

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE QUERETARO

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

*Biblioteca Central*  
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE QUERETARO

REDUCCION DEL TIEMPO DE CUADRO DE UN VIGNETE

TESIS

QUE PARA SU EXAMEN PROFESIONAL DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

ALEJANDRO ALCANTARA HURTADO

QUERETARO, QRO.

1968

No. Reg 1453660  
" TS  
Class 547.29  
A347x

CON TODA MI CARIÑO  
A MIS PADRES  
Y HERMÁNOS

A LA MAESTRA Q.F.B.

MA. ZOILA MONTES M.

AGRADECIMIENTO

A

INDUSTRIALIZADORA DE LECHE "EL SAUZ".

E

ING. WALTER SCHUMACHER

## SUMARIO.

Prefacio. . . . .	1
Capítulo I.- Generalidades. . . . .	3
Capítulo II.- Características generales sobre las Bacterias. . . . .	5
Capítulo III.- Preparación de cultivo madre, Pre- paración de Yoghurt, Defectos del Yoghurt, Examen microscópico. . . . .	9
Capítulo IV.- Ventajas del Yoghurt en la dieta. . . . .	17
Capítulo V.- Parte experimental. . . . .	22
Conclusiones. . . . .	35
Bibliografía. . . . .	37

## SUMARIO.

Prefacio. . . . .	1
Capítulo I.- Generalidades. . . . .	3
Capítulo II.- Características generales sobre las Bacterias. . . . .	5
Capítulo III.- Preparación de cultivo madre, Pre- paración de Yoghurt, Defectos del Yoghurt, Examen microscópico. . . . .	9
Capítulo IV.- Ventajas del Yoghurt en la dieta. . . . .	17
Capítulo V.- Parte experimental. . . . .	22
Conclusiones. . . . .	35
Bibliografía. . . . .	37

## PREFACIO

Hay en nuestra imaginación mil ideas que se proyectan el día de nuestro Examen Profesional, pensamos -sin método naturalmente- que nuestra Tesis Profesional abarcará una serie de importantes descubrimientos, desde un nuevo elemento que ya mentalizamos en la Tabla Periódica, hasta el microorganismo que produce el Cáncer, o una droga que lo cure o una técnica pronóstico con aproximación de diez años.

Pensamos, además en lo fácil que será el camino con una carrera Universitaria como arma y los pesos -muchos, muchísimos- que nos permitirán una "dulce far niente" para -- nuestra familia.

Al terminar el 5º año y con la carta de Pasante en la mano, nos lanzamos a la búsqueda de un trabajo y nos damos cuenta de una necesaria e imprescindible reforma casi total, a todos estos sueños.

No hay tantas ofertas de trabajo como pensábamos, - el sueldo no es tan alto ni compensa en ocasiones los desvelos de toda una carrera y la competencia por individuos mejor preparados o más "oportunistas" es implacable.

Entonces comprendemos el verdadero sentido de la vida, amamos nuestra carrera y damos importancia también a -- las cosas pequeñas, la amamos no por el fruto que nos pueda dar en beneficios exteriores, porque sin ella no hubiéramos podido ser y nuestra integridad no hubiera valido. Sin dejar eso si, el sueño natural de los hombres de alcanzar a-

base de conocimientos y servicios a la humanidad el lugar en la Historia que no todos logran pero que todos deseamos.

Nuestra tesis no será ya ese milagro científico, -- nos adaptamos a la idea de una investigación pequeña, sí, - pero concienzuda y de completa comprensión con miras a mejorar el rendimiento de un producto, disminuir el costo de mano de obra y de reactivos (traducido en menor costo al consumidor y beneficio al productor) e incrementar la rapidez de producción.

## CAPITULO I

### GENERALIDADES.

Este producto fué estudiado primeramente por Metchnikoff al sorprenderle la longevidad alcanzada por ciertas tribus búlgaras entre las que era común alimentarse de este producto y supuso que las bacterias lácticas impedían el desarrollo de las bacterias putrefactivas del intestino evitando así la formación de productos tóxicos y su absorción.

El estudió la fermentación de este producto y aseguró que tanto la vejez prematura como la muerte es debida en muchos casos a la autointoxicación del organismo por la acumulación de productos tóxicos que del metabolismo bacteriano se obtienen y publicó parte de su investigación en su libro titulado "La Prolongación de la Vida".

Las estadísticas ahora han confirmado mucho de lo que Metchnikoff suponía, pues en Bulgaria es normal encontrar individuos que han rebasado los 100 años de edad y el promedio de vida de esos pueblos es superior a muchos; por ejemplo; en nuestro país el promedio de vida para el hombre son 63 años y 67 para la mujer, mientras que en Bulgaria es de más de 87 años, aparte de que el individuo permanece vigoroso hasta muy avanzada edad y es sorprendente -- que muy rara vez existan las canas o la calvicie.

Posteriormente la Universidad de Yale investigó en relación a los trabajos de Metchnikoff pero lo hizo en un-

microorganismo distinto al estudiado por el sabio ruso, pues éste lo hizo sobre el *Lactobacillus bulgaricus* y la Universidad de Yale sobre el *Lactobacillus acidophilus*. En este trabajo se encontró que la ingestión diaria de lactosa incrementa el desarrollo de *Lactobacillus acidophilus* que normalmente existe en el intestino y a su vez reduce el número de bacterias de la flora intestinal putrefactiva modificando de esta manera dicha flora.

Con esto se justifica más todavía porqué, en la actualidad, se recomienda la ingestión de yoghurt u otros tipos de leches fermentadas en la dieta o la de tabletas preparadas con microorganismos para la terapéutica de algunas enfermedades intestinales.

A continuación hablaré sobre las características biosintéticas de los microorganismos principalmente responsables de esta fermentación e incluyo también el *Lactobacillus acidophilus* que se utiliza en la fabricación de la Leche acidófila que es un producto muy similar al yoghurt.

## CAPITULO II

### CARACTERISTICAS GENERALES SOBRE LAS BACTERIAS

#### Género Lactobacillus

A este género corresponden gran número de microorganismos aislados de muy diferentes fuentes y que poseen rasgos morfológicos, tintóreos y de cultivo iguales.

Generalmente son en forma de bastones largos y delgados, toman el Gram, tienden a crecer en cadenas y largos filamentos; algunos muestran gran variación en forma y tamaño.

En general producen gran cantidad de Acido Láctico a expensas de hidratos de carbono. Se desarrollan mejor en medios anaerobios, Sin embargo, hay algunos aerobios obligados, producen gas, son inmóviles y no producen esporas.

#### Lactobacillus bulgaricus.

Se conoce también como Bacilo de Grigoroff.

Se presenta en forma de bastoncillos inmóviles de 1.0 a 2.0 micras. Es Gram-positivo aunque en cultivos viejos se pueden encontrar formas Gram-negativas. Casi no se desarrolla en medios ordinarios pero sí bastante en medios a base de leche, suero, malta o azúcares. No forma indol ni licúa la gelatina.

En caldo glucosado produce turbidez y un depósito blanco en el fondo después de 24 horas de incubación.

En leche tornasolada hay acidificación y coagulación a las 24 horas incubando a 37°C.

No reduce los nitratos y se destruye por calentamiento a 60°C.

Su temperatura óptima de desarrollo es de 43-45°C.

Produce ácido a partir de glucosa, galactosa, lactosa, dextrosa, levulosa y manita. Forma de 2.7 a 3.7 % de Ácido Láctico en la leche. También produce pequeñas cantidades de ácidos volátiles.

Se distinguen cuatro tipos de *L. bulgaricus*: A, B, C y D. Esta clