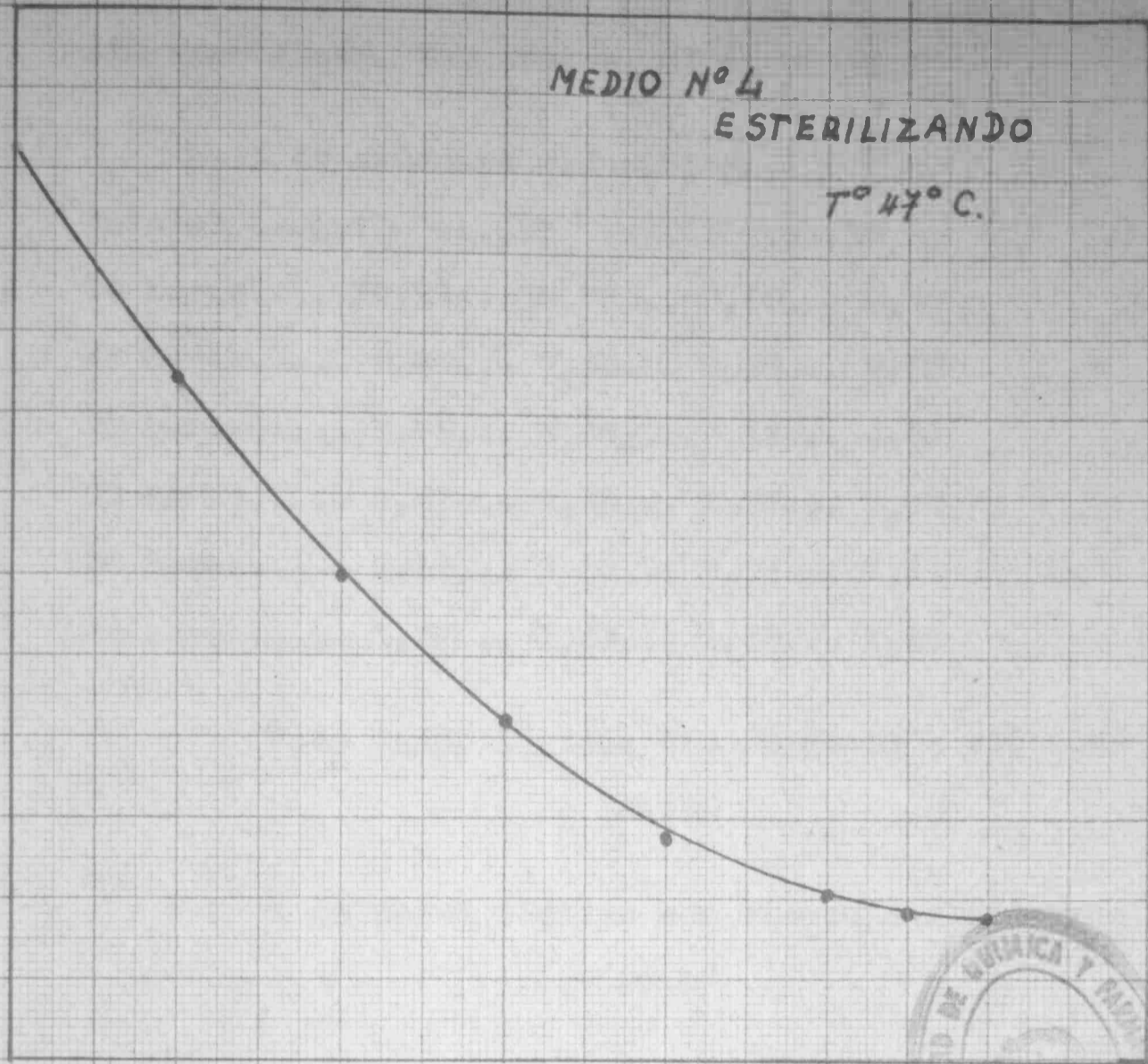
24 horas 24,64%
48 horas 44,01%
72 horas 62,60%
96 horas 76,72%
120 horas 86,87%
144 horas 93,75%

Como se puede observar comparando con el medio N°2 que posee igual concentración de raíz de malta, la fermentación se produce más rápidamente.

CONSUMO DE GLUCOSA

MEDIO N° 4
ESTERILIZANDO
T° 47° C.

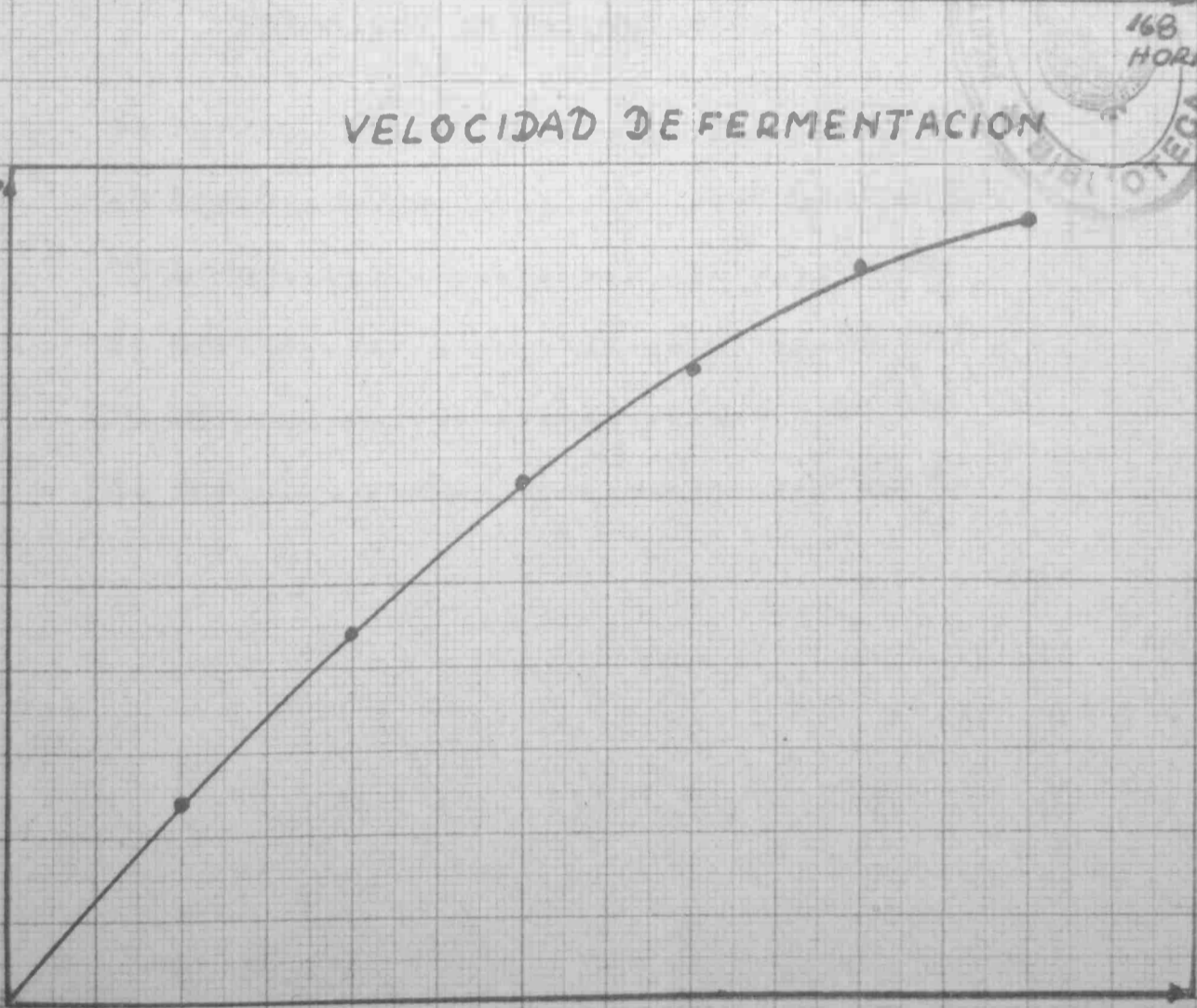
GLUCOSA



VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

FERMENTACION



168 HORAS



Medio N°5

Sin sterilizar. Temperatura 47°C. pH. 5,5

% de azúcares reductores				Promedio	Acido láctico	
Inicial13131313	13	
24 horas10,2110,009,509,40	9,77	
48 horas6,887,306,887,52	7,14	
72 horas3,953,804,134,31	4,04	
96 horas2,712,632,782,87	2,72	
120 horas2,112,022,062,11	2,07	
144 horas1,581,521,551,56	1,55	12,50

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

81,5%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados.

90,0%

Velocidad de fermentación

24 horas24,96%
48 horas45,07%
72 horas68,90%
96 horas78,90%
120 horas84,07%
144 horas88,07%

CONSUMO DE GLUCOSA

13%

MEDIO N° 5

SIN ESTERILIZAR

T° 47°C

GLUCOSA

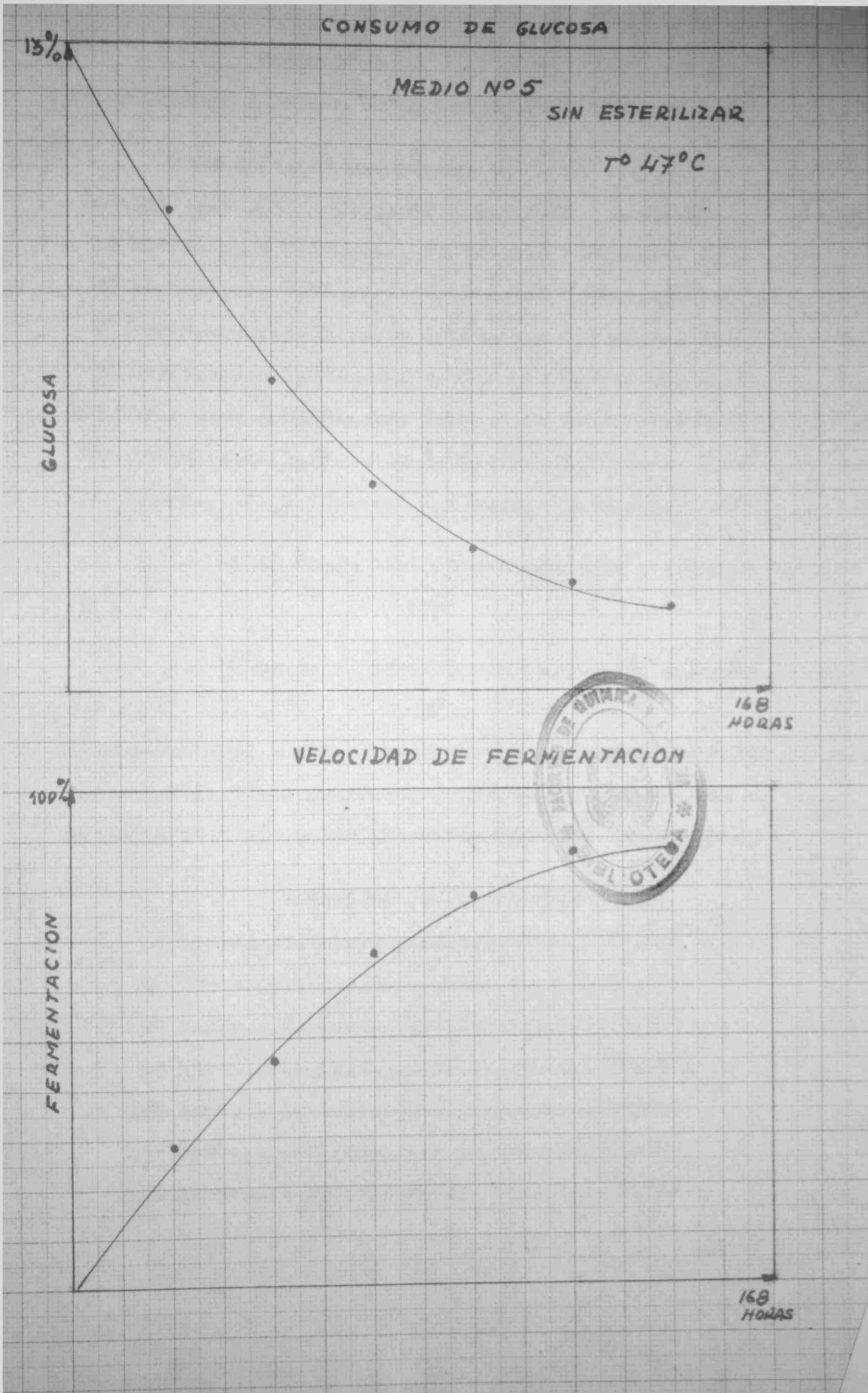
168 HORAS

VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

FERMENTACION

168 HORAS



Medio N° 5

Esterilizando 1 hora a 70°C. Temperatura 47°C. pH 5,5

% de azúcares reductores

13131313	Promedio
Inicial13131313	Acido Láctico
24 horas	9,50	9,04	9,97	9,25	9,25
48 horas	7,52	7,03	7,30	6,93	7,19
72 horas	4,31	4,31	4,32	4,41	4,35
96 horas	2,87	2,81	2,87	2,70	2,83
120 horas	2,54	2,26	2,31	2,25	2,23
144 horas	1,91	1,84	1,93	1,83	1,83
168 horas	1,63	1,59	1,63	1,62	1,61
					10,40

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

80%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

91%

Se observa aquí que la concentración 1% de raíz de malta produce una fermentación lenta con rendimiento no muy favorables.

El medio N° 5 sin esterilizar fermenta más rápidamente

Velocidad de fermentación

24 horas	27,00%
48 horas	44,76%
72 horas	66,68%
96 horas	73,23%
120 horas	82,46%
144 horas	86,30%
168 horas	87,61%

CONSUMO DE GLUCOSA

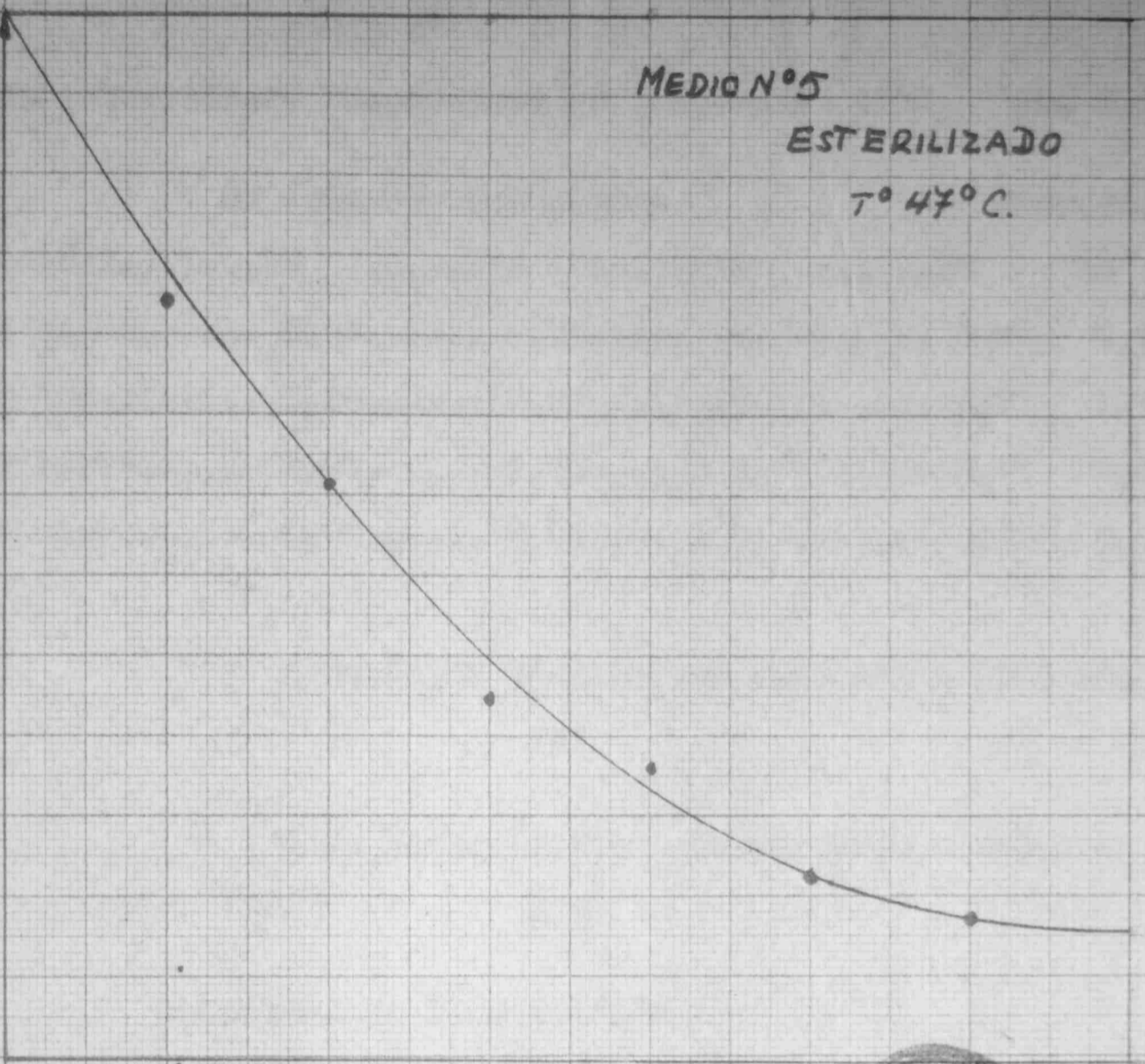
MEDIO N°5

ESTERILIZADO

T° 47° C.

GLUCOSA

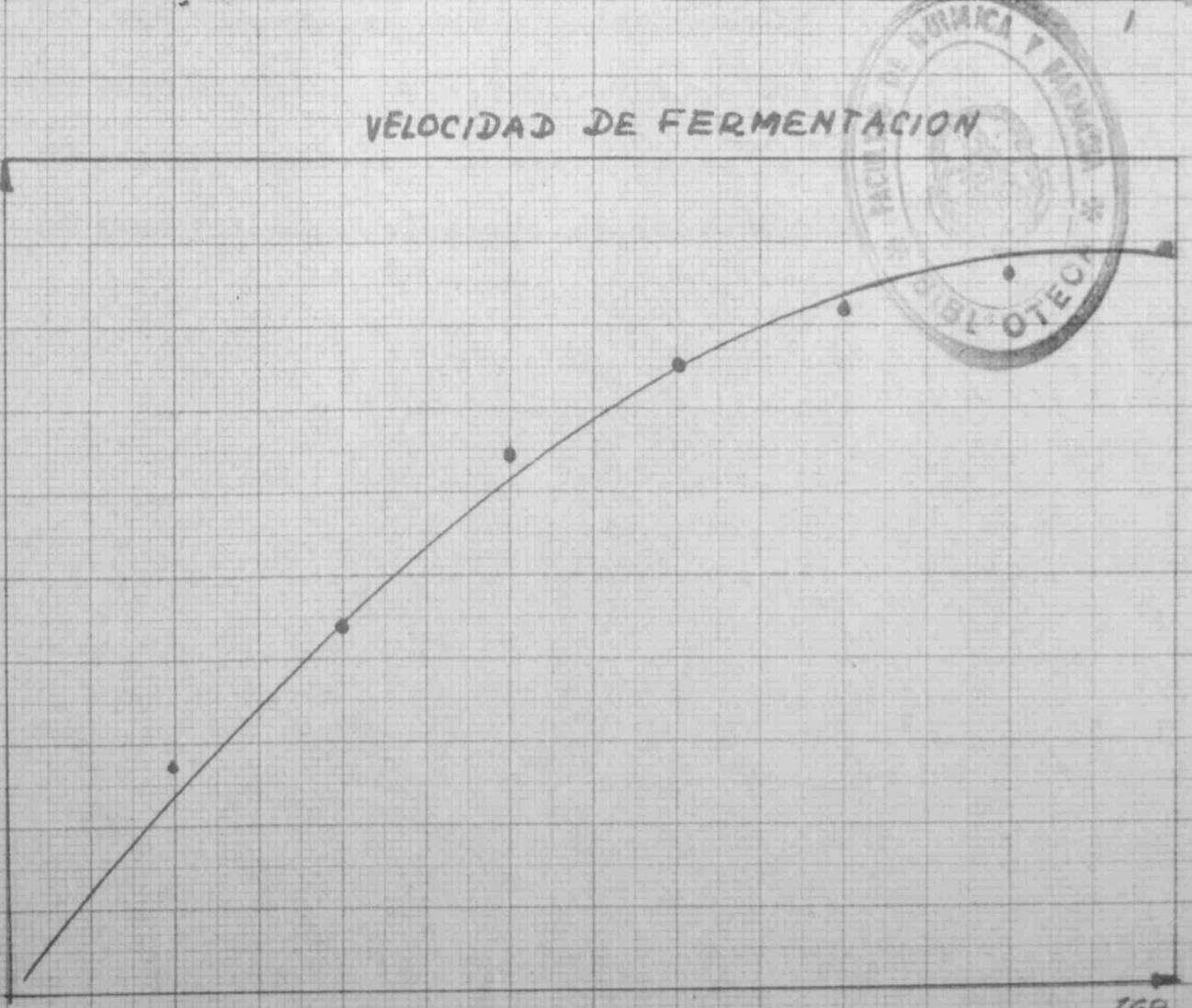
13%



VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

FERMENTACION



168 HORAS

Medio N° 6

Sin esterilizar. Temperatura de incubación 47°C. pH. 5,6

% de azúcares reductores					Promedio	
Inicial.....	13131313	13	Acido
24 horas.....	8,65.....	8,39.....	9,50.....	9,40	8,98	Láctico
48 horas.....	5,93.....	5,27.....	5,75.....	5,52	5,44	
72 horas.....	2,79.....	2,63.....	2,79.....	2,71	2,73	
96 horas.....	0,95.....	0,04.....	0,93.....	0,95	0,94	

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales 11,57

89%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

95%

Velocidad de fermentación

24 horas.....	15,53%
48 horas.....	35,34%
72 horas.....	79,00%
96 horas.....	92,70%

CONSUMO DE GLUCOSA

MEDIO N° 6
SIN ESTERILIZAR
T° 47° C.

13%

GLUCOSA



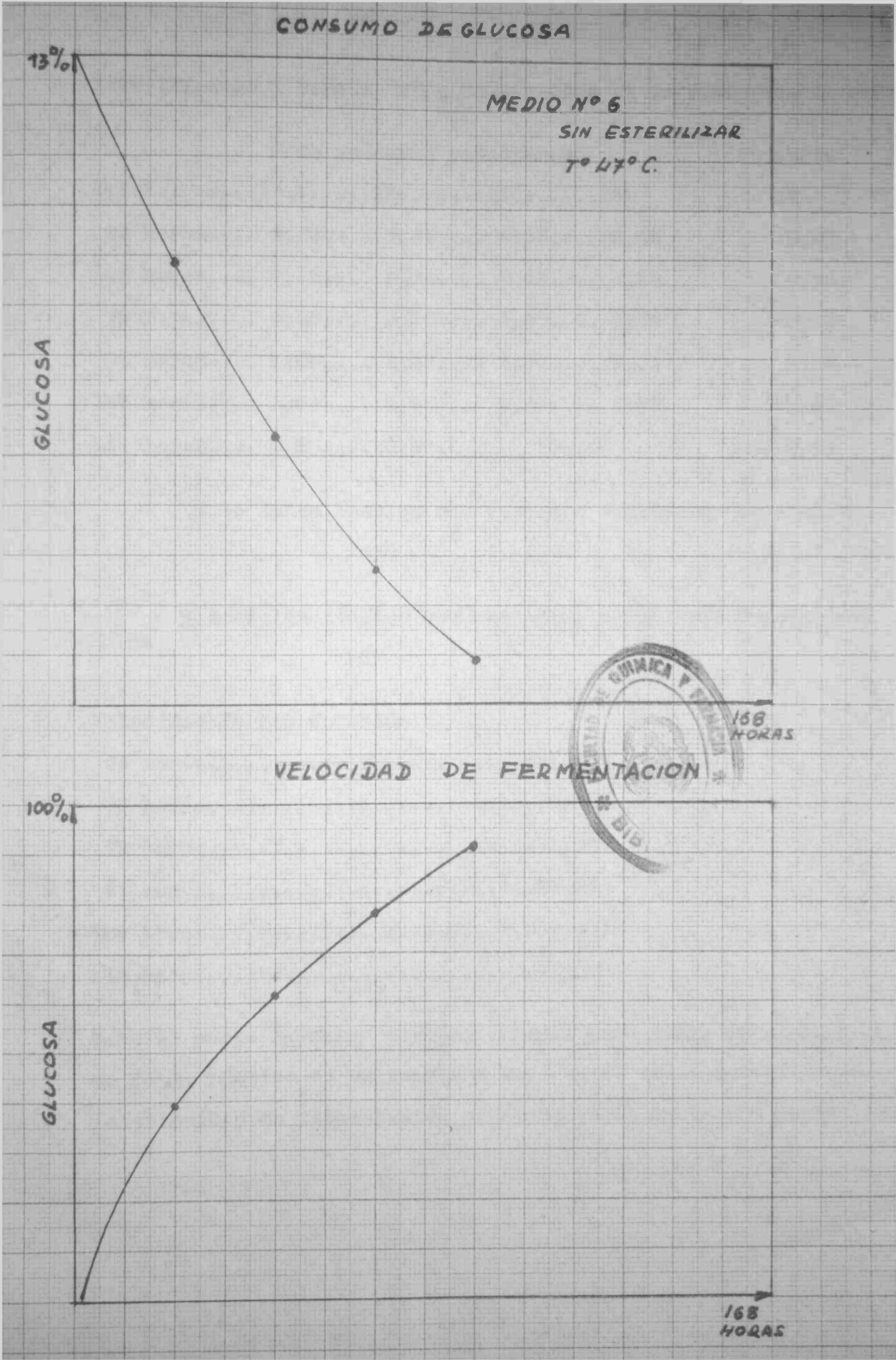
168 HORAS

VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

GLUCOSA

168 HORAS



Medio N° 6

Esterilizando 1 hora a 70°C. Temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

% de azúcares reductores					Promedio	Acido láctico
Inicial13.....13.....13.....13.....	13	
24 horas 3,63.... 7,84.... 8,33.... 8,05....	8,21	
48 horas 6,33.... 6,24.... 6,41.... 6,55....	6,35	
72 horas 3,06.... 3,15.... 3,06.... 2,99....	3,06	
96 horas 1,35.... 1,33.... 1,34.... 1,31....	1,33	
120 horas 1,05.... 1,06.... 1,05.... 1,03....	1,04	
144 horas 0,86.... 0,90....	0,44	

11,445

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

88%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

91%

Velocidad de fermentación

24 horas21,46%
48 horas51,15%
72 horas76,84%
96 horas89,00%
120 horas92,00%
144 horas95,00%

Como se puede apreciar por los valores expresados el rendimiento en ácido láctico es un poco más bajo en el medio esterilizado.

La velocidad de fermentación es mayor en el medio sin esterilizar.

CONSUMO DE GLUCOSA

13%

MEDIO N° 6
ESTERILIZADO
T° 47°C.

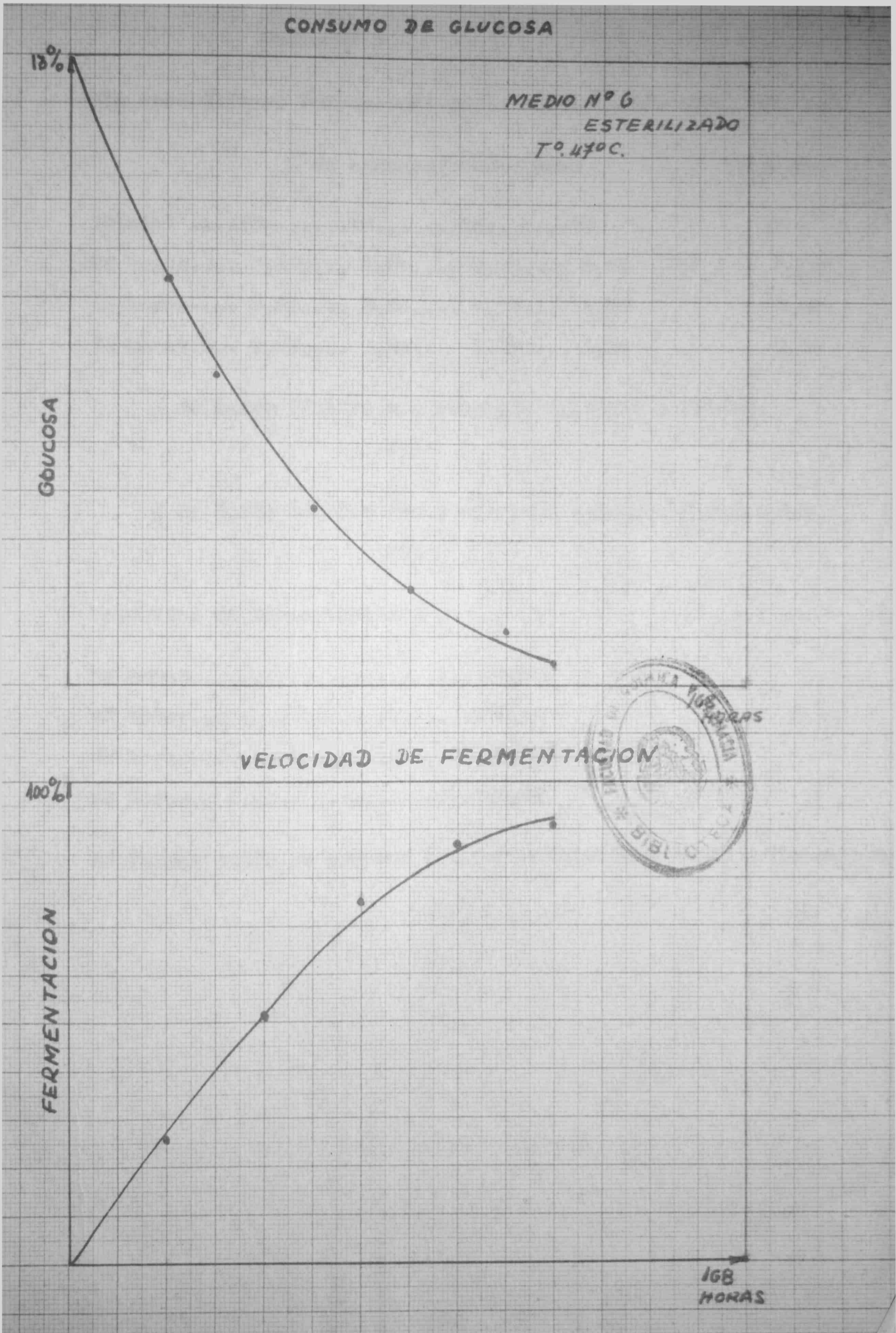
GLUCOSA

100%

VELOCIDAD DE FERMENTACION

FERMENTACION

168
HORAS



Medio N° 7

Sin esterilizar. Temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

% de azúcares reductores				Promedio	Acido láctico
Inicial13.....	13.....	13.....	13	
24 horas 8,26....	8,26....	8,63....	8,39	
48 horas 3,95....	3,51....	4,13....	3,84	
72 horas 1,35....	1,32....	1,38....	1,33	

11,83

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

91%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

99%

Velocidad de fermentación

24 horas35,53%
48 horas70,46%
72 horas89,00%
96 horas100,00%

La fermentación se produce con mayor velocidad en el medio anterior

CONSUMO DE GLUCOSA

MEDIO N° 7
SIN ESTERILIZAR
T° 47° C.

13%

GLUCOSA

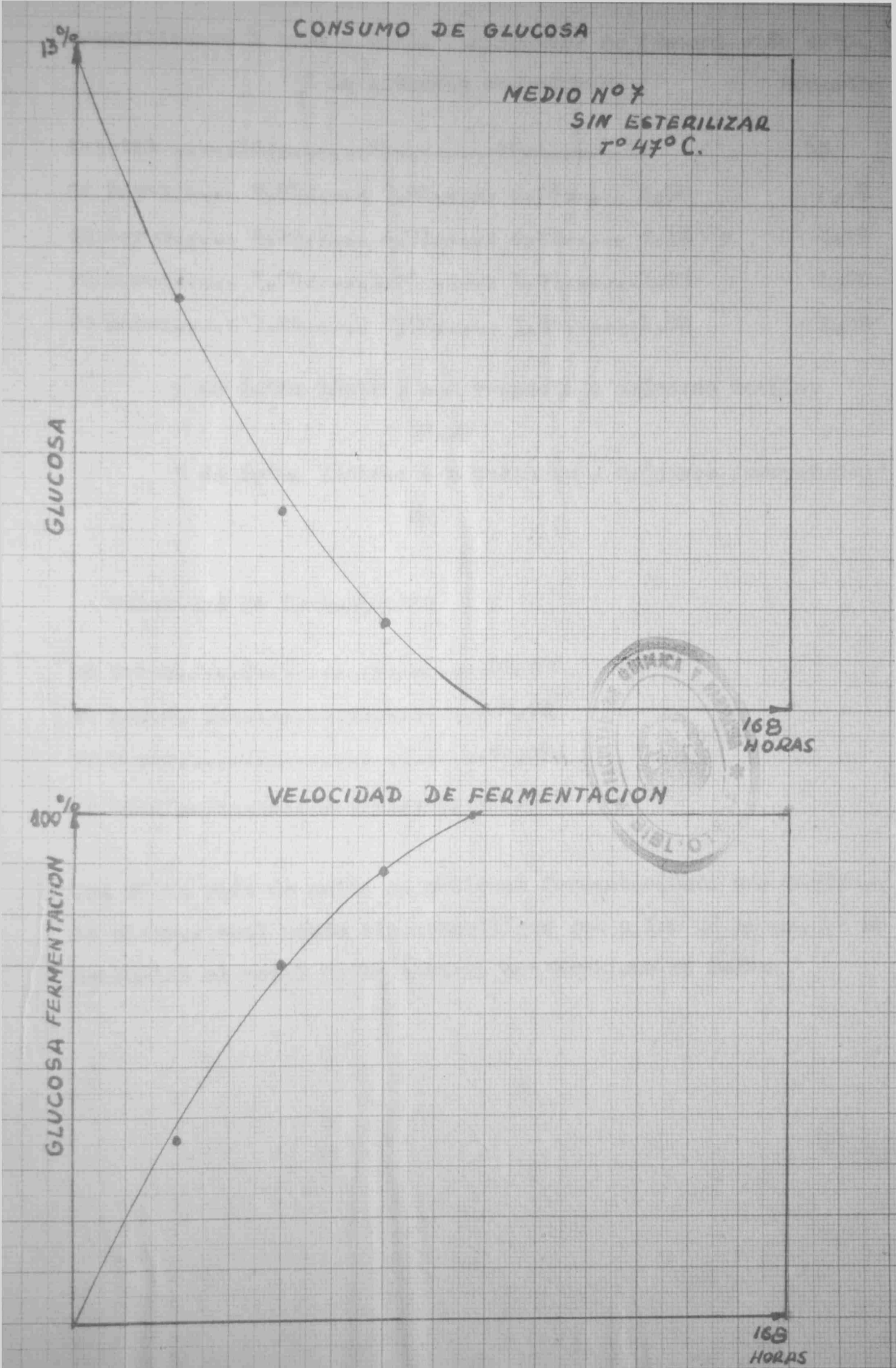
168 HORAS

VELOCIDAD DE FERMENTACION

400%

GLUCOSA FERMENTACION

168 HORAS



Medio N° 7

Esterilizando 1 hora a 70°C. Temperatura de fermentación 47°C. pH 5,6

% de azúcares reductores				Promedio	Acido
Inicial13.....13.....13.....	13	lático
24 horas 7,91..... 7,91..... 8,26.....	8,02	
48 horas 4,13..... 4,31..... 4,22.....	4,19	
72 horas 1,90..... 1,86..... 1,91.....	1,90	
96 horas 1,05..... 1,03..... 1,06.....	1,05	1,55%

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

88,9%

% de ácido láctico en respecto a azúcares fermentados

96%

Velocidad de fermentación

24 horas33,33%
48 horas67,76%
72 horas93,07%
96 horas99,61%

Con 3% de raíz de malta se obtienen fermentaciones muy rápidas.

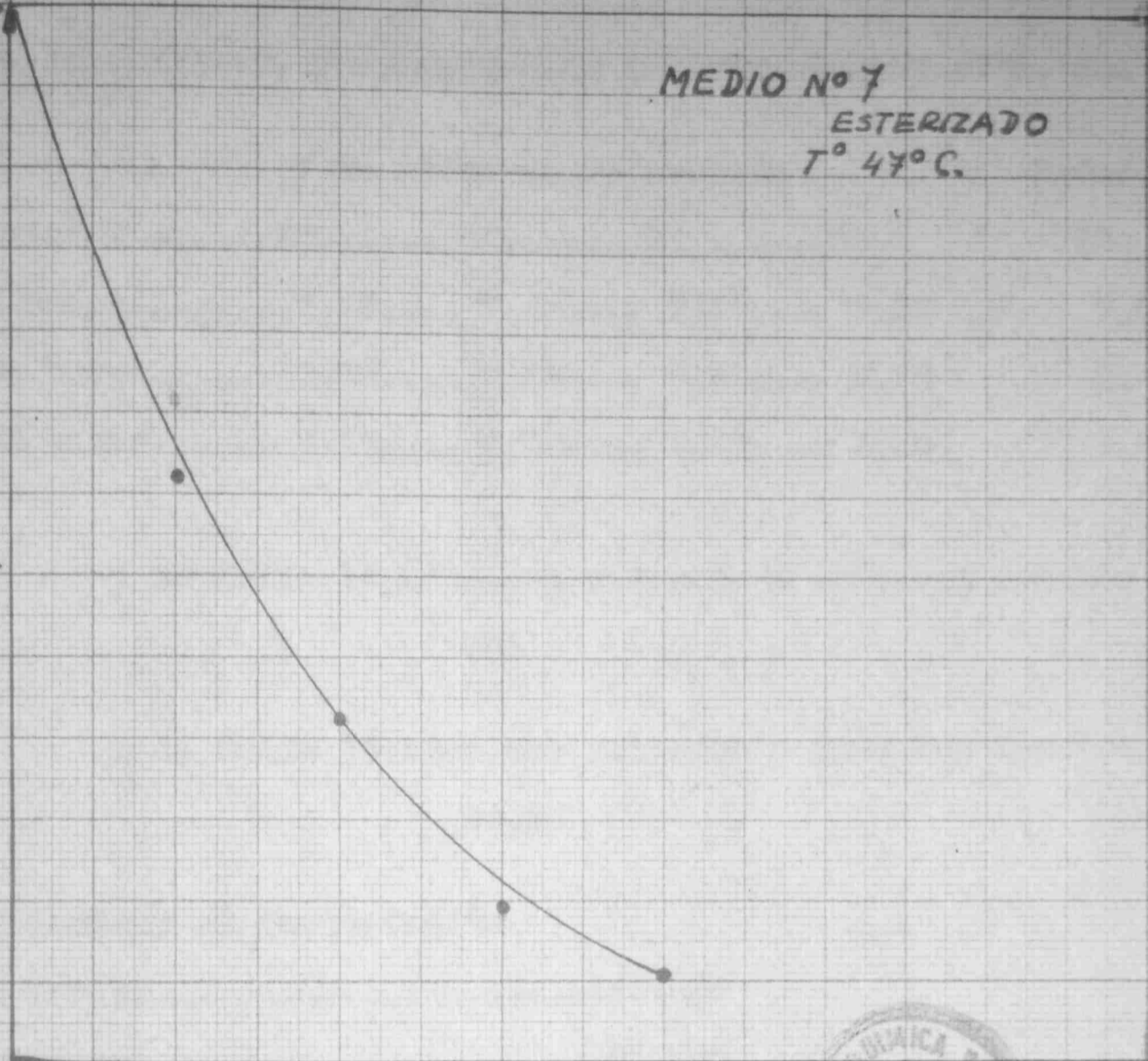
Se observa en el medio sin esterilizar que a las 96 horas, ya se ha consumido el total de la glucosa que contiene el medio.

CONSUMO DE GLUCOSA

13%

MEDIO N° 7
ESTERIZADO
T° 47°C.

GLUCOSA

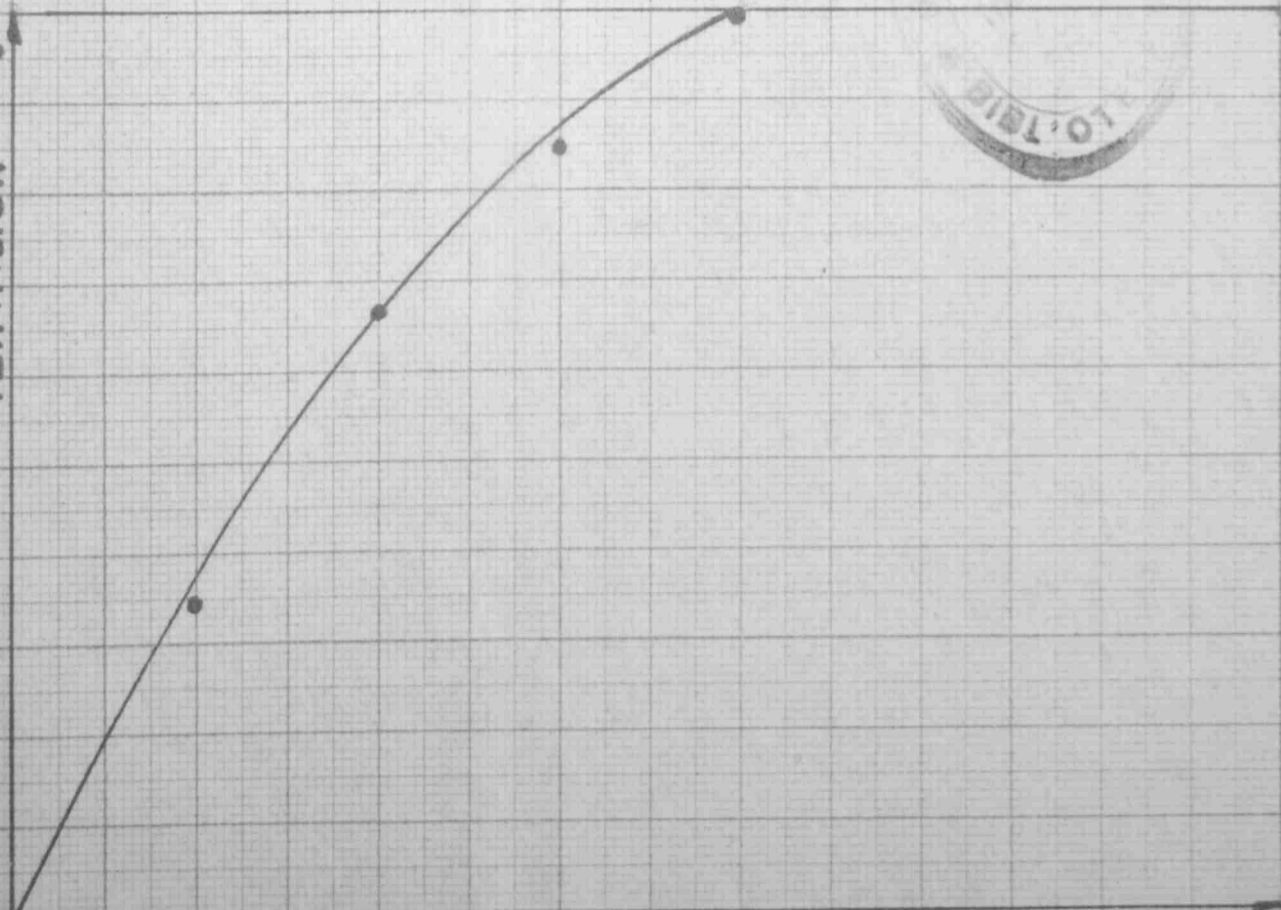


168
HORAS

VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

FERMENTACION



168
HORAS



Medio N° 8

Sin esterilizar. Temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

‰ de azúcares reductores				Promedio	Acido
Inicial13.....	13.....	13.....	13	
24 horas7,53.....	7,43.....	7,53.....	7,52	Láctico
48 horas2,37.....	2,37.....	2,43.....	2,38	
72 horas1,13.....	1,13.....	1,23.....	1,19	

11,44%

‰ de ácido láctico con respecto a azúcares totales

88%

‰ de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

96,2%

Velocidad de fermentación

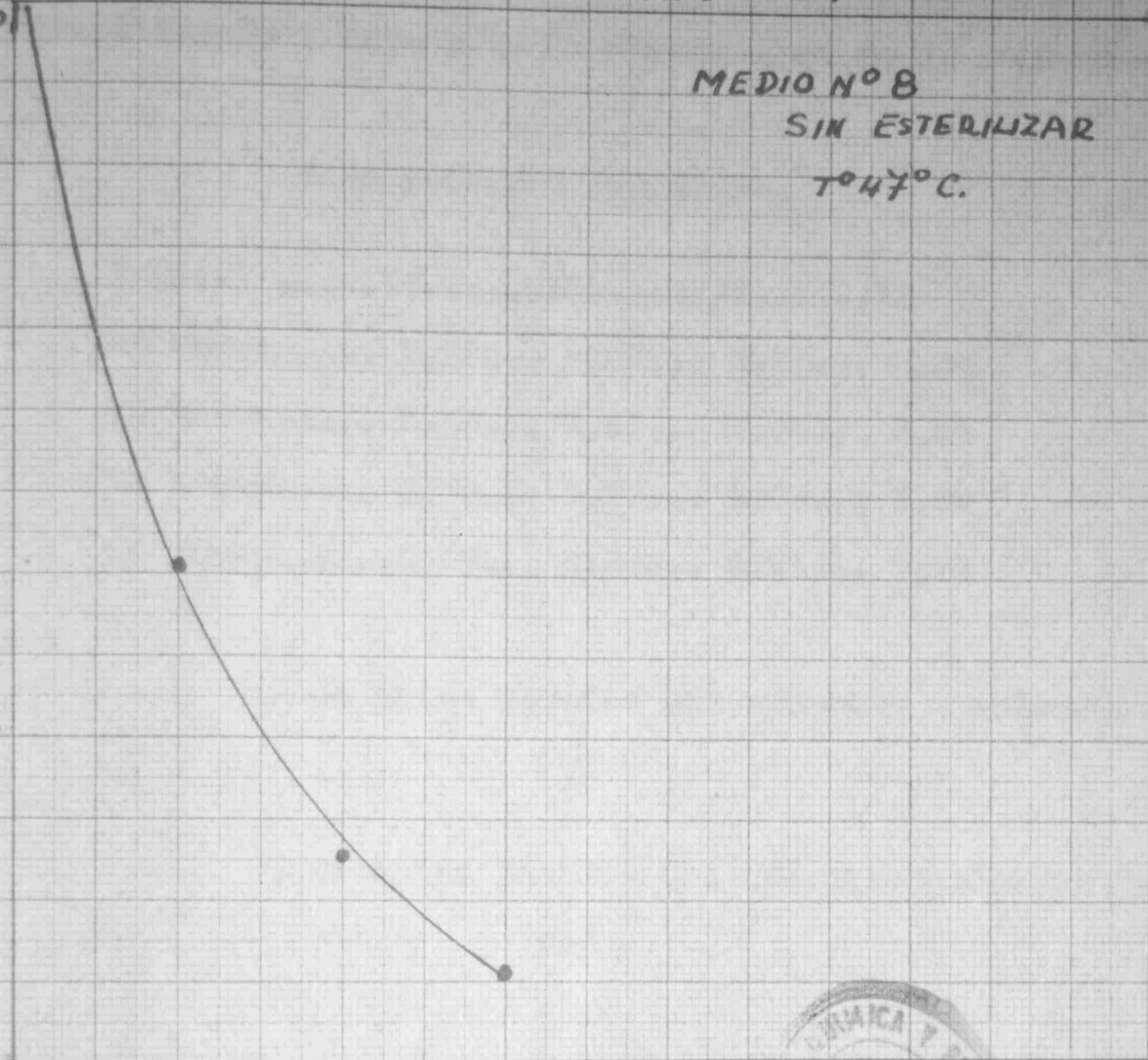
24 horas48,23%
48 horas31,60%
72 horas20,84%

CONSUMO DE GLUCOSA

MEDIO N° 8
SIN ESTERILIZAR
T° 47° C.

13%

GLUCOSA

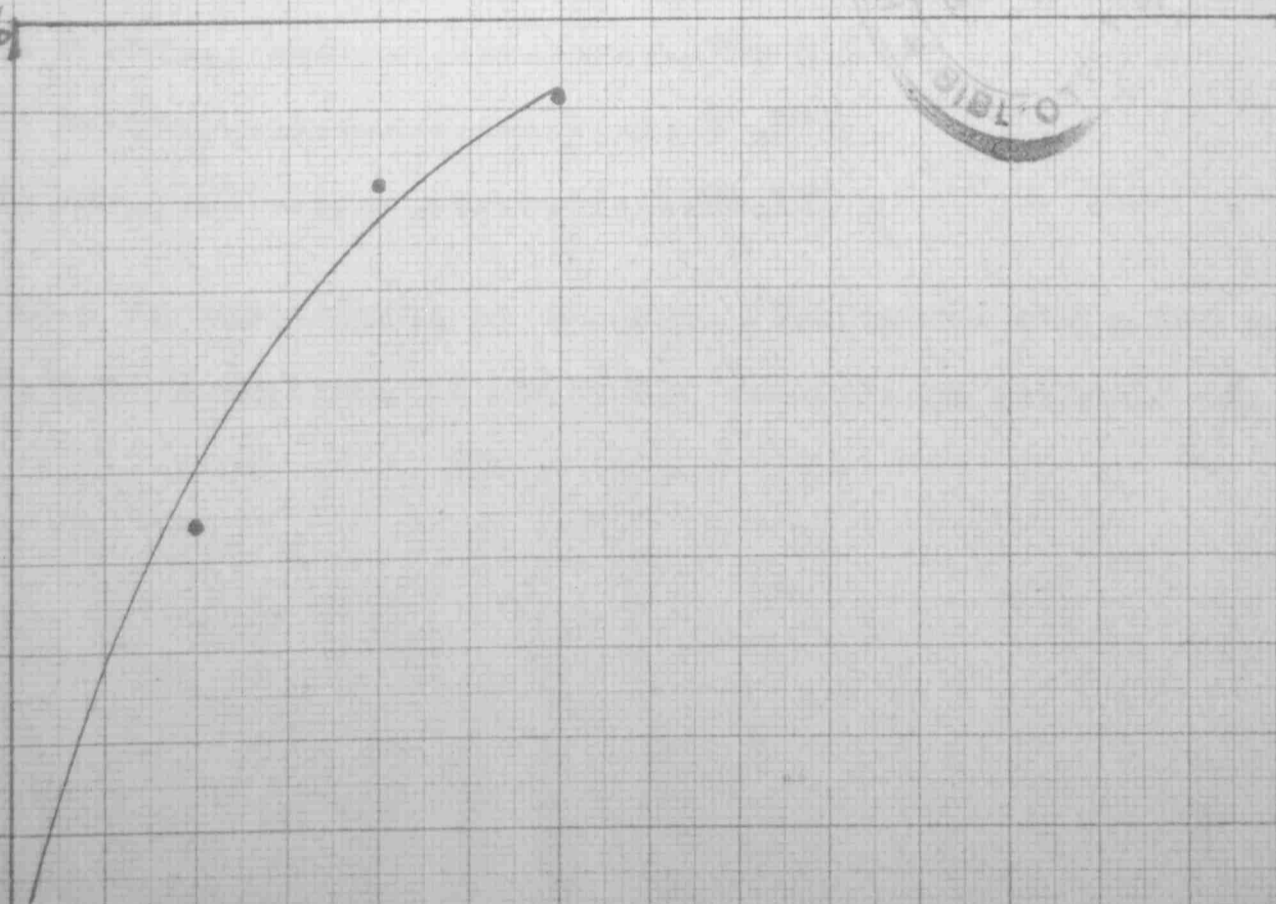


160 HORAS

VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

FERMENTACION



160 HORAS



Medio N° 8

Esterilizando 1 hora a 70°C. Temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

	% de azúcares reductores	Promedio	Acido láctico
Inicial	13.....13.....13.....13		
24 horas.....	7,52... 8,09... 7,98... 8,05	7,91	
48 horas.....	5,39... 5,51... 5,53... 3,41	3,41	
72 horas.....	1,75... 1,79... 1,80... 1,82	1,79	
96 horas.....	0,93... 0,94... 0,91... 0,78	0,89	11,31%

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

27%

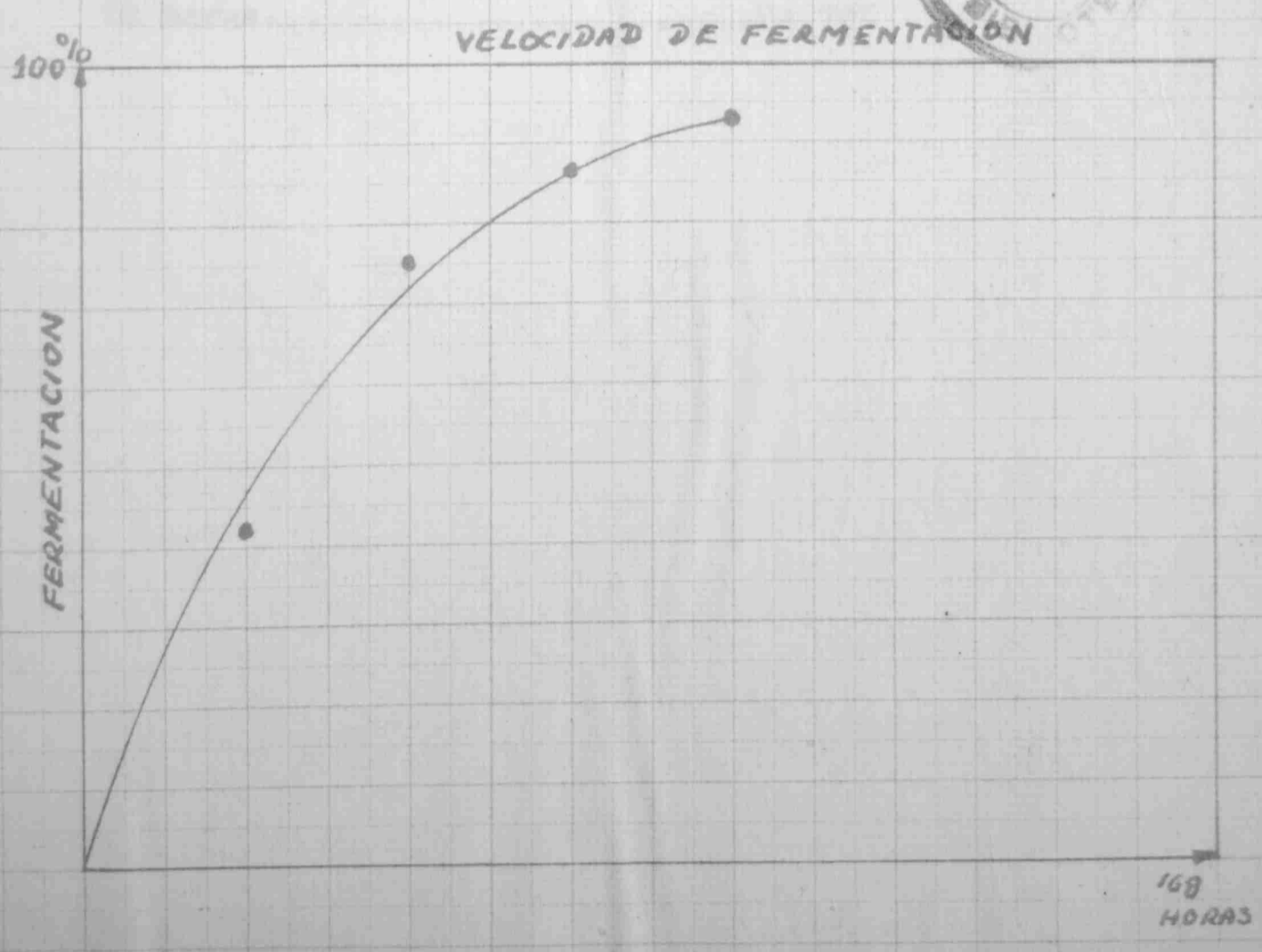
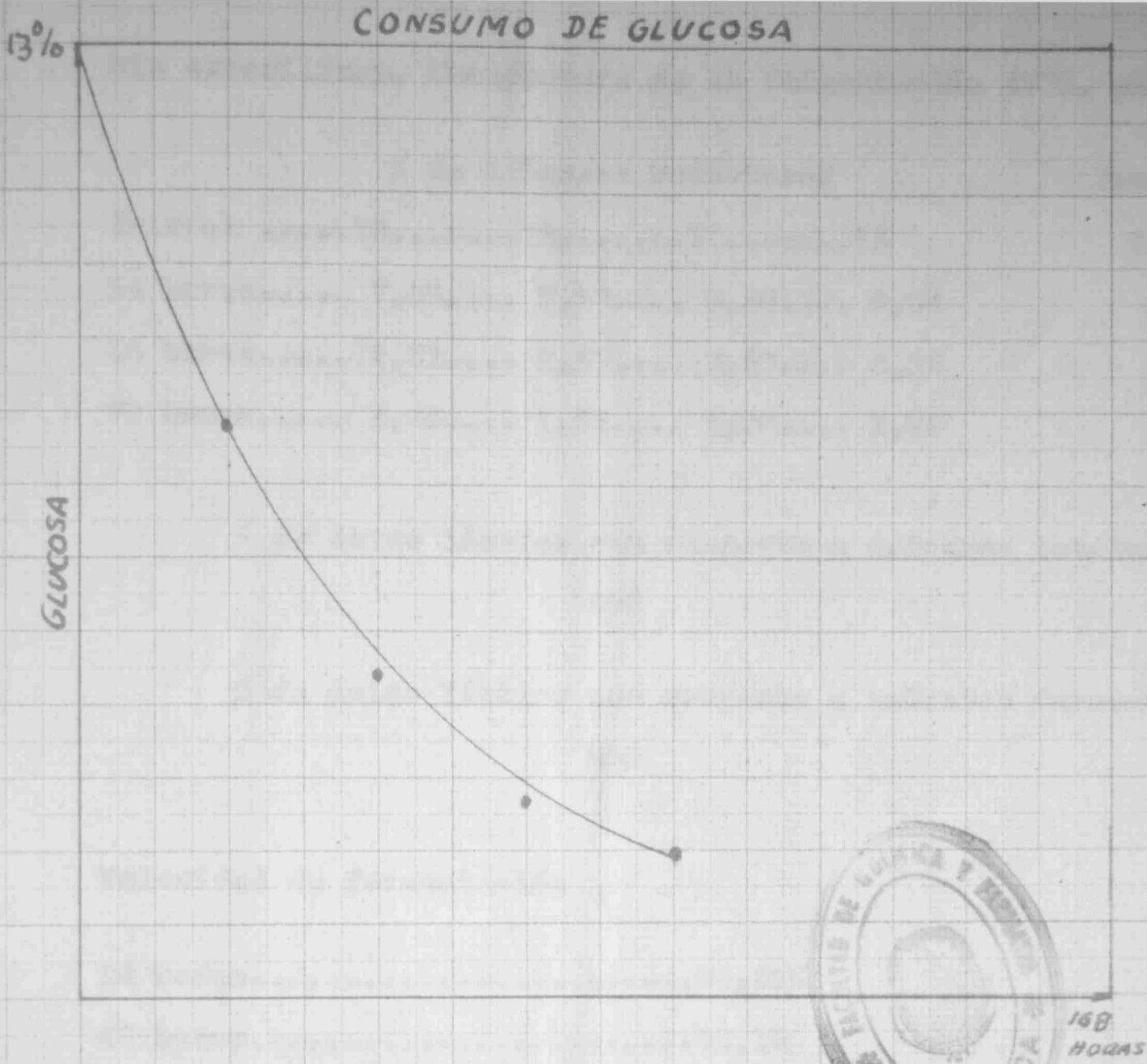
% de ácido láctico con respecto azúcares fermentados

94%

Velocidad de fermentación

24 horas.....	39,15%
48 horas.....	73,61 %
72 horas.....	86,23%
96 horas.....	93,16%

Estas fermentaciones se conducen rápidamente con altos rendimientos en ácidos láctico. El medio sin esterilizar fermentó más rápido



Medio N° 9

Sin esterilizar. Temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

% de azúcares reductores					Promedio	
Inicial13.....13.....13.....13.....	13	ácido
24 horas 7,52..... 7,52..... 9,50..... 9,04.....	8,39	lático
48 horas2,31..... 2,37..... 2,37..... 2,26.....	2,32	
72 horas 1,20..... 1,21..... 1,20..... 1,22.....	1,20	

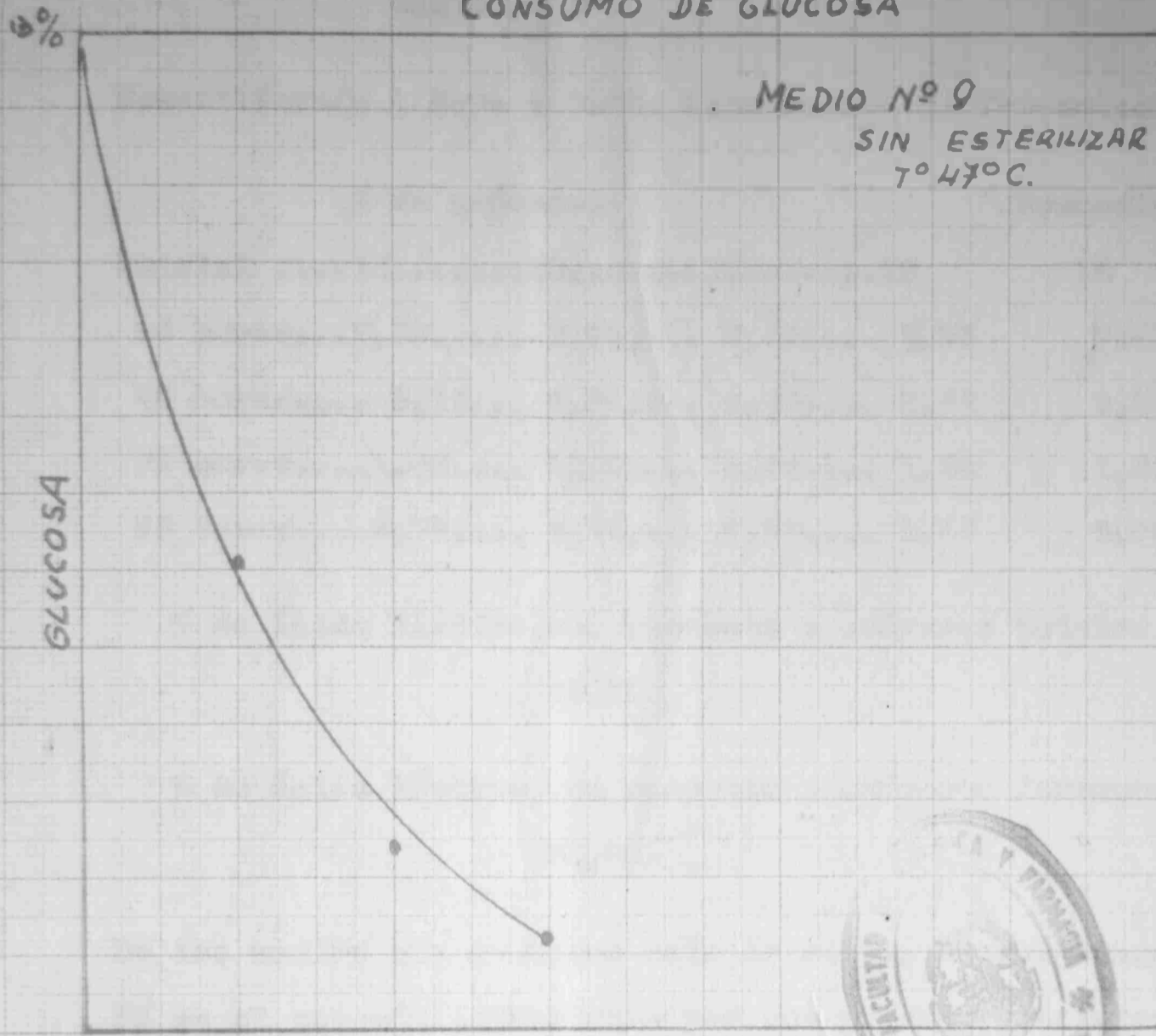
% de ácido láctico con respecto a azúcares totales
 87% 11,31%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados
 95%

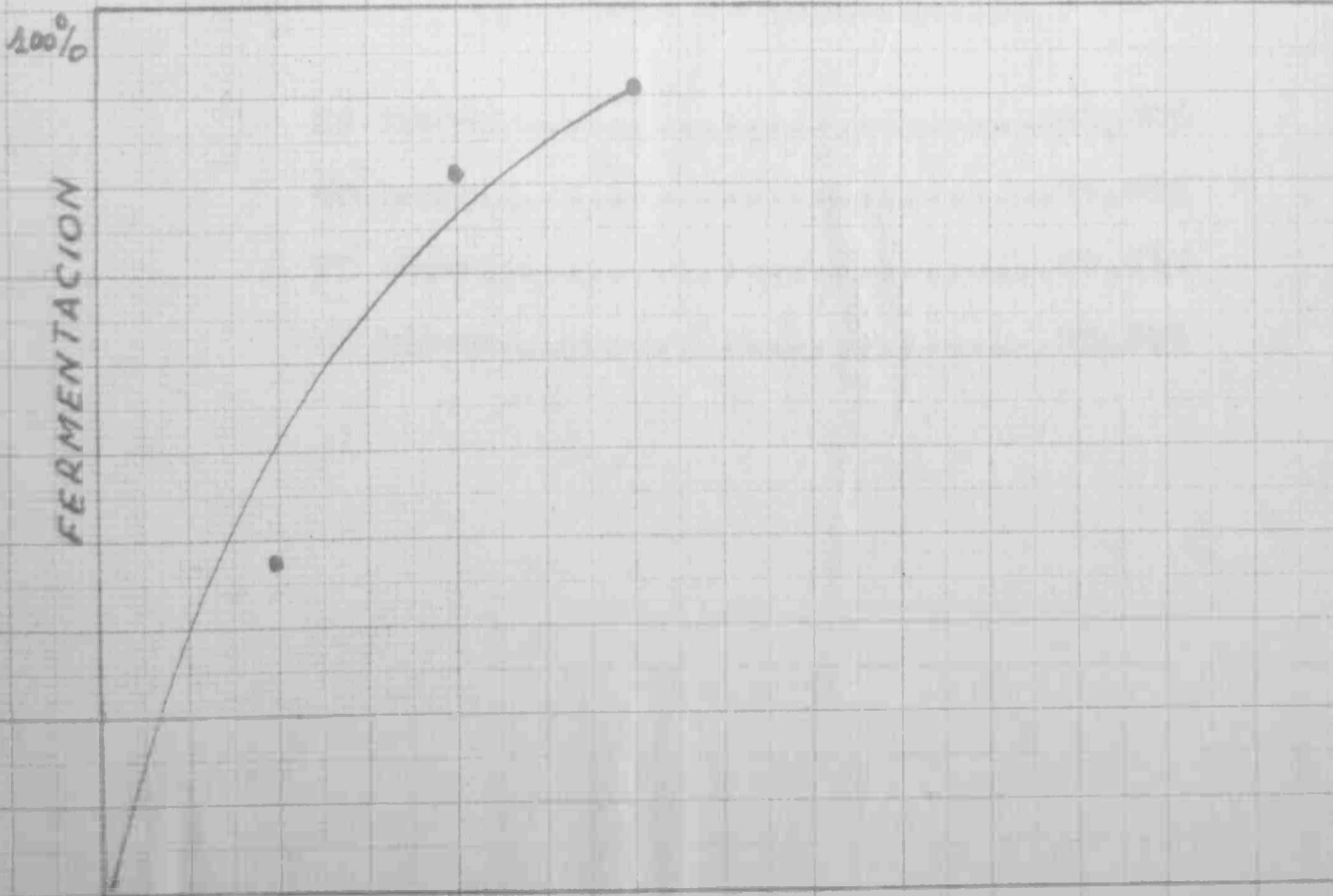
Velocidad de fermentación

24 horas35,38%
48 horas32,15%
72 horas90,76%

CONSUMO DE GLUCOSA



VELOCIDAD DE FERMENTACION



168 HORAS

Medio N° 9

Esterilizando 1 hora a 70°C. Temperatura de fermentación 47°C. pH. 5,6

% de azúcares	Promedio	Acido
Inicial13.....13.....13.....13	13	Láctico
24 horas...7,52..... 7,91..... 7,52..... 7,91	7,61	
48 horas.... 3,16... 3,96.... 2,96.... 2,87	2,98	
72 horas....1,63.... 1,62.... 1,62.... 1,58	1,61	
96 horas....6,79.... 6,74.... 6,78.... 6,86	6,79	11,15%

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

85,5%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

91,00%

De los medios que contiene raíz de malta, el que tiene concentración 3% es el que más conveniente por que produce rendimientos altos en ácido láctico y es de gran velocidad de fermentación.

Velocidad de fermentación

24 horas.....	40,69%
48 horas.....	77,07%
72 horas.....	87,61%
96 horas.....	93,92%

CONSUMO DE GLUCOSA

18%

MEDIO N° 9
ESTERILIZADO
T° 47° C

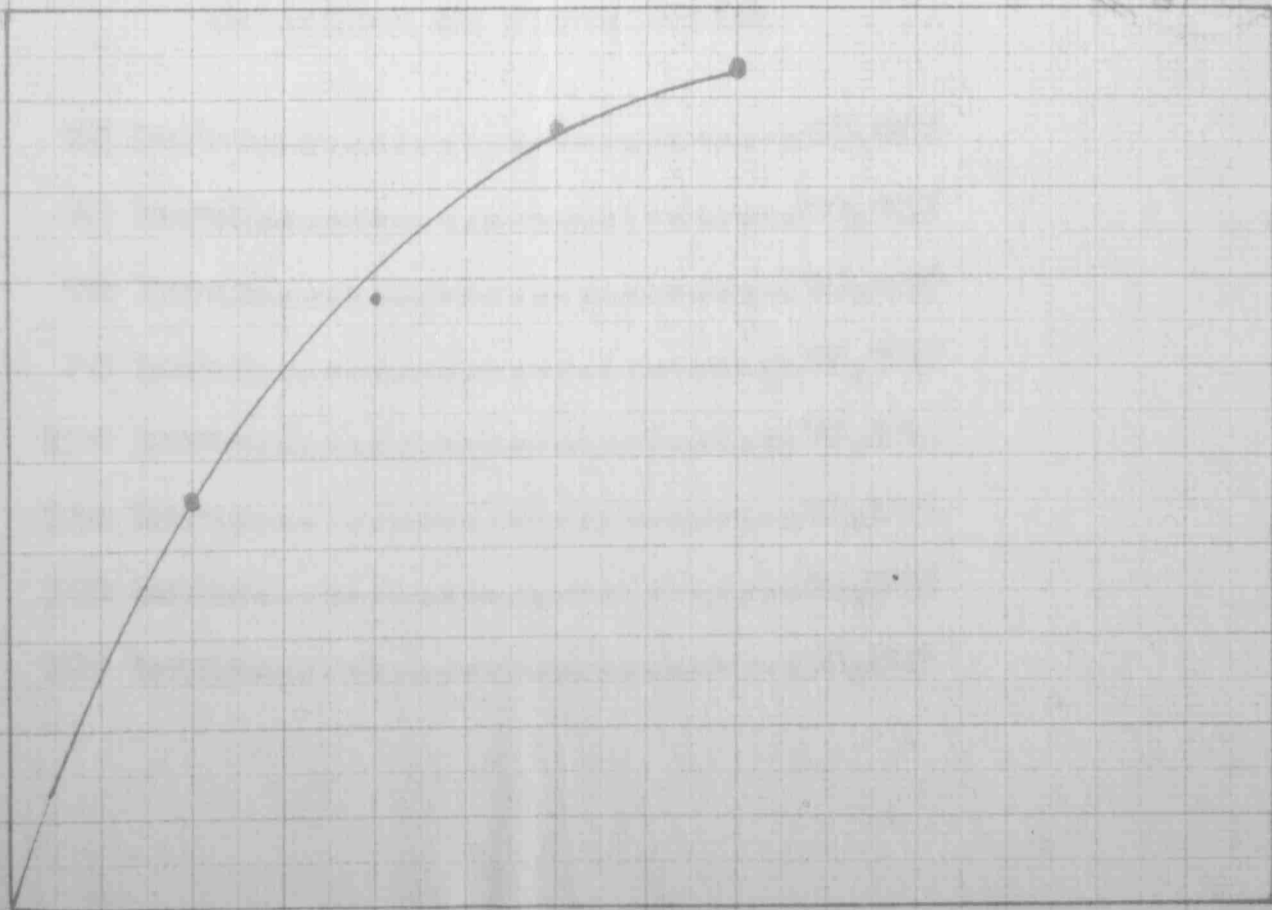
GLUCOSA



VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

FERMENTACION



168
HORAS

Medio N°10

Sin esterilizar. Temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

	% de azúcares reductores				Promedio	Acido
Inicial13.....13.....13.....13.....	13	
24 horas7,91.....7,52.....7,91.....7,52.....	7,71	lático
48 horas6,33.....6,33.....6,16.....6,59.....	6,47	
72 horas4,31.....4,52.....4,75.....4,41.....	4,49	
96 horas3,16.....3,06.....3,11.....3,27.....	3,15	
120 horas2,63.....2,71.....2,71.....2,79.....	2,71	
144 horas2,20.....2,31.....2,34.....2,31.....	2,29	
168 horas1,93.....1,90.....1,90.....1,88.....	1,90	
192 horas1,62.....1,59.....1,59.....1,58.....	1,59	

11,05%

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

85%

% de ácido láctico con respecto de azúcares fermentados

96%

Velocidad de fermentación

24 horas40,60%
48 horas50,25%
72 horas65,40%
96 horas75,78%
120 horas79,15%
144 horas82,33%
168 horas85,30%
192 horas88,00%

CONSUMO DE GLUCOSA

MEDIO N° 10

SIN ESTERILIZAR
T° 47° C.

13%

GLUCOSA

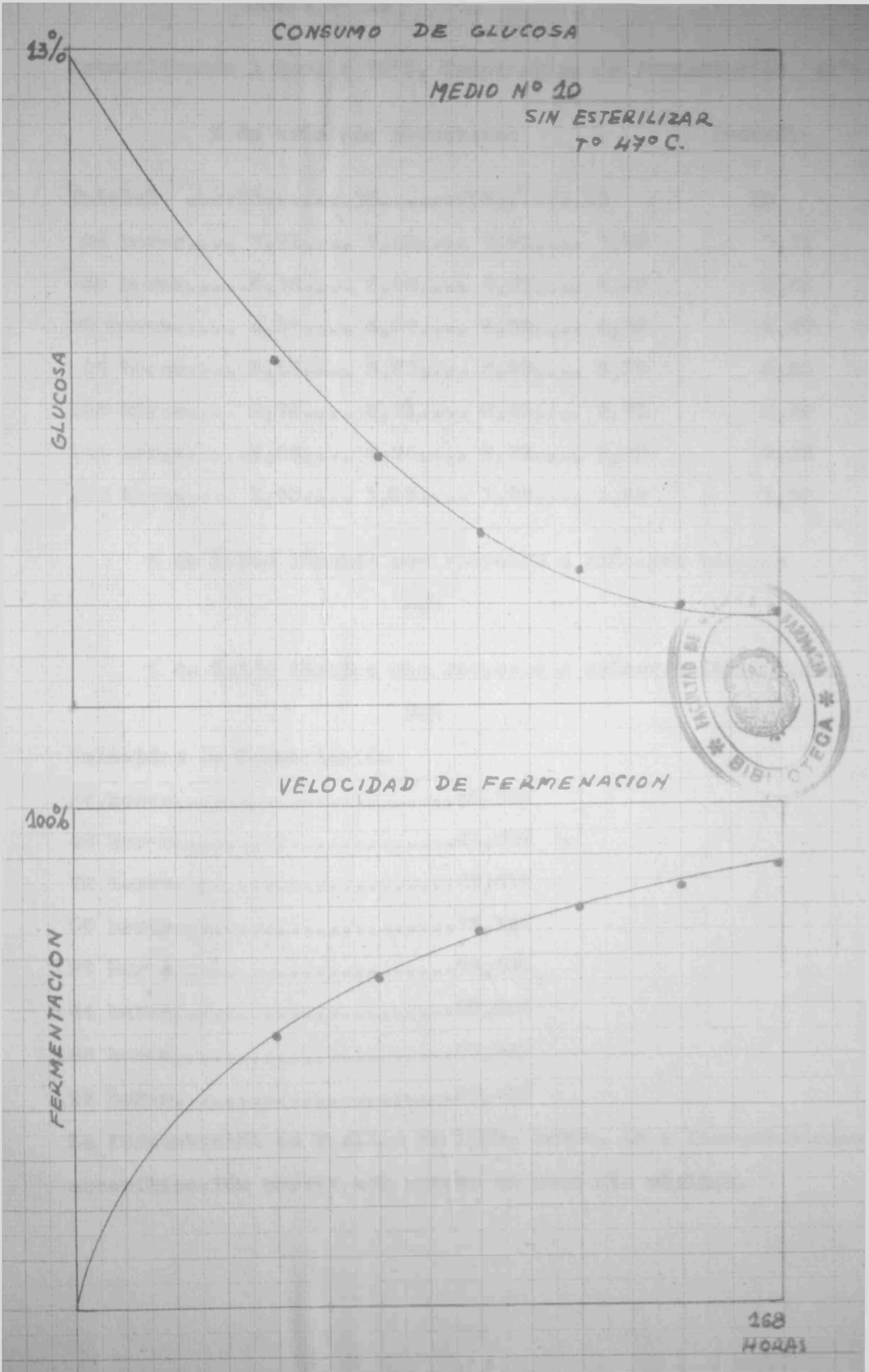


VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

FERMENTACION

168
HORAS



Medio N° 10

Esterilizando 1 hora a 70°C. Temperatura de fermentación 47°C. PH. 5,6

% de azúcares reductores					Promedio	Acido láctico
Inicial13.....13.....13.....13.....	13	
24 horas 7,91..... 7,52..... 7,91..... 7,52	7,71	
48 horas6,88..... 6,88..... 6,41..... 6,42	6,64	
72 horas 4,37..... 4,52..... 4,52..... 4,50	4,47	
96 horas 3,18..... 3,27..... 3,28..... 3,22	3,23	
120 horas 2,70..... 2,71..... 2,66..... 2,71	2,69	
144 horas2,25..... 2,26..... 2,31..... 2,23	2,25	
168 horas 1,93..... 1,93..... 1,95..... 1,90	1,92	

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales 11,05%
 85%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados
 99%

Velocidad de fermentación

24 horas40,69%
48 horas41,23%
72 horas65,61%
96 horas75,15%
120 horas79,30%
144 horas82,69%
168 horas85,24%
192 horas87,61%

La fermentación se realiza en forma lenta. Las fermentaciones sin esterilización previa son apenas un poco más rápidas.

CONSUMO DE GLUCOSA

MEDIO N° 10
ESTERILIZADO
T° 47°C.

13%

GLUCOSA

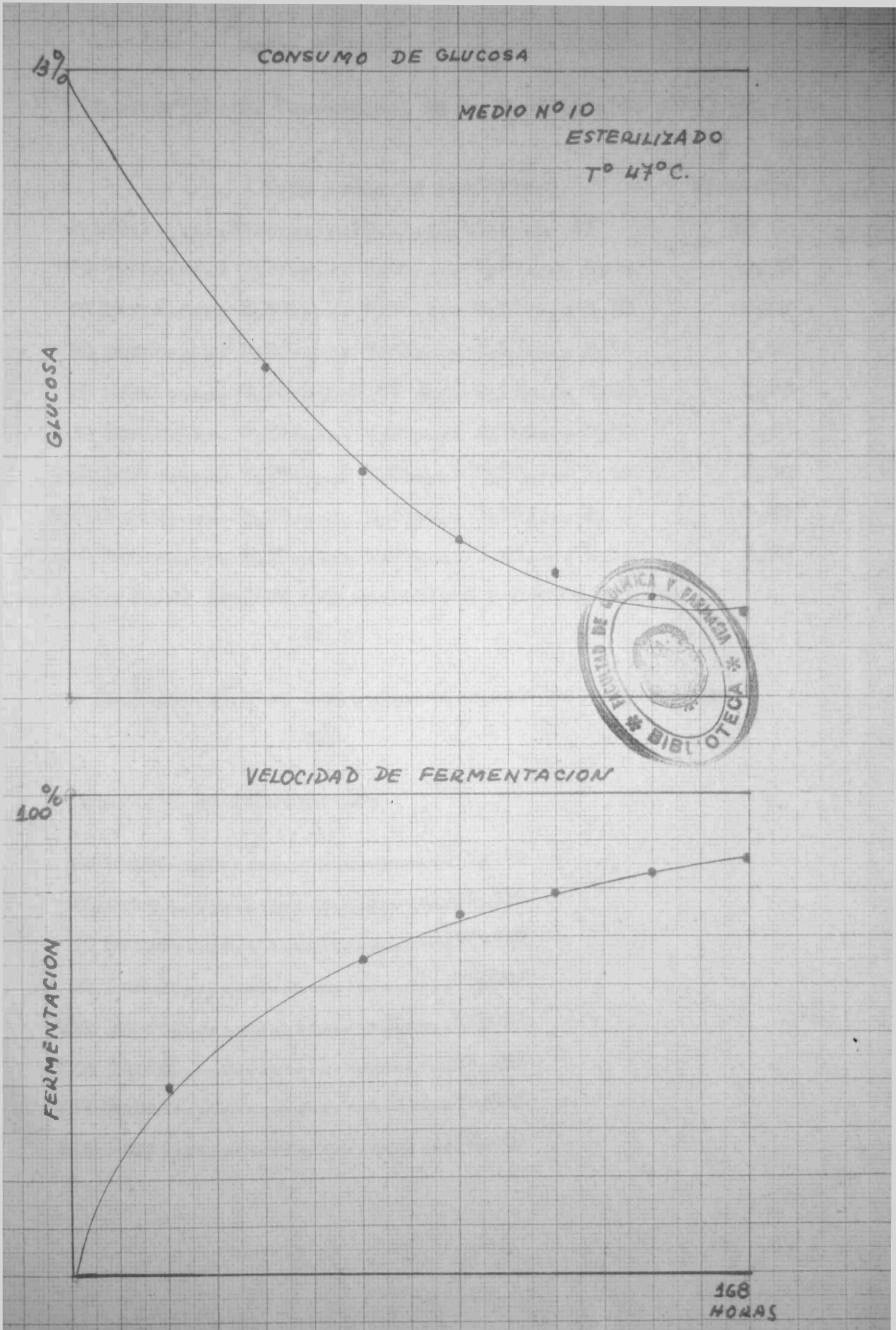


VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

FERMENTACION

168
HORAS



Medio N° 11

Sin esterilizar. Temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

	% de azúcares reductores				Promedio	Acido
Inicial13.....13.....13.....13.....	13	Láctico
24 horas 6,88..... 6,88..... 6,55..... 6,88	6,79	
48 horas 5,27..... 5,00..... 5,27..... 5,58	5,28	
72 horas 2,96..... 3,01..... 3,16..... 3,11	3,06	
96 horas 2,63..... 2,67..... 2,79..... 2,86	2,73	
120 horas 2,31..... 2,23..... 2,43..... 2,36	2,35	
144 horas 2,02..... 2,05..... 2,15..... 2,02	2,06	
168 horas 1,53..... 1,53..... 1,60..... 1,60	1,56	
192 horas 1,12..... 1,20..... 1,21..... 1,18	1,17	

11,12%

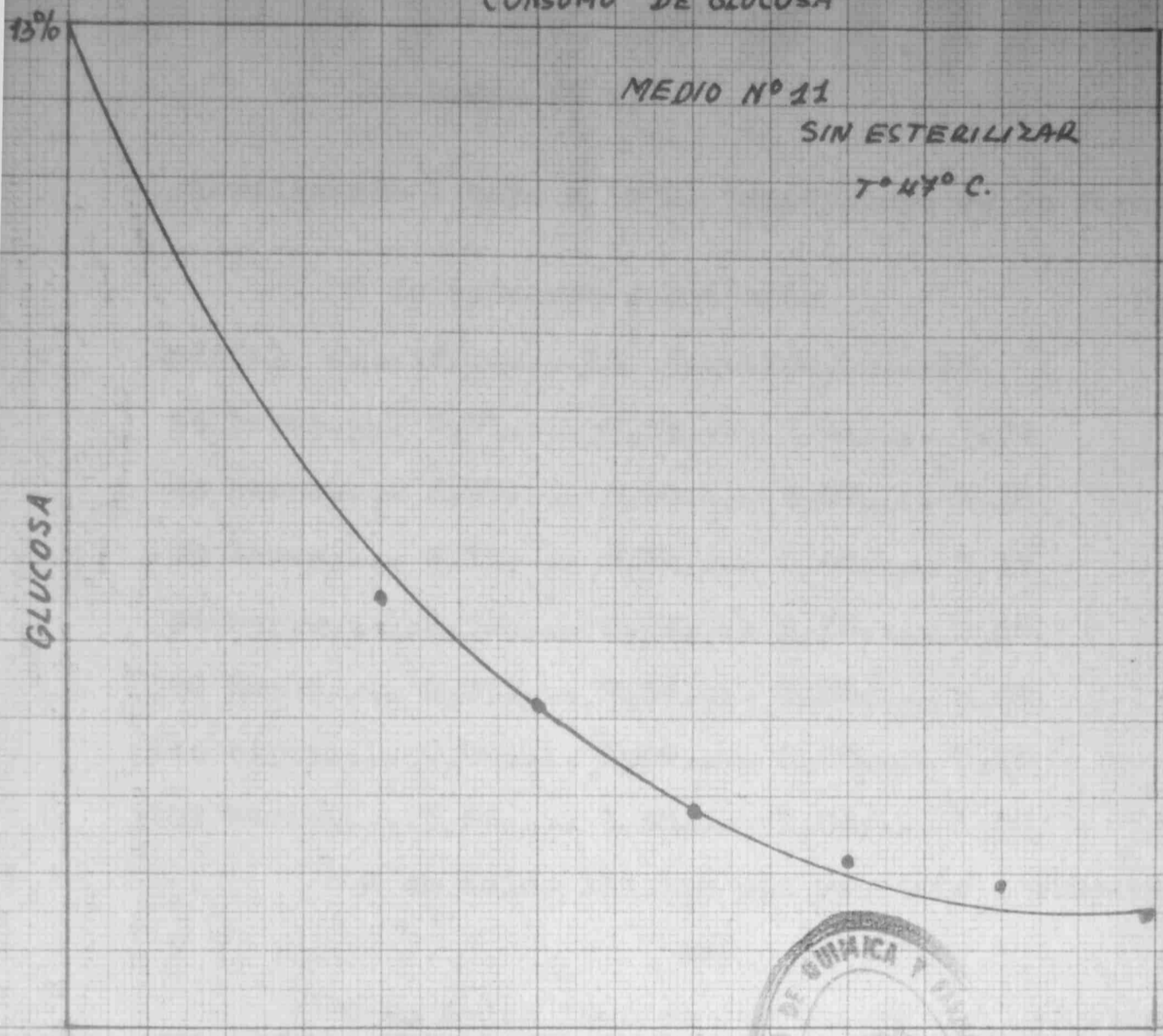
% de ácido láctico con respecto a azúcares totales
85,6%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados
93%

Velocidad de fermentación

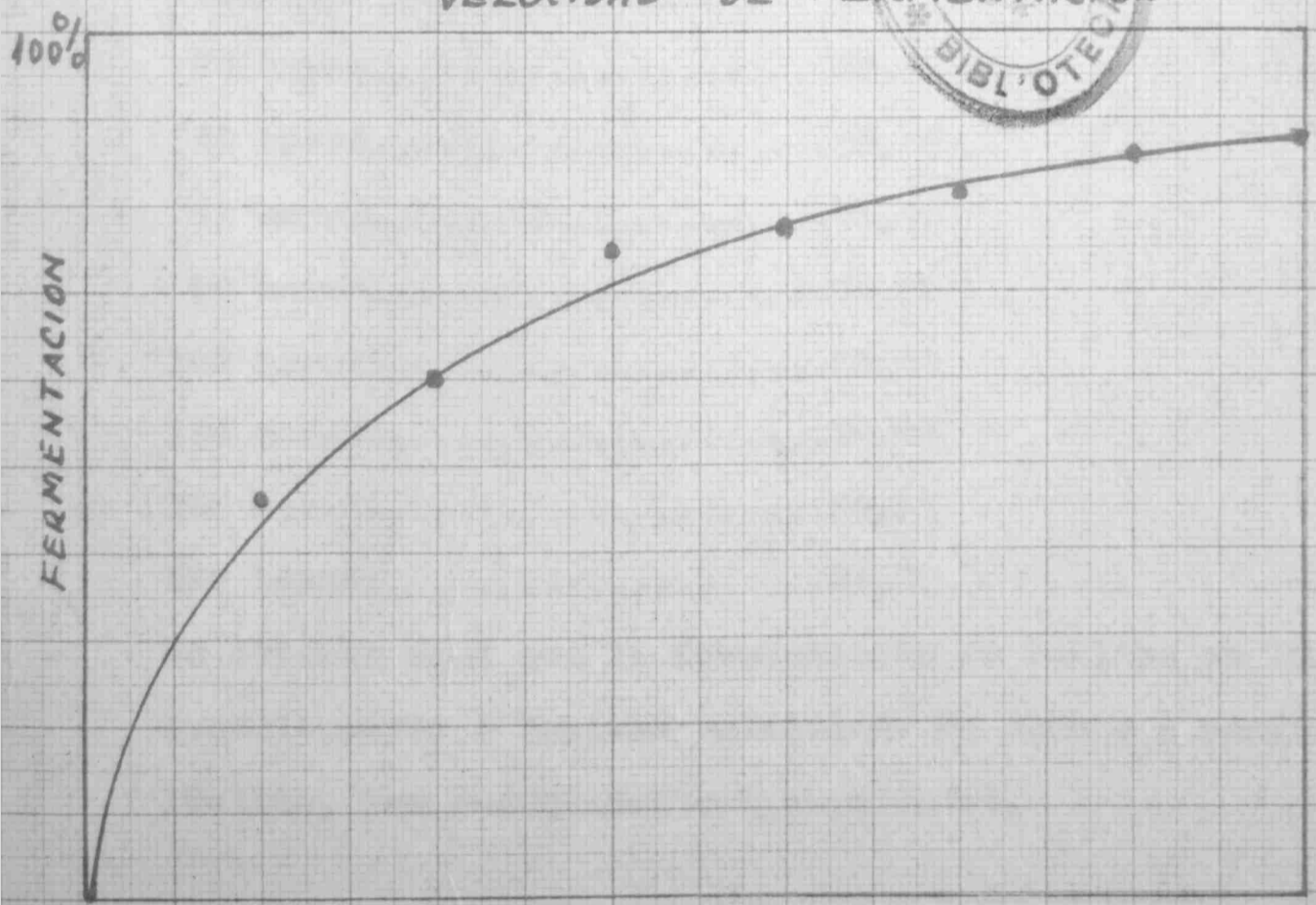
24 horas47,77%
48 horas59,38%
72 horas76,46%
96 horas79,00%
120 horas81,92%
144 horas84,15%
168 horas88,81%
192 horas90,00%

CONSUMO DE GLUCOSA



168 HORAS

VELOCIDAD DE FERMENTACION



168 HORAS



Medio N° 11

Esterilizando 1 hora a 70°C. Temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

% de azúcares reductores					Promedio	Acido láctico
Inicial13.....13.....13.....13.....	13	
24 horas 7,91.... 7,84.... 7,91.... 7,84	7,87	
48 horas 5,27.... 5,00.... 5,27.... 5,58	5,23	
72 horas 3,16.... 3,11.... 3,04.... 3,17	3,12	
96 horas 2,63.... 2,64.... 2,63.... 2,67	2,64	
120 horas 2,37.... 2,34.... 2,32.... 2,38	2,35	
144 horas 2,08.... 2,09.... 2,08.... 2,10	2,08	
168 horas 1,55.... 1,55.... 1,54.... 1,58	1,55	

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales 10,79

88%

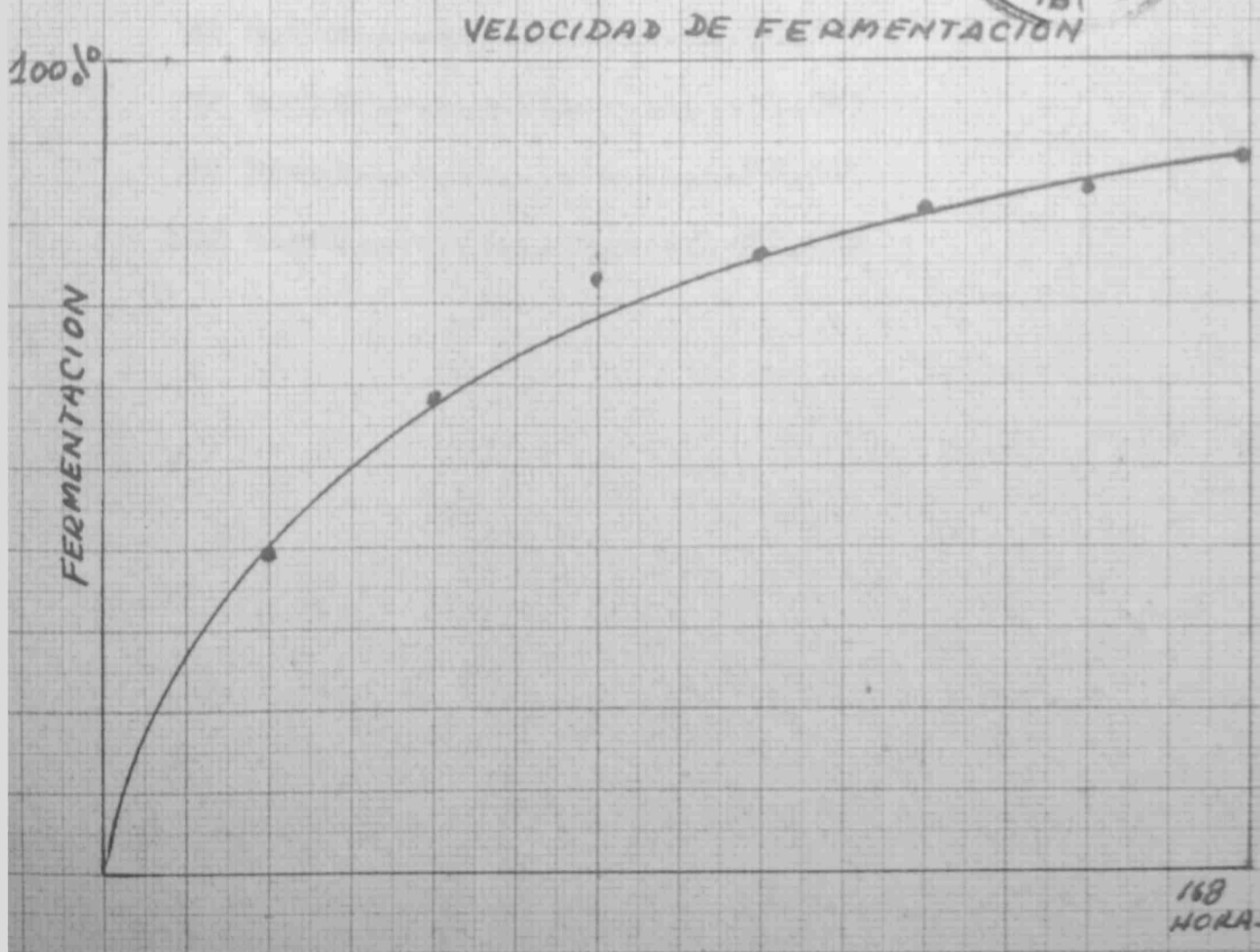
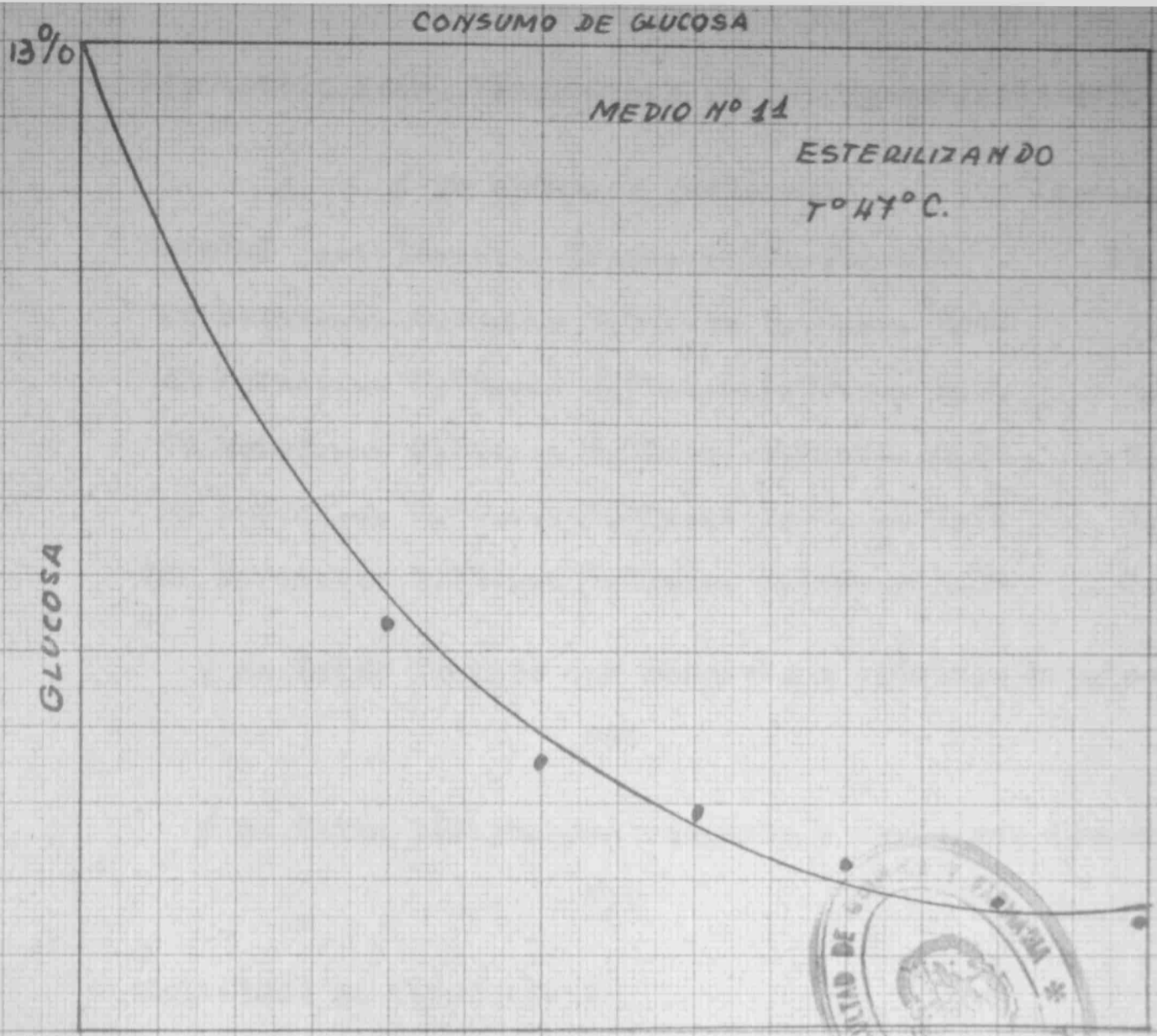
% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

93%

Velocidad de fermentación

24 horas39,46
48 horas59,38
72 horas75,23
96 horas79,69
120 horas83,46
144 horas84,00
168 horas88,07
192 horas91,00

Se observa aquí que la fermentación se realiza en los 2 medios practicamente a lamisma velocidad. En cuanto a rendimiento en ácido láctico, los resultados son semejantes.



Medio N° 12

Sin esterilizar, Temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

	% de azúcares reducidos				Promedio	
Inicial13.....13.....13.....13.....	13	Acido láctico
24 horas 6,88..... 7,29..... 6,88..... 7,40	7,11	
48 horas 4,75..... 4,99..... 5,00..... 5,00	4,93	
72 horas 2,50..... 2,15..... 2,31..... 2,26	2,30	
96 horas 1,86..... 1,79..... 1,86..... 1,75	1,81	
120 horas 1,21..... 1,12..... 1,14..... 1,10	1,14	

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

11,57%

39%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

97%

Velocidad de fermentación

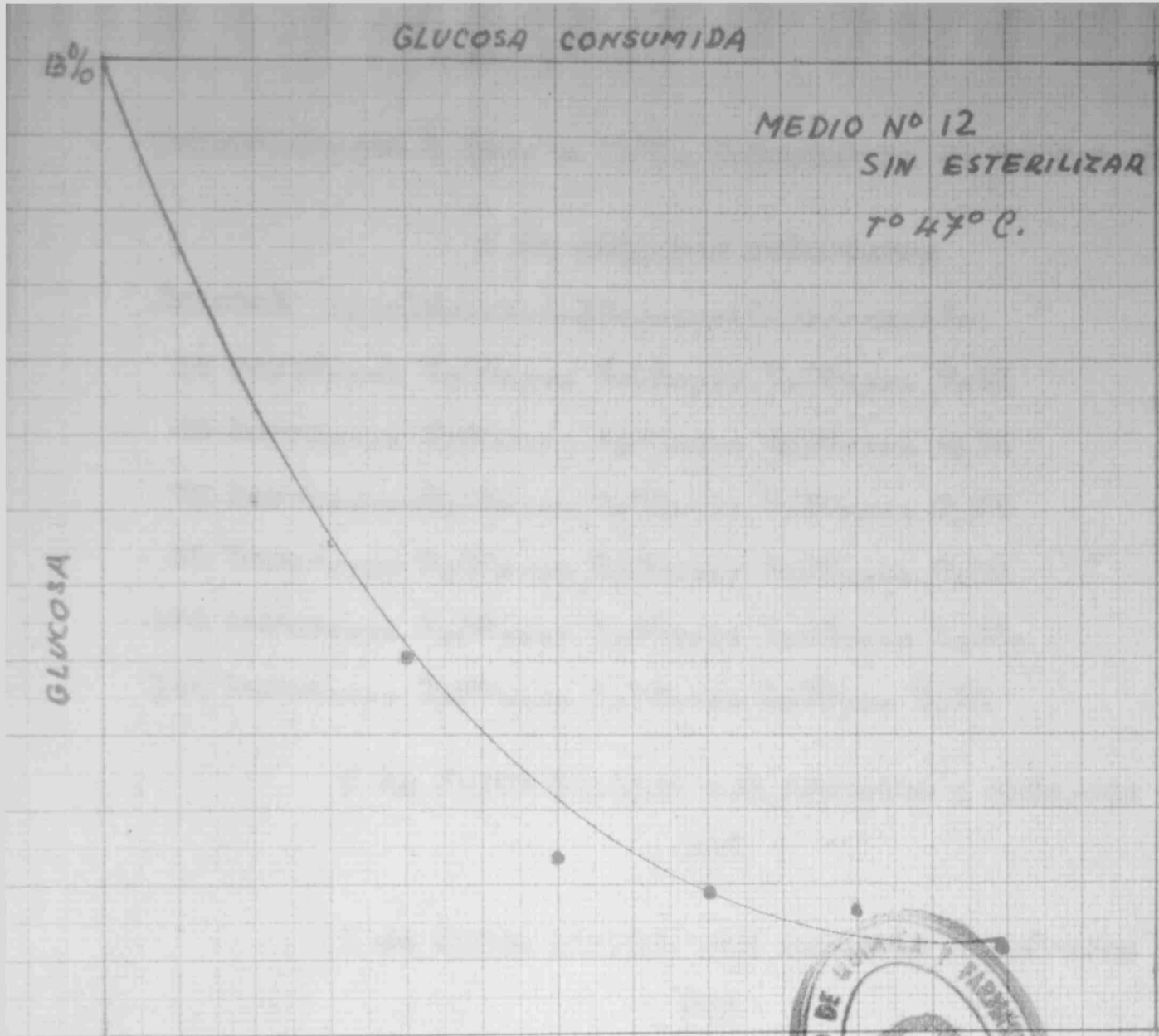
24 horas45,30%
48 horas62,07%
72 horas82,30%
96 horas86,07%
120 horas91,23%

GLUCOSA CONSUMIDA

MEDIO N° 12
SIN ESTERILIZAR
7° 47° C.

GLUCOSA

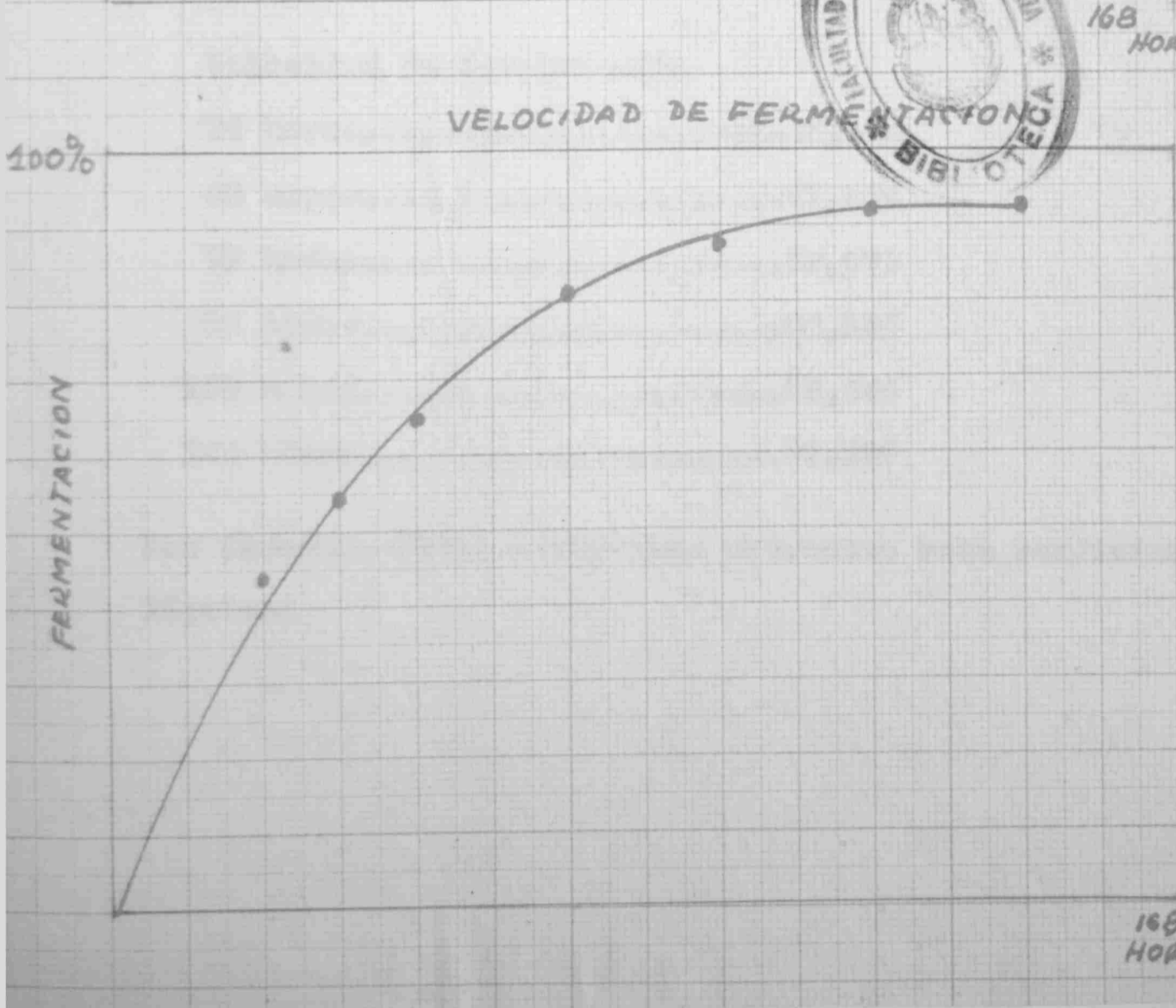
B%



VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

FERMENTACION



168 HORAS

168 HORAS

Medio N° 12

Esterilizando 1 hora a 70°C. Temperatura de la fermentación 47°C. pH 5,6

	% de azúcares reductores				Promedio	Acido
Inicial13.....13.....13.....13.....		
24 horas 7,30.... 7,04.... 7,00.... 7,03	7,09	lático
48 horas 5,00.... 4,98.... 4,90.... 4,75	4,90	
72 horas 2,43.... 2,31.... 2,30.... 2,31	2,33	
96 horas 2,33.... 2,33.... 2,02.... 2,00	2,19	
120 horas 1,82.... 1,84.... 1,84.... 1,86.	1,84	
144 horas 1,20.... 1,14.... 1,15.... 1,12	1,17	

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales **11,44%**
 88%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados
 96%

Velocidad de fermentación

24 horas45,46%
48 horas61,53%
72 horas82,07%
96 horas83,15%
120 horas85,84%
144 horas91,15%

Las fermentaciones anteriores presentan buen rendimiento en ácido láctico.

CONSUMO DE GLUCOSA

MEDIO N° 12
ESTERILIZADO
T° 47° C.

13%

GLUCOSA



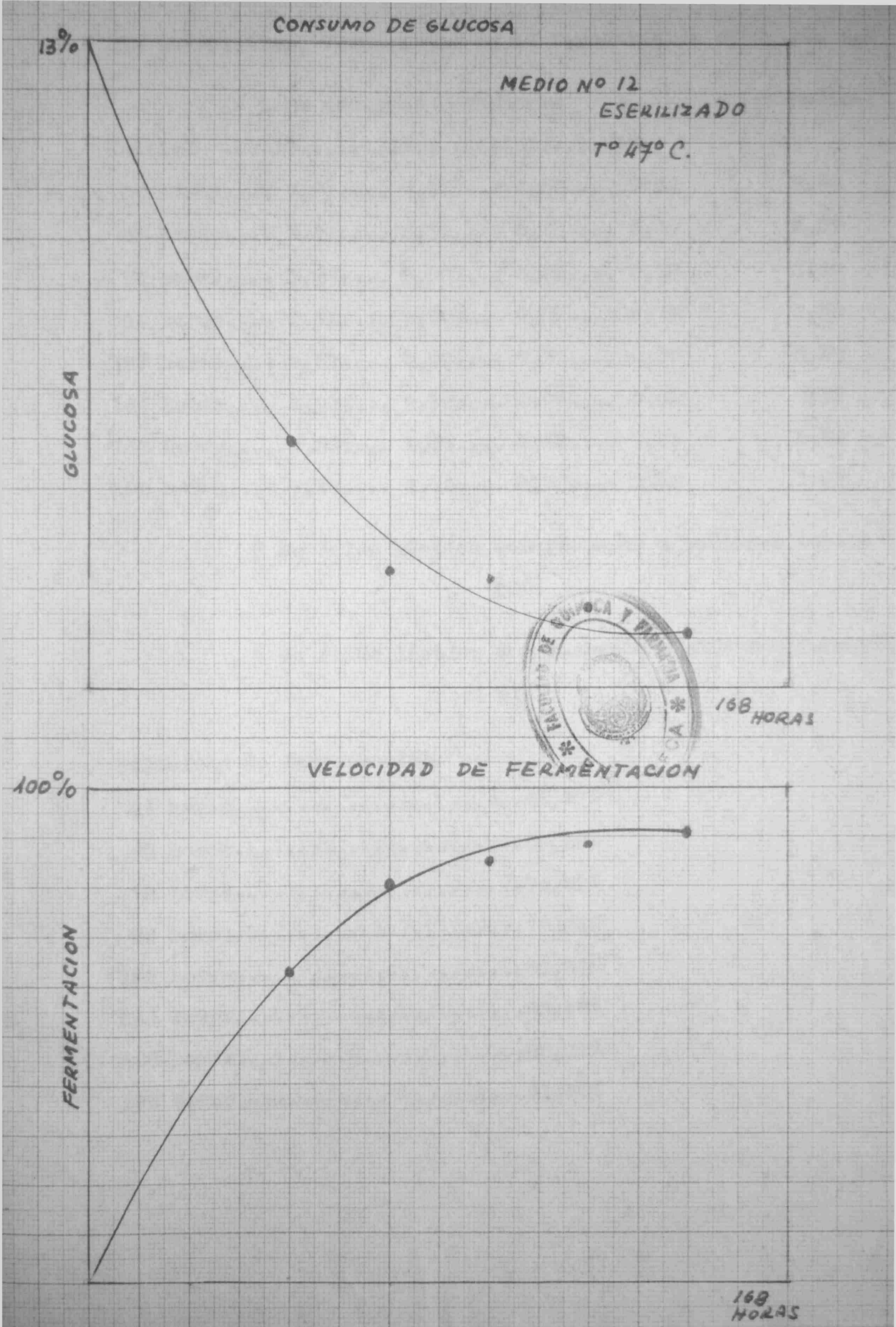
168 HORAS

VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

FERMENTACION

168 HORAS



Medio N° 13

Sin esterilizar. Temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

% de azúcares reductores					Promedio	Acido
Inicial13131313	13	
24 horas 7,91 7,61 7,52 7,62	7,66	Láctico
48 horas 5,00 5,10 5,00 5,00	5,07	
72 horas 3,27 3,22 3,40 3,33	3,30	
96 horas 2,71 2,75 2,79 2,77	2,75	
120 horas 2,31 2,23 2,31 2,37	2,30	
144 horas 2,02 2,00 1,99 2,02	2,12	
168 horas 1,58 1,51 1,52 1,55	1,54	
192 horas 1,14 1,15 1,23 1,18	1,17	
						11,44%

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

88%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

97%

Velocidad de fermentación

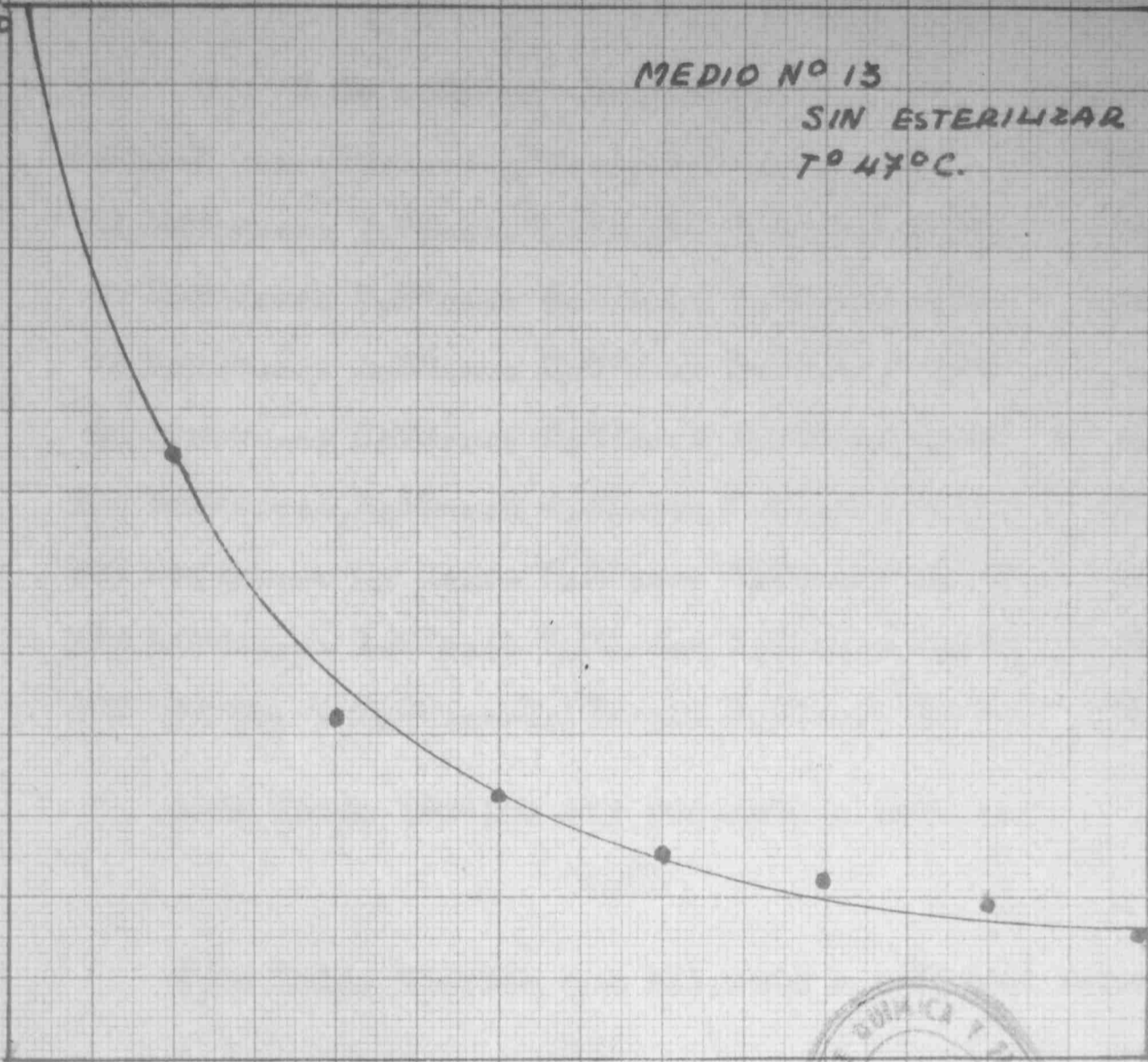
24 horas41,07%
48 horas53,30%
72 horas74,61%
96 horas78,84%
120 horas82,30%
144 horas83,69%
168 horas88,12%
192 horas91,00%

CONSUMO DE GLUCOSA

MEDIO N° 13
SIN ESTERILIZAR
7° 47° C.

10%

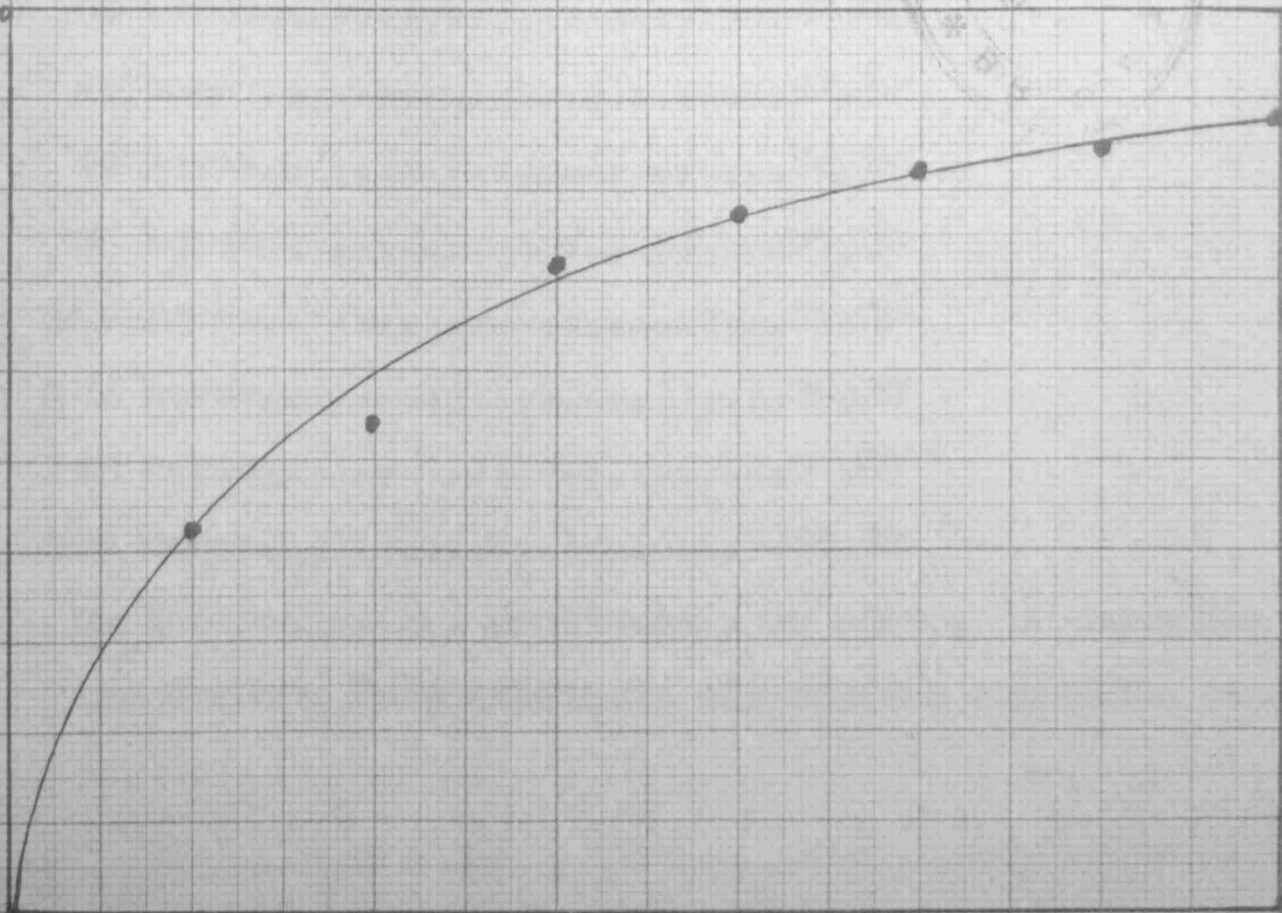
GLUCOSA



VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

FERMENTACION



168 HORAS

168 HORAS



Medio N° 13

Esterilizando 1 hora a 70°C. Temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

%					Promedio	Ácido láctico
de azúcares reductores						
Inicial13.....	13.....	13.....	13.....	13	
24 horas 7,91....	7,43....	7,51....	7,90	7,68	
48 horas 5,27....	5,50....	5,58....	5,93	5,59	
72 horas 3,39....	3,27....	3,30....	3,51	3,36	
96 horas 2,79....	2,87....	2,87....	2,96	2,87	
120 horas 2,63....	2,31....	2,31....	2,62	2,46	
144 horas 2,02....	2,30....	2,30....	2,40	2,20	
168 horas 1,62....	1,59....	1,49....	1,53	1,55	
192 horas 1,20....	1,21....	1,21....	1,23	1,21	

10,00%

% de ácido láctico con respecto a azúcares

84,5%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

93%

Velocidad de fermentación

24 horas40,91
48 horas57,00
72 horas74,15
96 horas77,92
120 horas31,07
144 horas32,30
168 horas33,07
192 horas30,69

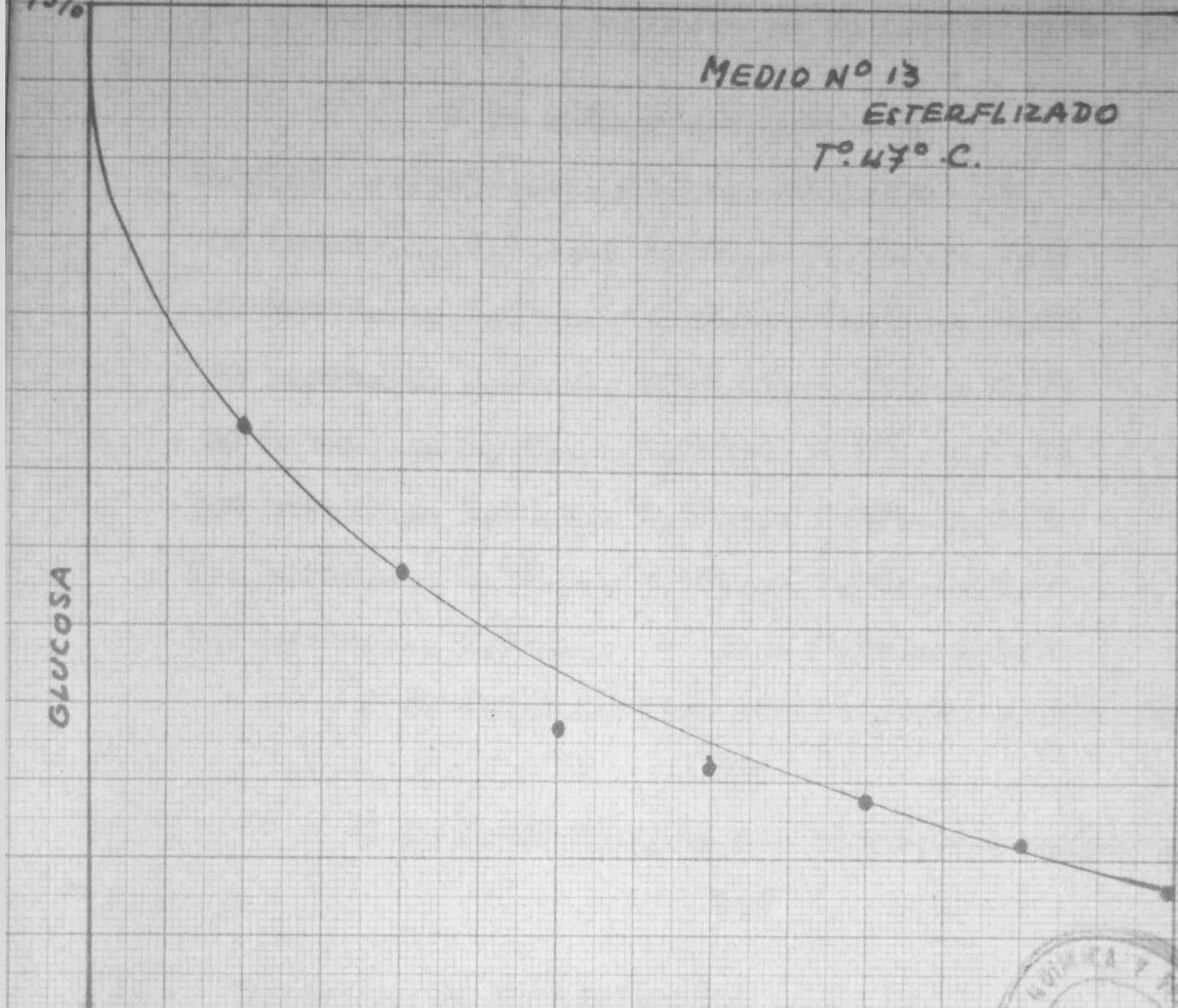
En los medios que contienen corn steep, la concentración del 2% es la que produce fermentaciones más rápidas con altos rendimientos.

CONSUMO DE GLUCOSA

MEDIO N° 13
ESTERFLIZADO
T° 47° C.

13%

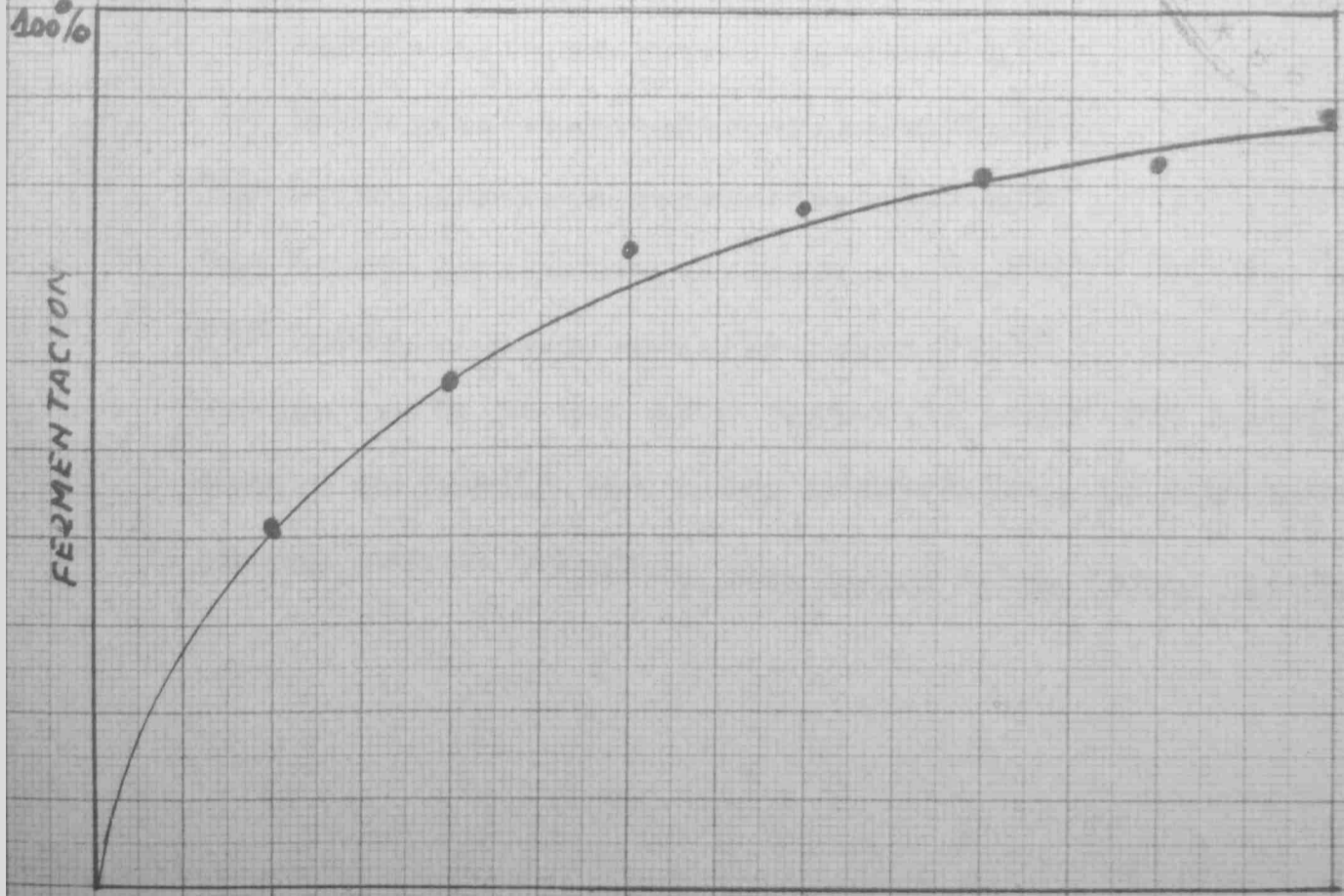
GLUCOSA



VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

FERMENTACION



168
HORAS

Medio N° 14

Sin esterilizar. Temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

% de azúcares reductores					Promedio	Acido
Inicial13.....13.....13.....13.....	13	
24 horas 7,91.... 7,88.... 7,91.... 7,91....	7,90	Láctico
48 horas 5,00.... 4,78.... 5,00.... 4,52....	4,81	
72 horas 2,96.... 2,79.... 2,65.... 2,71....	2,77	
96 horas 2,02.... 1,90.... 1,82.... 1,93....	1,91	
120 horas 1,53.... 1,37.... 1,37.... 1,38....	1,41	
144 horas 1,12.... 1,05.... 1,04.... 1,04....	1,06	
168 horas 0,95....	- 0,94.... 0,95....	0,71	

11,83%

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

91%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

96%

Velocidad de fermentación

24 horas39,25
48 horas63,00
72 horas73,76
96 horas85,30
120 horas89,15
144 horas91,84
168 horas94,53

En este medio se usa como sustancia nutritiva cebada germinada sin testar en mezcla con sales amoniacales. La fermentaciones se realizan en una semana con altos rendimientos de ácido láctico.

GLUCOSA CONSUMIDA

MEDIO Nº 14
SIN ESSENCIALIZAR
70 470 C.

13%

GLUCOSA

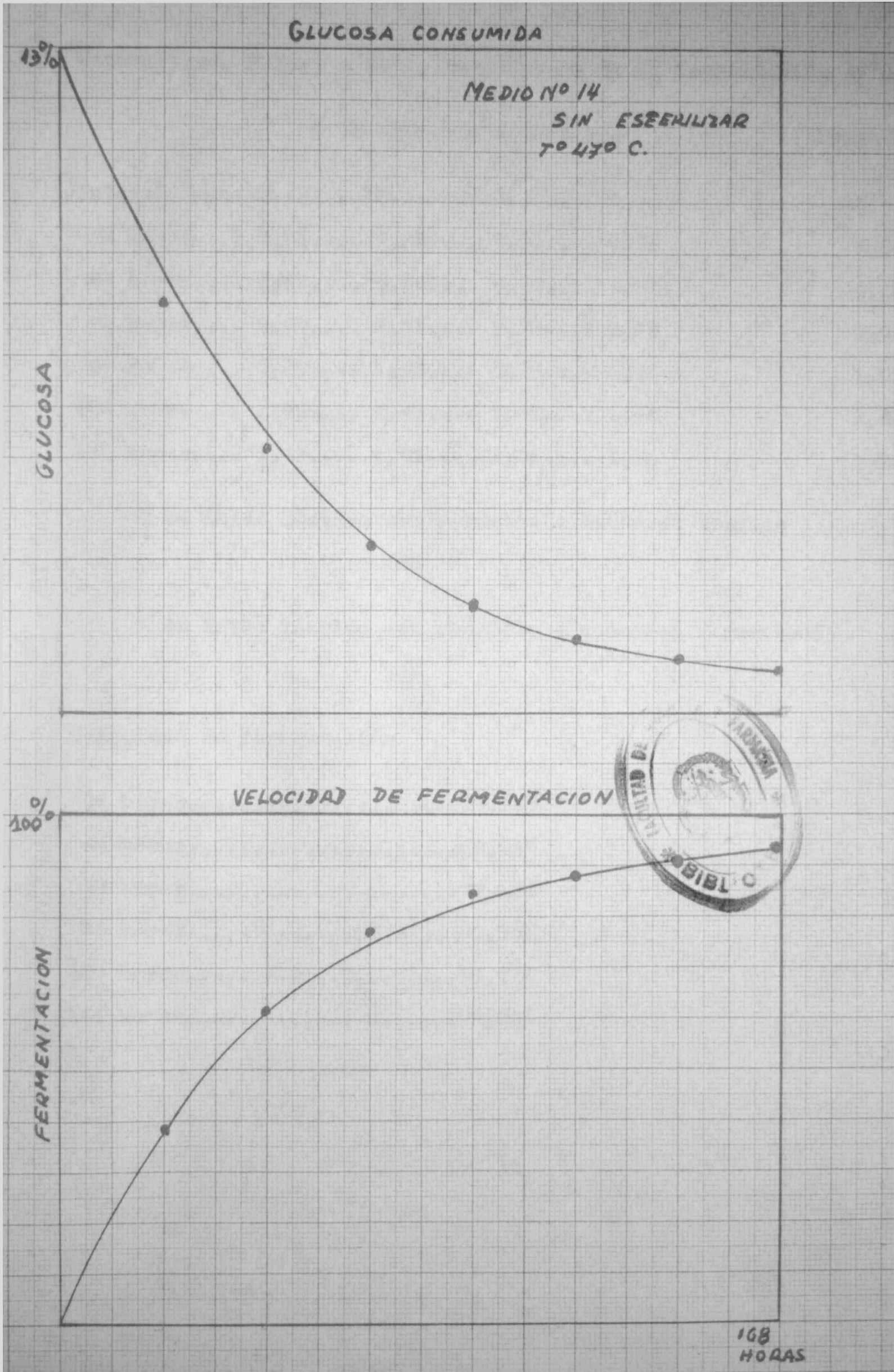
100%

VELOCIDAD DE FERMENTACION

FERMENTACION



168
HORAS



Medio N° 14

Esterilizado 1 hora a 70°C. Temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

	% de azúcares reductores				Promedio	ácido láctico
Inicial13.....13.....13.....13.....	13	
24 horas 7,91.... 7,65.... 7,91.... 7,91	7,84	
48 horas 5,27.... 5,30.... 4,52.... 4,31	4,30	
72 horas 2,87.... 2,71.... 2,71.... 2,63	2,73	
96 horas 1,97.... 1,93.... 1,92.... 1,90	1,93	
120 horas 1,50.... 1,48.... 1,48.... 1,46	1,48	
144 horas 1,11.... 1,02.... 1,03.... 1,02	1,04	11,05%

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

85%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

93%

Velocidad de fermentación

24 horas39,69%
48 horas60,00%
72 horas79,00%
96 horas85,15%
120 horas88,61%
144 horas92,00%

CONSUMO DE GLUCOSA

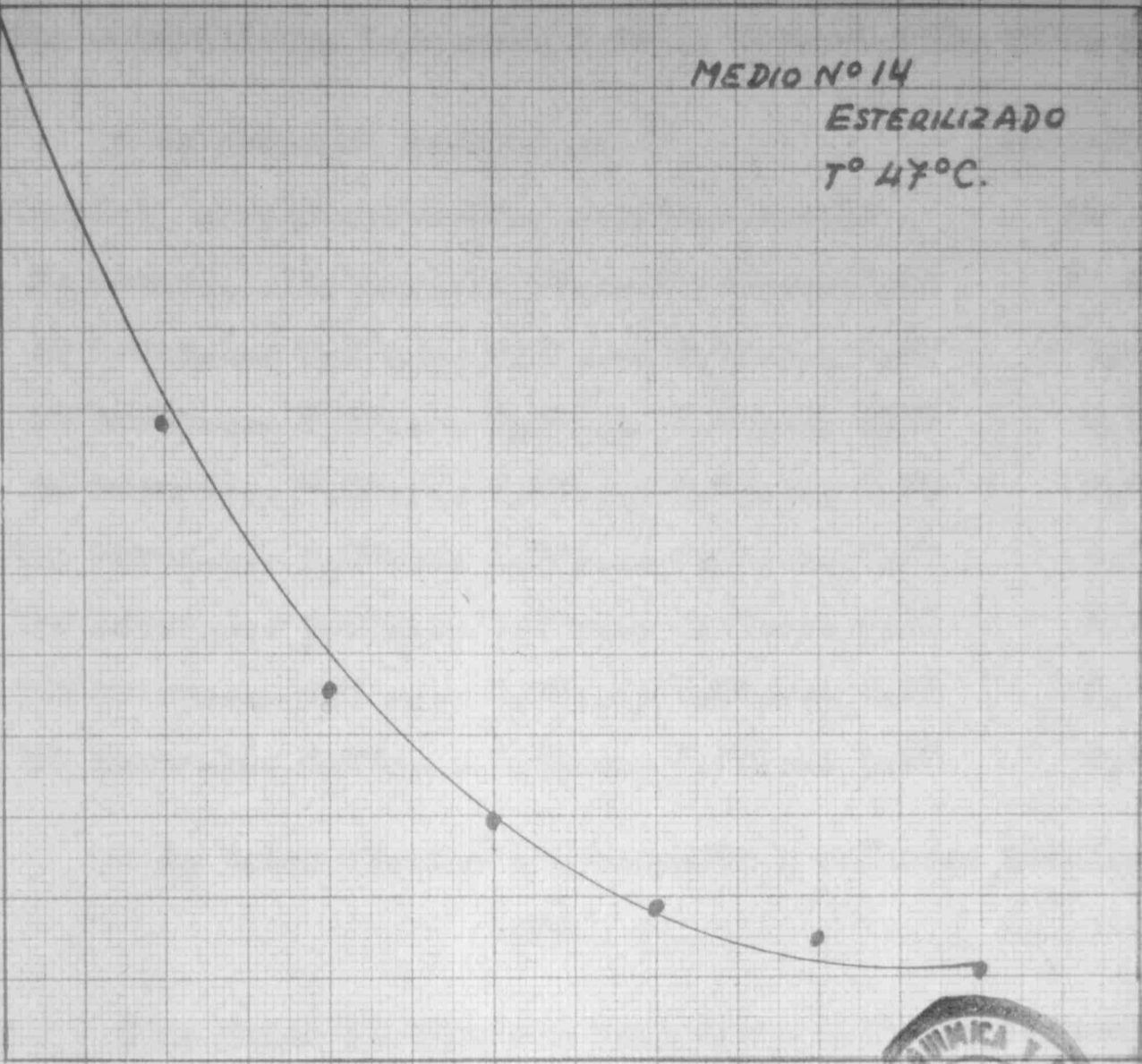
13%

MEDIO N° 14

ESTERILIZADO

T° 47°C.

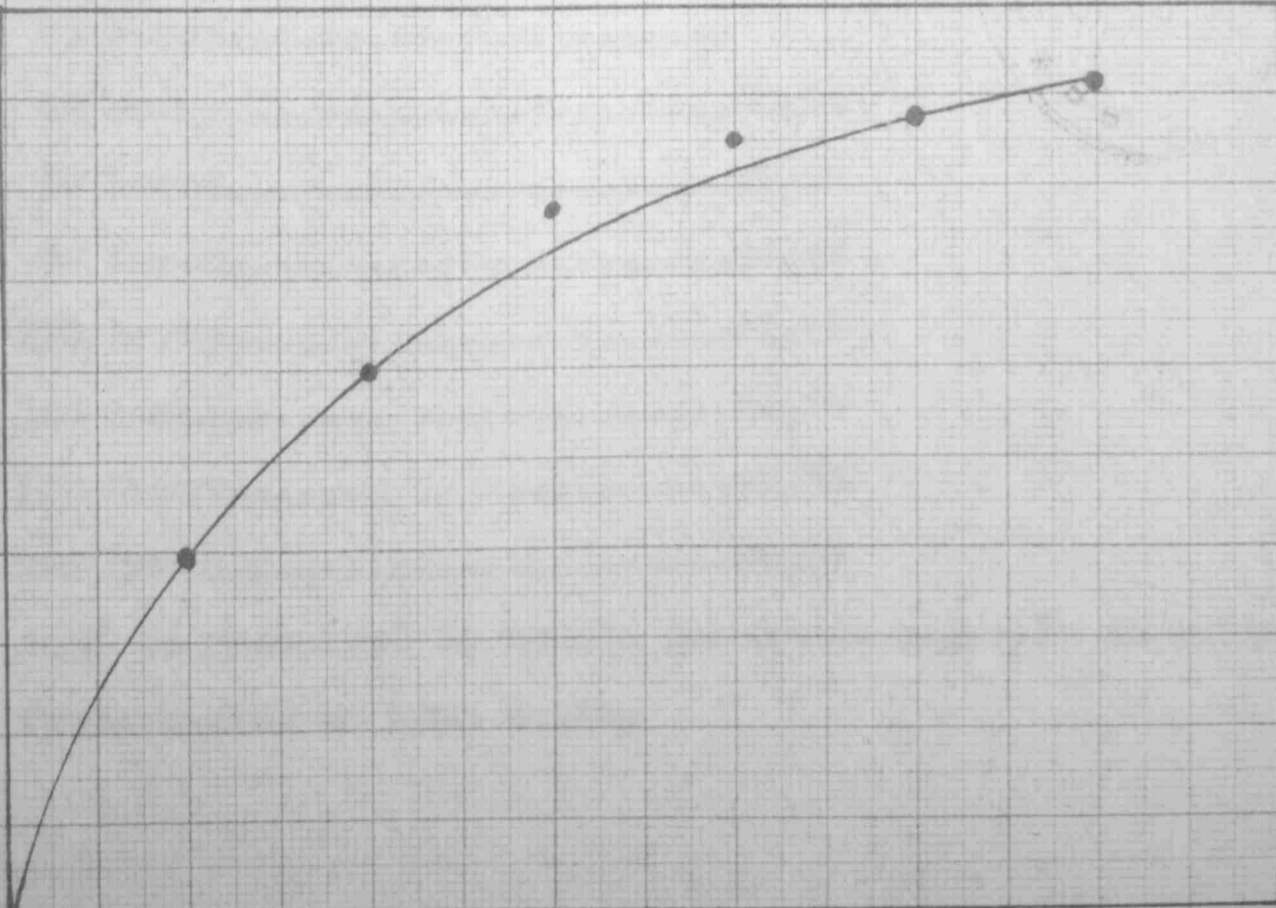
GLUCOSA



VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

FERMENTACION



168
HORAS



Medio N° 15

Sin esterilizar. Temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

% de azúcares reductores				Promedio	Acido láctico
Inicial13.....13.....13.....	13	
24 horas11,50.....11,70.....11,60.....	11,60	
48 horas9,50.....9,61.....9,70.....	9,63	
72 horas9,10.....9,21.....9,31.....	9,19	
96 horas7,00.....7,01.....7,02.....	7,03	
120 horas6,30.....6,72.....6,30.....	6,63	
144 horas6,00.....5,95.....6,40.....	6,10	
168 horas4,5.....5,95.....6,30.....	5,95	
192 horas4,20.....4,41.....5,50.....	4,90	6,57%

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

49%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

76%

Velocidad de fermentación

24 horas
48 horas25,92
72 horas29,23
96 horas43,46
120 horas45,50
144 horas46,33
168 horas47,55
192 horas50,36

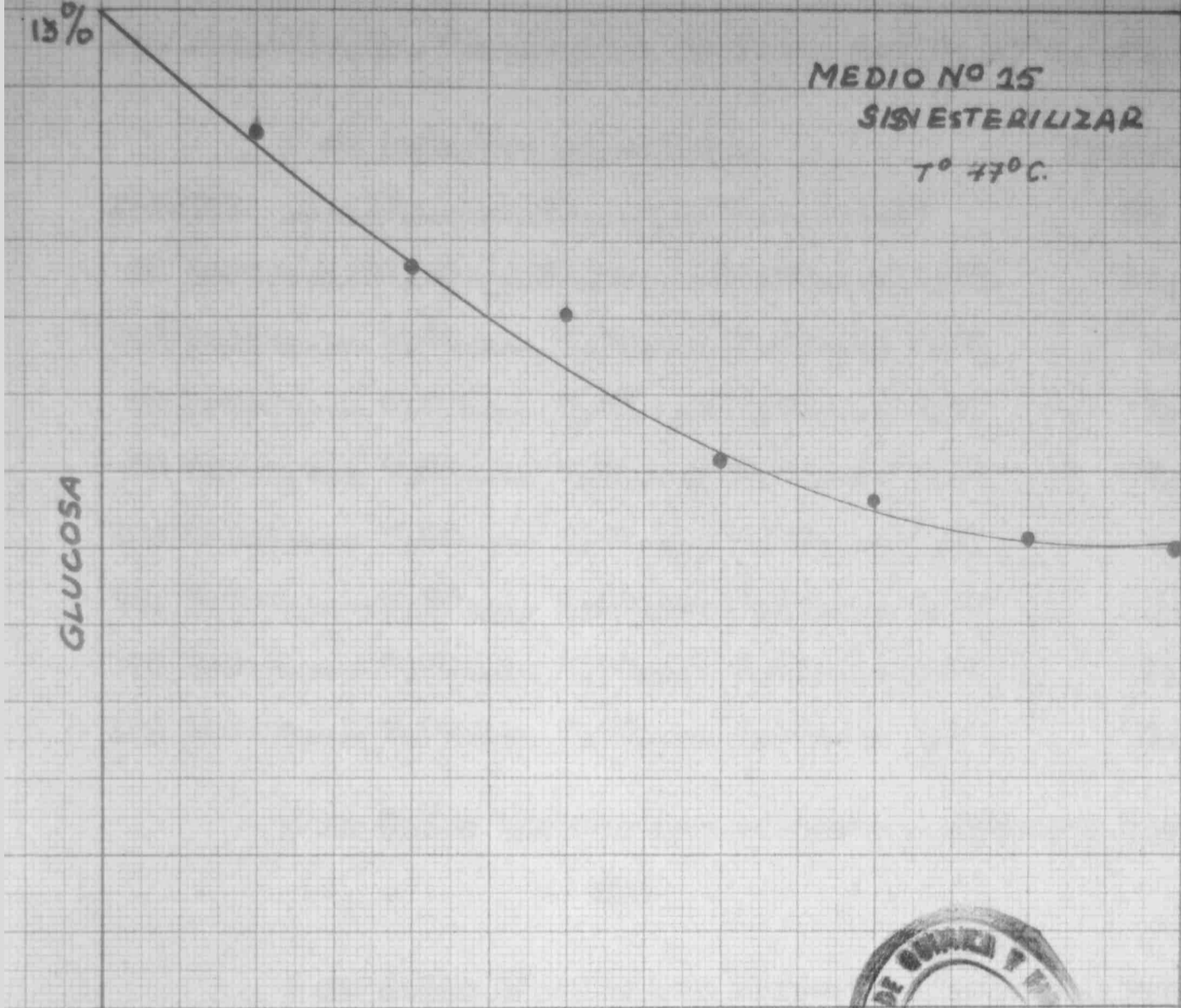
Aquí se reemplazó la cebada germinada por raíz de malta, pero la fermentación no tuvo éxito.

CONSUMO DE GLUCOSA

13%

MEDIO Nº 15
SISI ESTERILIZAR
Tº 47º C.

GLUCOSA

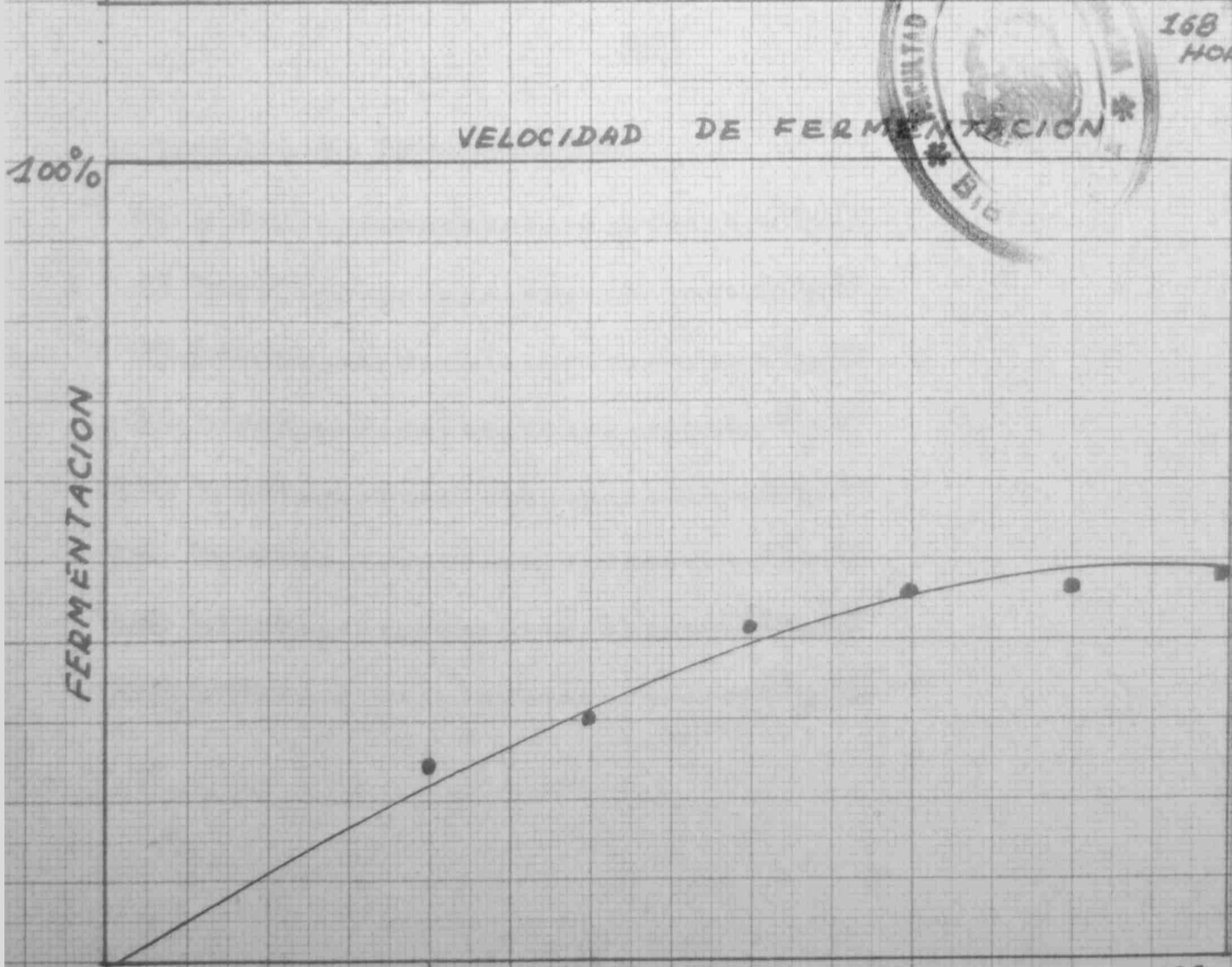


VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

168 HORAS

FERMENTACION



168 HORAS



Medio N° 16

Sin esterilizar. Temperatura de fermentación 47°C. pH. 5,6

% de azúcares reductores					Promedio	Acido
Inicial13131313	13	Láctico
24 horas11,6011,6011,2511,65	11,57	
48 horas 9,60 9,75 9,80 9,50	9,65	
72 horas 9,00 9,30 9,00 9,61	9,04	
96 horas 7,80 7,51 7,60 7,20	7,37	
120 horas 6,90 6,91 6,97 6,90	6,92	
144 horas6,50 6,50 6,43 6,60	6,52	
168 horas 6,00 5,90 5,91 5,95	5,94	
192 horas 5,50 5,60 5,60 5,60	5,62	

6,63%

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

51%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

89%

Velocidad de fermentación

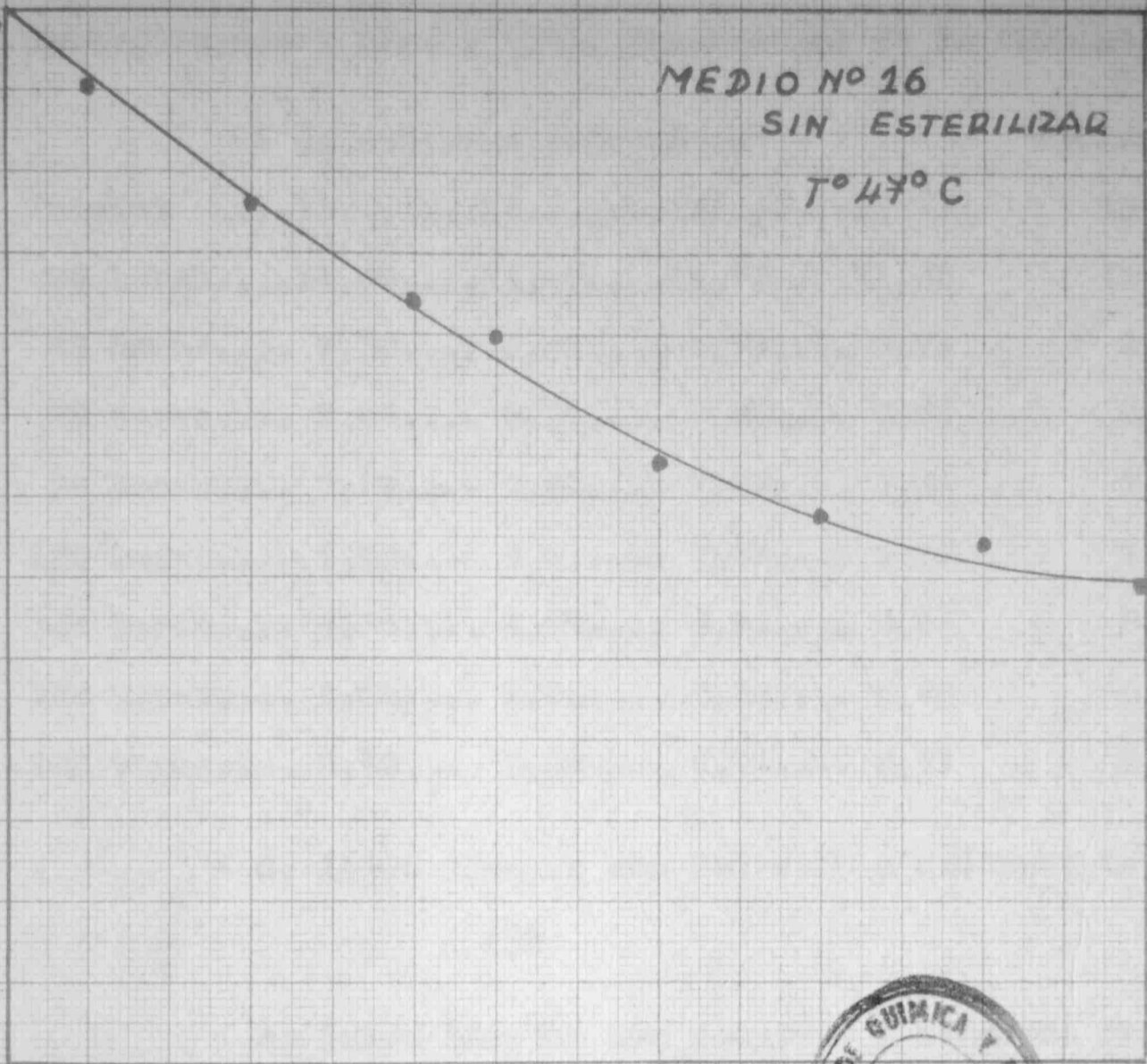
24 horas9,61
48 horas25,76
72 horas30,40
96 horas43,40
120 horas46,76
144 horas49,84
168 horas54,30
192 horas56,00

CONSUMO DE GLUCOSA

13%

MEDIO N° 16
SIN ESTERILIZAR
T° 47° C

GLUCOSA

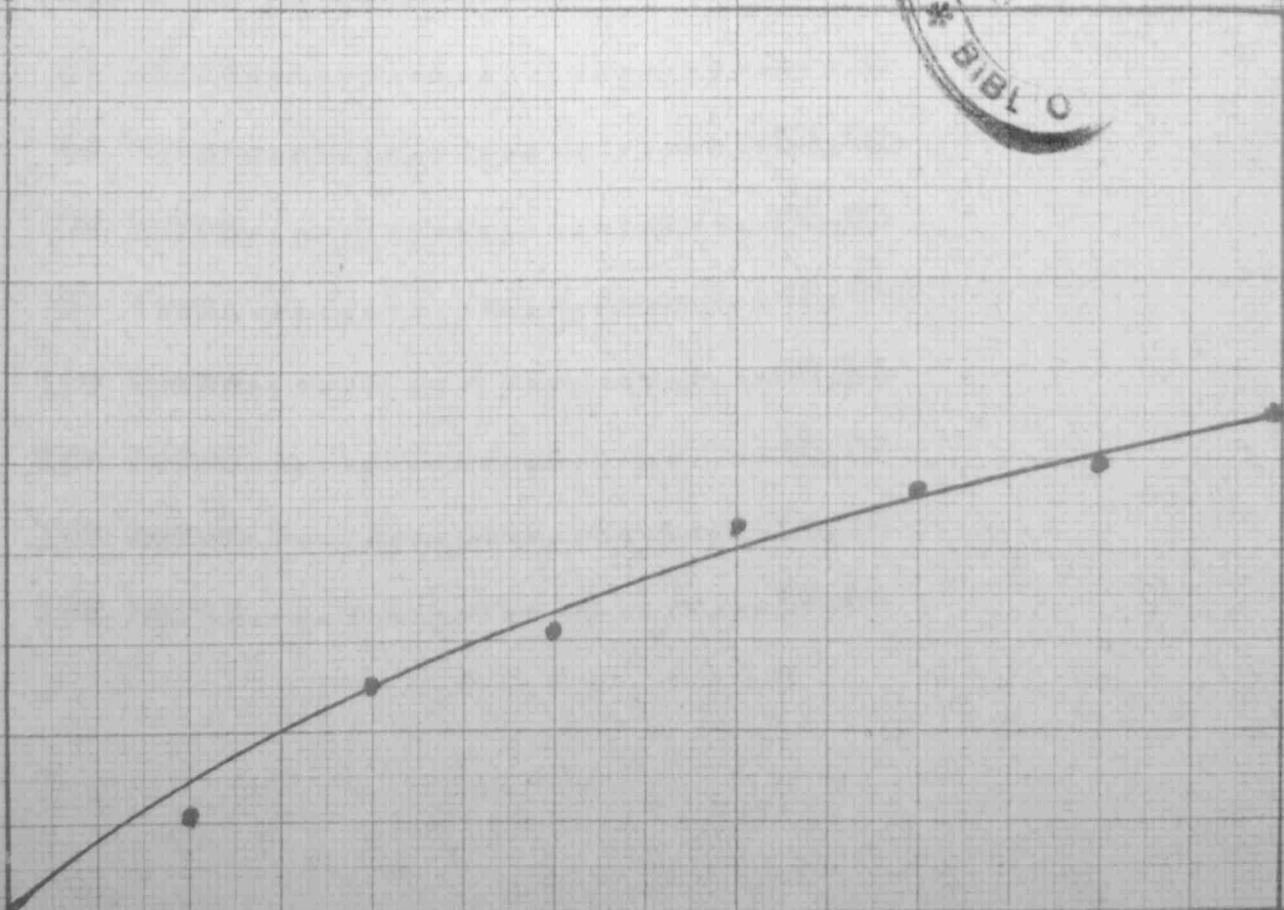


VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

168 HORAS

FERMENTACION



168 HORAS



Medio N° 16

Esterilizando 1 hora a 70°C. Temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

% de azúcares reductores					Promedio	Acido
Inicial13131313	13	lático
24 horas11,6011,9011,7011,65	11,68	
48 horas 9,50 9,61 9,72 9,71	9,63	
72 horas 9,00 9,21 9,31 9,30	9,20	
96 horas 7,50 7,31 7,30 7,31	7,35	
120 horas 7,00 6,91 7,20 6,89	7,00	
144 horas 6,80 6,72 6,90 6,65	6,76	
168 horas 6,00 5,95 6,30 6,00	6,06	
192 horas 5,50 5,51 6,00 5,71	5,69	

6,10%

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

49%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

86%

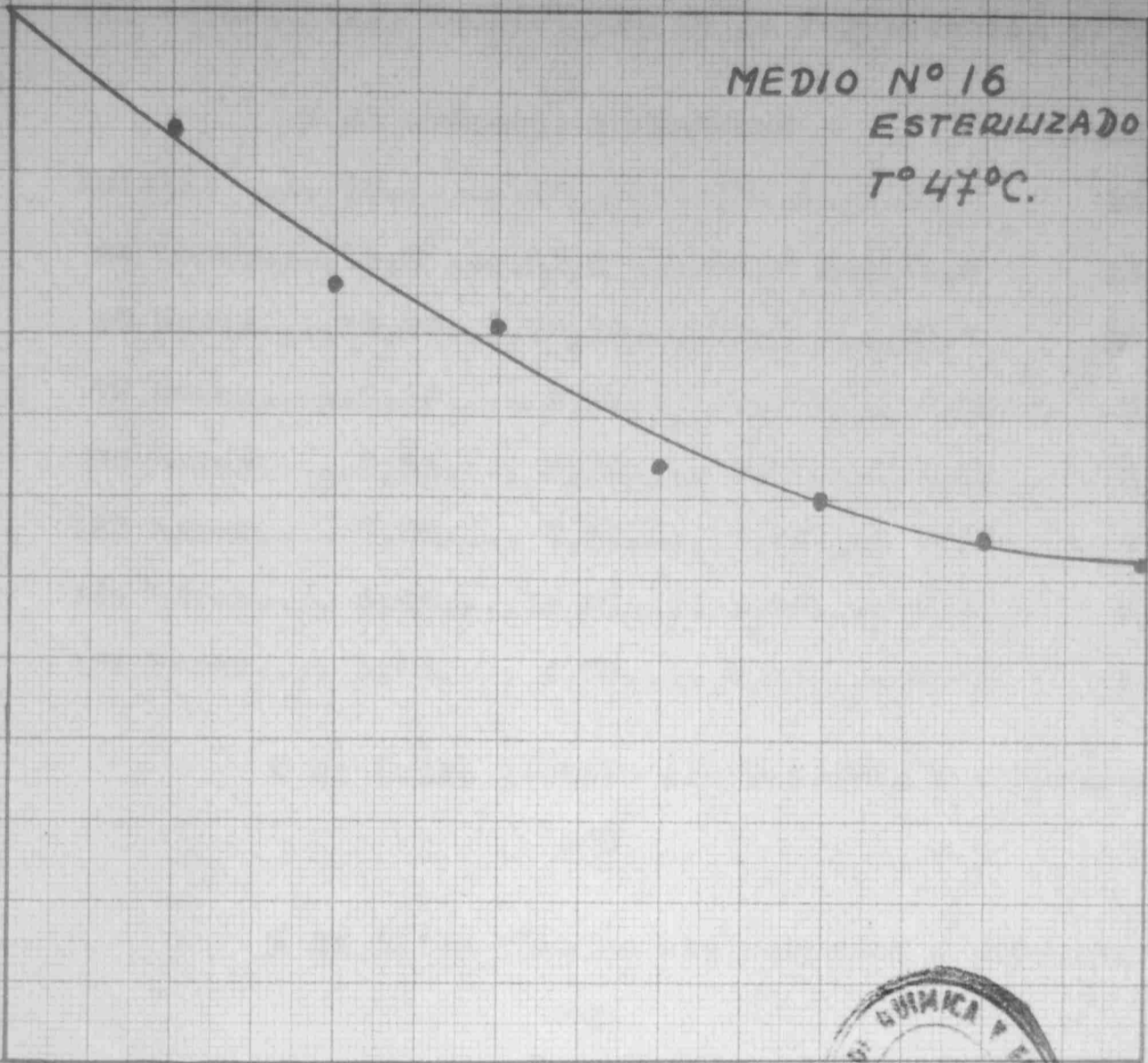
Velocidad de fermentación

24 horas20,15
48 horas25,92
72 horas29,23
96 horas43,46
120 horas46,15
144 horas46,38
168 horas53,38
192 horas56,07

CONSUMO DE GLUCOSA

MEDIO N° 16
ESTERILIZADO
T° 47°C.

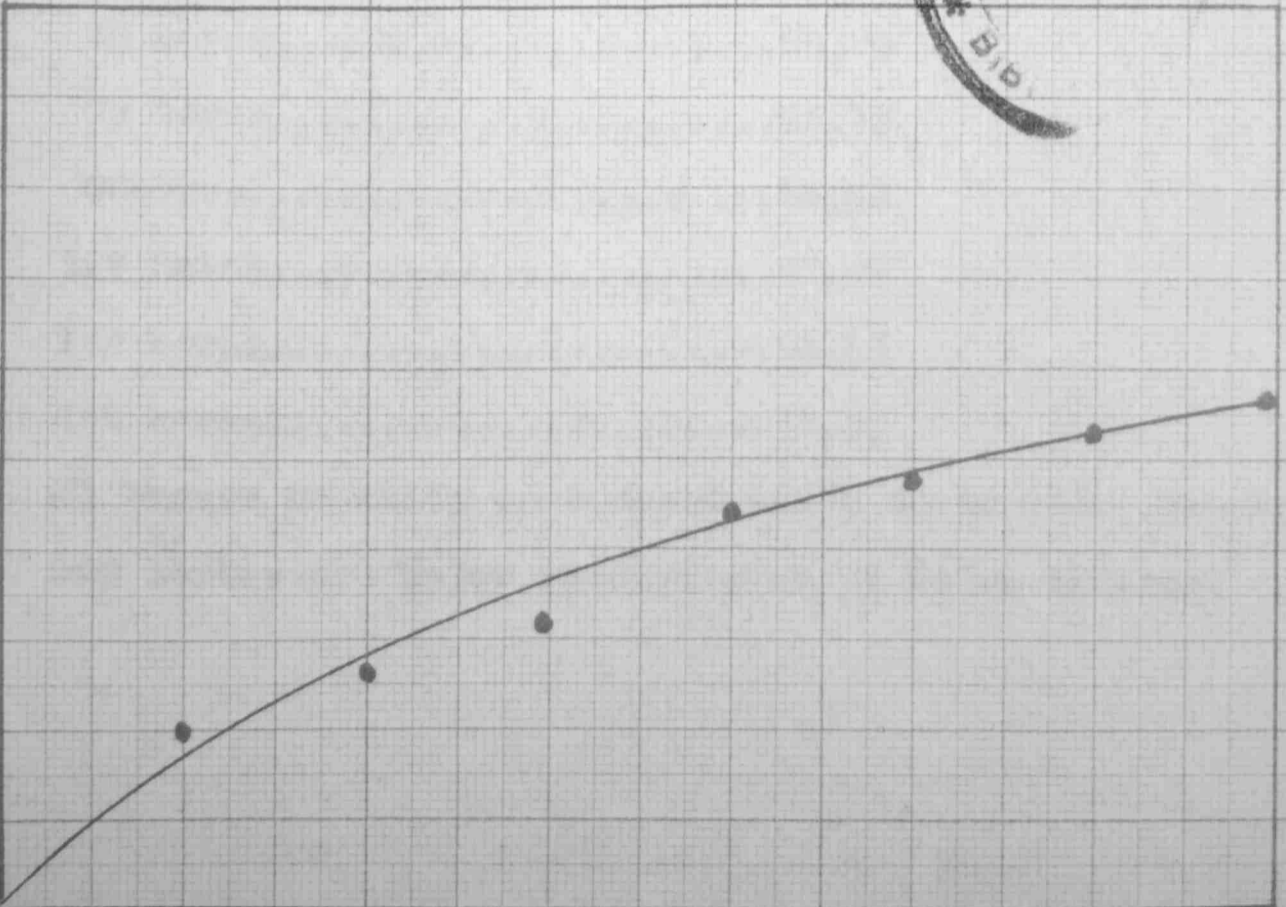
GLUCOSA



VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

FERMENTACION



268 HORAS

268 HORAS

Medio N° 17

Sin esterilizar. Temperatura de la fermentación 47°C. pH. 5,6

% de azúcares reductores				Promedio	
Inicial13.....	13.....	13.....	13	Acido
24 horas11,4	11,2	11,3	11,63	lático
48 horas19,90.....	19,10.....	19,5	10,30	
72 horas9,50.....	9,61.....	9,71.....	9,73	
96 horas8,81.....	8,82.....	8,90.....	8,78	
120 horas7,50.....	7,31.....	7,30.....	7,35	
144 horas6,90.....	15,91.....	5,92.....	5,96	
168 horas5,91.....	4,90.....	4,28.....	4,90	494

6,78%

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

52%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

84%

Velocidad de fermentación

24 horas10,70
48 horas20,70
72 horas25,92
96 horas33,23
120 horas43,46
144 horas54,15
168 horas62,30

El bagazo de malta en concentración 4% también produce fermentaciones muy lentas con bajos rendimientos de ácido láctico.

CONSUMO DE GLUCOSA

MEDIO N° 17
SIN ESTERILIZAR
T. 47°C

13%

GLUCOSA



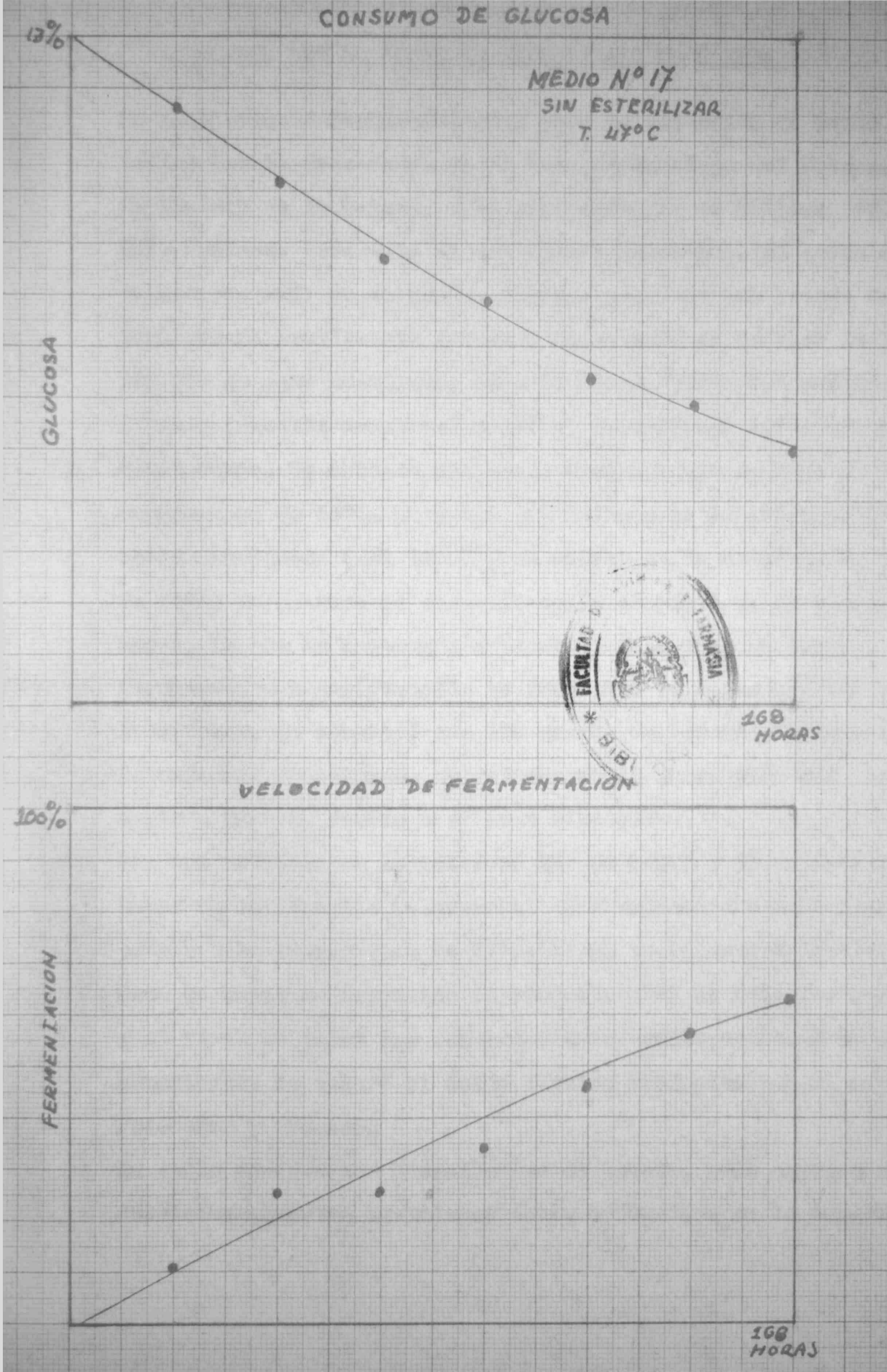
168 HORAS

VELOCIDAD DE FERMENTACION

100%

FERMENTACION

168 HORAS



CAPITULO IX

ENSAYOS CON UN MEDIO DE HIDROLIZADO DE BATATA

Se realizaron 4 fermentaciones, para la obtención de ácido láctico usando batata procedente de la Pcia de Santiago del Estero.

El almidón de la batata, debe transformarse en maltosa (43) por medio de la amilasa. Para ello se usa cebada germinada. El medio a fermentar se prepara así: se cortan en trozos pequeños 100 gramos de batata con cascara previamente lavada y se colocan en un vaso de ppde con 200 ml. de agua destilada, se calienta a ebullición aproximadamente 2 horas (cocción completa) en estas condiciones la batata se desmenuza totalmente. Se obtiene así una suspensión que se deja enfriar a la temperatura de 55°C. En estas condiciones se le adiciona 10 gramos de cebada germinada (el 10%) y se coloca en la estufa a la temperatura de 55°C. Se produce la sacarificación completa en el tiempo de 6 a 7 horas, lo que se comprueba efectuando reacción con iodo.

Terminada la sacarificación se determinó la concentración en azúcares reductores. Se encontró que 100 gramos de batata contienen 15,5 gramos de azúcares reductores. El volumen de la suspensión fué necesario llevarlo a 200 ml. debido a su gran viscosidad.

Una vez enfriado se le adicionó 10% de CO_2C_2 y 5% de inóculo de 24 horas de lactobacilo *delbrueckii*. Los Erlenmeyers se colocaron en estufa a la temperatura de 47°C. El pH de la suspensión fué de 5,6. Cada 24 horas se determinó la concentración de azúcares reductores y al final de todas las fermentaciones realizadas como en ensayos anteriores, se valoró el ácido láctico producido por el método de Friedmann y Graeser.

En estos ensayos con hidrolizados de batata, no se agregan sustancias nutritivas, porque las mismas están contenidas en la cebada germinada.

Medio: hidrolizado de batata

Temperatura de fermentación 47°C. pH. 5,6

Los valores expresados se refieren a una solución que contiene 8,25%

	% de azúcares reductores	Procedio	Acido
Inicial	3,23.....3,25.....4,25.....6,35	3,25	Láctico
24 horas	3,10.....2,95.....3,15.....3,59	3,30	
48 horas	2,72.....1,90.....1,93.....1,97	2,12	
72 horas	1,60.....0,50.....0,45.....0,25	0,50	7,67%

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

93%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

93%

Velocidad de fermentación

24 horas	60,00%
48 horas	74,30%
72 horas	93,93%

La fermentación se realiza con gran velocidad, obteniéndose altos rendimientos en ácido láctico. El medio contiene sustancias nutritivas para que el lactobacilo se desarrolle rápidamente.

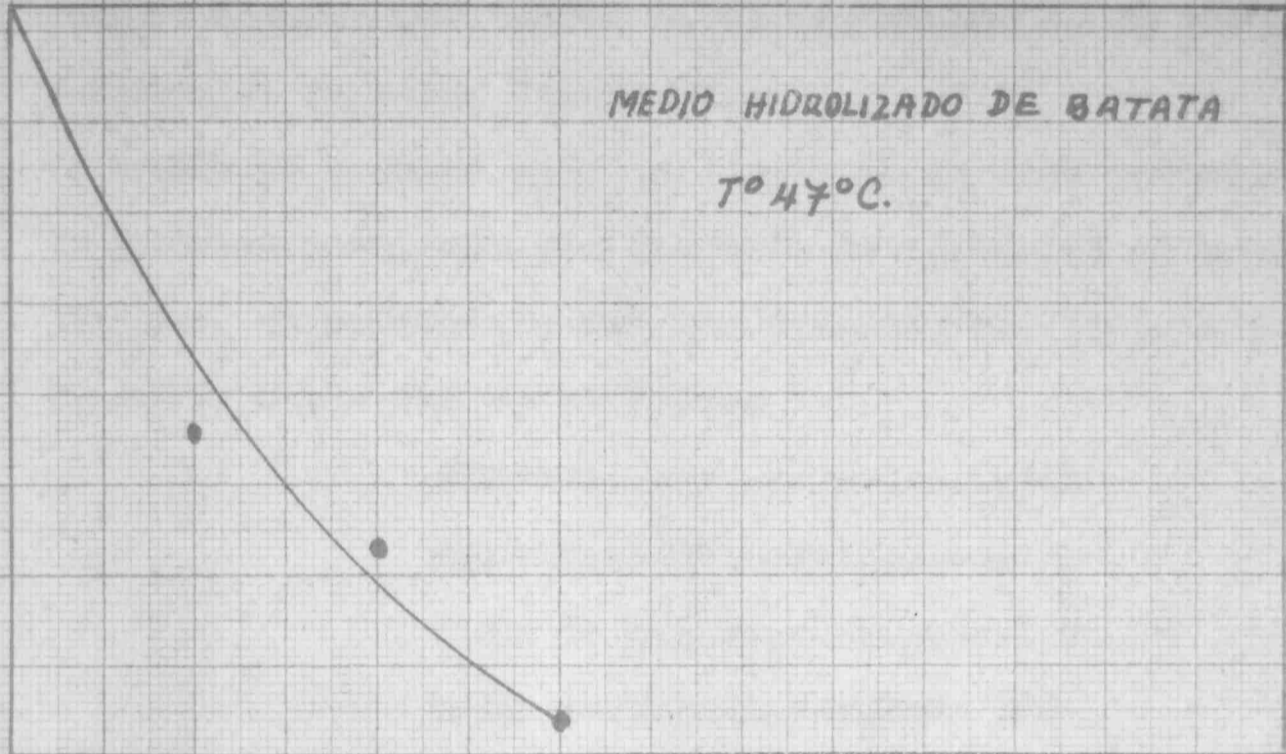
82.5%

CONSUMO DE GLUCOSA

MEDIO HIDROLIZADO DE BATATA

T° 47°C.

GLUCOSA

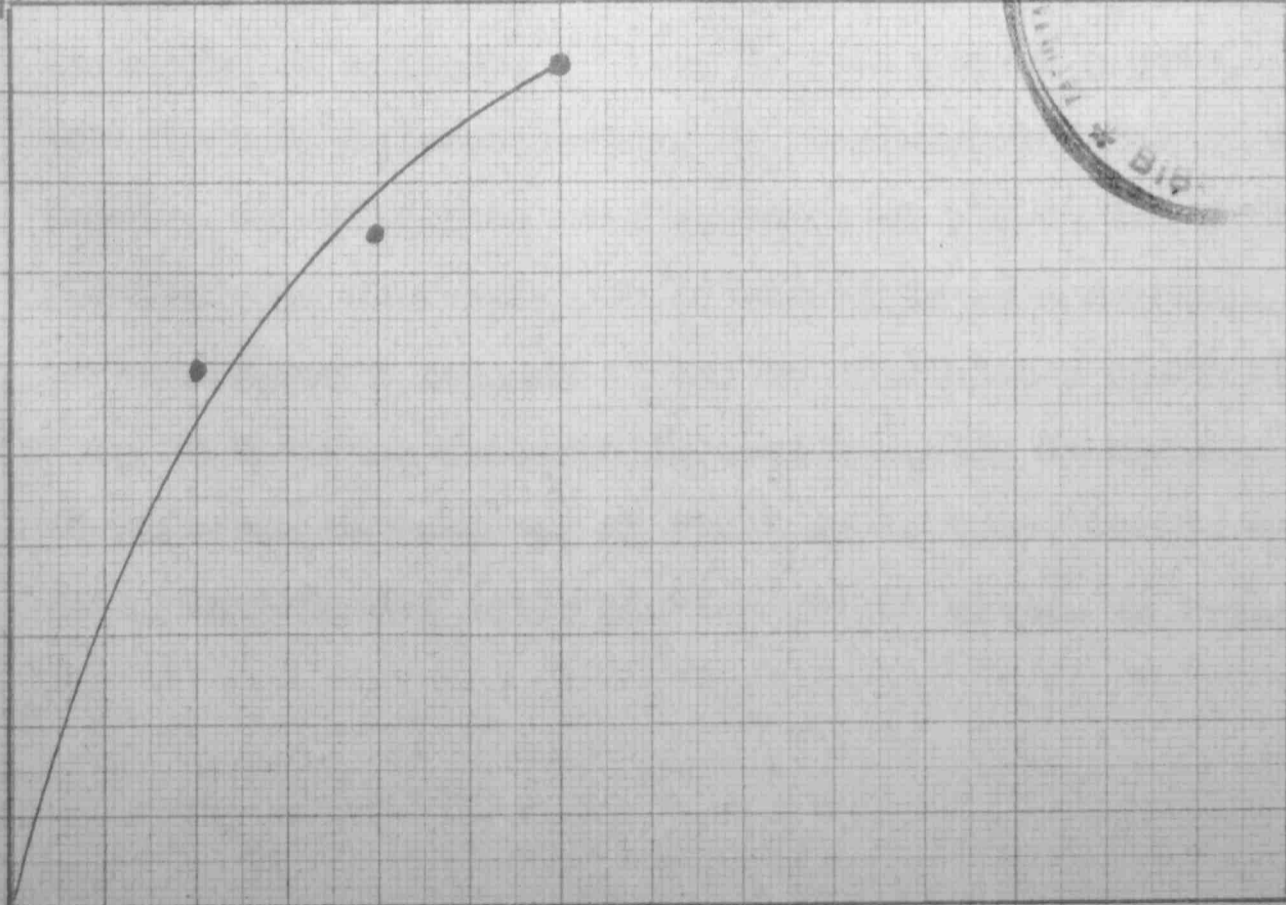


168 HORAS

100%

VELOCIDAD DE FERMENTACION

FERMENTACION



168 HORAS



74

CAPITULO X

ENSAYOS EN ESCALA DE PLANTA PILOTO

Siendo el medio que contiene 3% de raíz de malta, uno de los mejores en cuanto a velocidad de fermentación y rendimiento de ácido láctico además teniendo en cuenta su bajo costo, se usó esa concentración en varios ensayos realizados en un fermentador de 60 litros de capacidad construido en acero inoxidable.

El medio se preparó así: se disuelven en poco volumen de agua destilada la glucosa pura, una vez disuelta se agrega el carbonato de calcio extra liviano, se completa a volumen y se adiciona la raíz de malta. La cantidad de medio usada fué de 20 litros

Glucosa.....12%
carbonato de calcio..... 3%
raíz de malta.....3 %
agua destilada.c.s.para 100

Se lava el fermentador con agua corriente, luego con agua destilada y se calienta (el calentamiento se realiza por medio de serpentines con vapor) a ebullición, se descarga y se adiciona el medio a fermentar, se le agrega el inóculo de 24 horas en la proporción de 5%, se pone en marcha el agitador ^(400 r.p.m) y lleva la temperatura a 47°C. esta se mantiene durante toda la fermentación. La concentración del 3% de carbonato de calcio, es suficiente para mantener el pH, en los valores óptimos, 5,6 teniendo en cuenta que la agitación es constante.

Se realizaron 3 fermentaciones en condiciones similares.

Cada 24 horas se controló la concentración de glucosa, por valoración de azúcares reductores. Al final de la fermentación se practicó la determinación del ácido láctico por el método de Friedeman y Graeser

Resultados obtenidos

Temperatura de fermentación 47°C. pH. 5,6 . Sin esterilizar.

% de azúcares reductores	Promedio	Acido láctico
Inicial12.....12.....12		
24 horas.....10..... 9,22.....10,11	9,97	
48 horas..... 7,2..... 7,22..... 7,21	7,61	
72 horas..... 4,12..... 4,21..... 4,02	4,10	
96 horas..... 0,22..... 0,24..... 0,25	0,59	
		11,70%

% de ácido láctico con respecto a azúcares totales

90%

% de ácido láctico con respecto a azúcares fermentados

97%

Velocidad de fermentación

24 horas.....	25,33%
48 horas.....	33,60%
72 horas.....	65,55
96 horas.....	96,13

Como se puede comprobar las experiencias realizadas en el fermentador de acero inoxidable, sirven para corroborar la eficiencia de la raíz de malta en concentración del 3%, como lo indican los resultados obtenidos en el laboratorio.

CONSUMO DE GLUCOSA

12%

MEDIO - FERMENTADOR ACERO
INOXIDABLE
SIN ESTERILIZAR
T° 47° C.

GLUCOSA

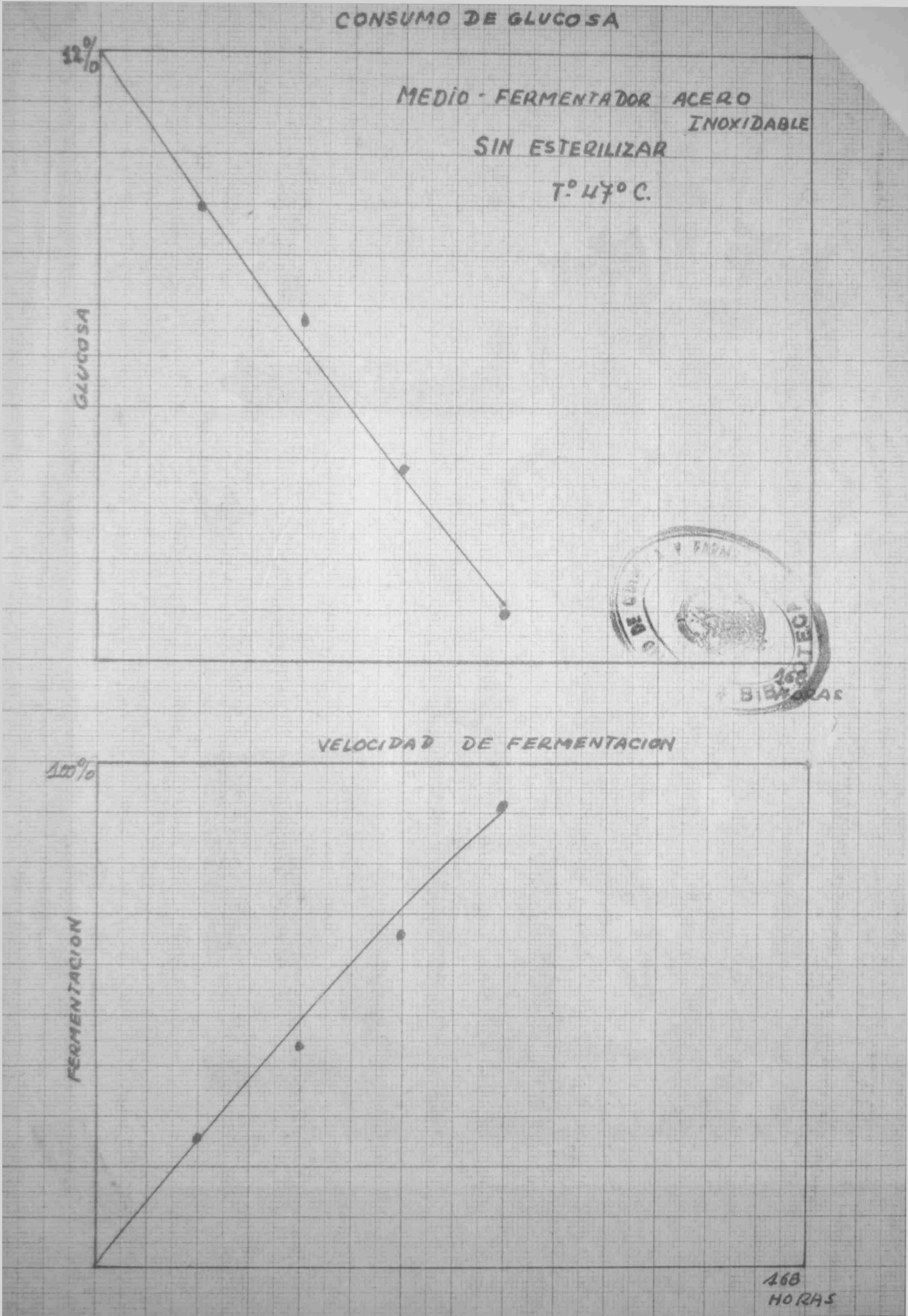


VELOCIDAD DE FERMENTACION

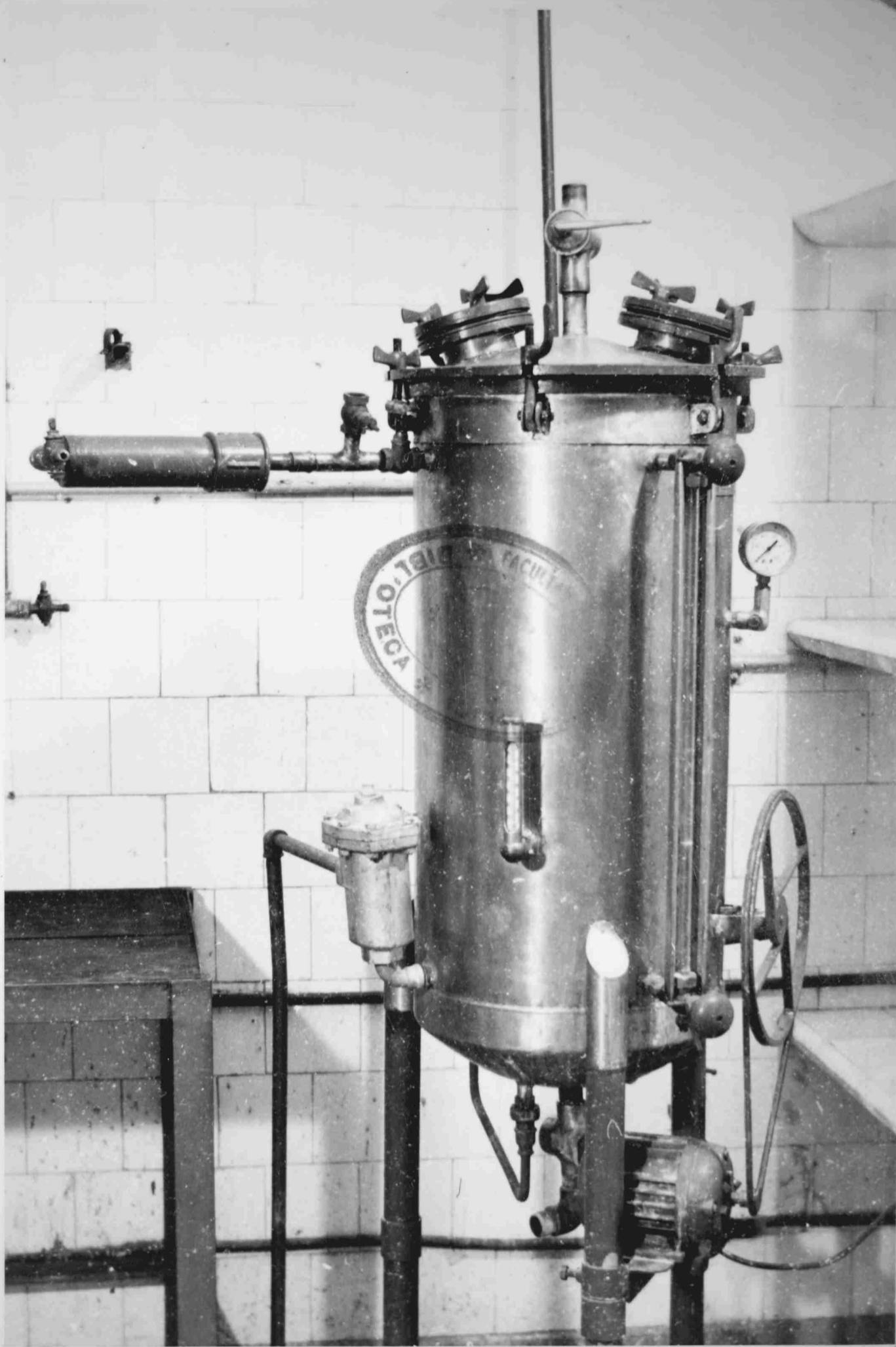
100%

FERMENTACION

468
HORAS



76



77

CAPITULO XI

CONCLUSIONES

1. Se realizaron una serie de fermentaciones utilizando como medio básico: glucosa 15%, carbonato de calcio 10%, con el agregado de las siguientes sustancias nutritivas: raíz de malta la 5%, líquido de maceración del maíz 0,5 a 3% y cebada germinada 0,375% más 0,25% de fosfato diamónico.

Los resultados obtenidos indican que en los medios que contienen raíz de malta en concentración del 3%, se observa la mayor velocidad de fermentación, el 90% en menos de 36 horas, con gran rendimiento de ácido láctico 90% con respecto a azúcares fermentados.

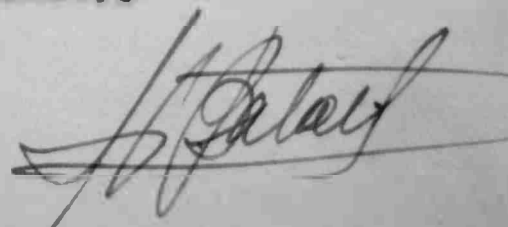
Los medios que contienen líquido de maceración de maíz dan resultados satisfactorios en la concentración del 2%, aunque algo inferior con a los medios con raíz de malta al 3%.

Los ensayos realizados con medios nutritivos que contiene cebada germinada y fosfato diamónico en la concentración indicada dan buenos resultados, (más del 90% en menos de 100 horas) pero siempre inferior a los valores de velocidad de fermentación que se observan en los que poseen raíz de malta 3%.

2. Las fermentaciones que se realizaron con medios sin esterilizar en todos los ensayos, se observa mayor velocidad de fermentación.

3. Las experiencias realizadas en mayor escala (fermentador de acero inoxidable) utilizando como sustancia nutritiva raíz de malta en concentración al 3%, corrobora los resultados obtenidos en el laboratorio.

4. El hidrolizado de batata constituye un buen medio, para realizar fermentaciones rápidas. Obteniéndose altos valores de velocidad de fermentación (90% en menos de 73 horas) y altos rendimientos de ácido láctico (90% con respecto a azúcares fermentados).



BIBLIOGRAFIA

- 1) Prescott S.C. y Dunn C.G. Microbiologia Industrial 416-1953
- 2) Undercoffer and Hickey. Industrial Fermentation T. II 1954
- 3) Ulman F. Enc. Ind. II Ed. Tomo IV pag. 122
- 4) Peterson W.H. Jour Biol. Chem. 53, 111-1922
- 5) Pedersen C.S. Peterson W.H. y Fred E. B. Biochem. Jour. 69, 151-1926
- 6) Tatum E.L. Peterson W.H. y Fred E.B. Biochem. Jour. 26, 246-1932
- 7) Katagiri H. y Kitahata K. Biochem Jour. 31, 309 -1937
- 8) Dorsook H. Jour. Biol. Chem. 102, 440 -1933
- 9) Nelson M.E. y Werkman C.H. Jour Bact. 39, 547-1935
- 10) Nelson M.E. y Werkman C.H. Jour. Sci. 10, 141-144 - 1936
- 11) Hollman A.F. y Richter F. Tratado de Química Organica 247, 1942
- 12) Aquarone E. Rev. Bras. Farm. 1-2, 15-1957
- 13) Balatti A.F. y Ertola R. Estudio comparativo de la fermentación láctica utilizando medios de cultivo de melazas. Presentado en el octavo Congreso de Química de México Año 1959.
- 14) Meyerhof O. Nature 141, 355 - 1933
- 15) Wood H.C. Andersen A. D. y Werkman C.H. Proc. Soc. Exptl. Med. 36, 217 - 1937
- 16) Snell E.E. y Strong. F.H. Jour. Biol. Chem. 125-1936
- 17) Snell E.E. Peterson W.H. y Strong F.H. Jour. Am. Chem. Soc. 60, 2325 - 1939
- 18) Snell E.E. Strong F.H. y Peterson W.H. Biochem. Jour. 31, 1729-1937
- 19) Tatum E. y Peterson W.H. Ind. Eng. Chem 24, 1493 - 1936
- 20) Koser A.S. Bact. Rev. 2, 99 - 1933
- 21) Stiles H.R. y Pruess L.H. Jour. Bact. 36, 149-153 - 1939
- 22) Davis J.C. Jour. Dairy. Research. 10, 136 - 1939
- 23) Kemp Gillies y West Appl. Microbiol. 4, 175- 1956

- 79
- 24) Gordon C. Snskeep G. Taylor y Bretzke. W.C. Ind. Eng. Chem.
44,1955 - 1952
 - 25) Peckham G. T. Chem. Eng. News 22,446 - 1944
 - 26) Peterson W.H. Bact. Rev. 9,45 -1945
 - 27) Whittier R.E. y Roger R.A. Ind. Eng. Chem. 23,532 -1931
 - 28) Burton L.V. Food Industries 9,571 - 1937
 - 29) Stiles H.R. Peterson W.H. y Fred E.B. Jour. Bact. 12,428- 1928
 - 30) Friedeman T.E. Cotonio M. y Shaffer P.A. Jour Biol. Chem.
73, 335-358 - 1927
 - 31) Leonard R.H. Peterson W.H. Y Johnson M.J. Ind. Eng. Chem.
40,57 - 1948
 - 32) Smith L.Y. y Claborn H.V. Ind. Eng. Chem. 17, 641 - 1939
 - 33) Andersen A.A. y Creaves J. E. Ind. Eng. Chem. 34,1522-1942
 - 34) Filanchione E.M. y Costello E.J. Ind. Eng. Chem. 44,2189-1944
 - 35) Gordon C. Inskeep Ind. Eng. Chem. 44,1957 - 1952
 - 36) Filanchione E.M. y Fisher C. Ind. Eng. Chem. 38,228- 1946
 - 37) Fisher C.H. Mast W.C. Rehberg C.E. y Smith L.T. Ind. Eng. Chem.
36,1032 - 1944
 - 38) Rehberg C. E. Dixon M.B. Y Fisher C.H. Jour Am. Chem. Soc.
67,208 - 1945
 - 39) Rehberg C.E. Ind. Eng. Chem . 44,2195 - 1952
 - 40) Friedeman T y Graeser J. Jour. Biol Ch m. 100,291- 1933
 - 41) Pan S.C. Peterson W. H. y Johnson M.J. Ind. Eng. Chem. 52,709-1940
 - 42) Jorgensen A. Microorganisms and Fermentation (Charles Griffin
and company limited) Sixth Edition pag. 399
 - 43) Haehn H. Bioquímica de las fermentaciones 1952 pag. 552.
 - 44) Bergoy's Manual of Determinative Microbiology. Breed R.S.
Murray E.G. Nathan R.S. Seventh Edition Ago 1957

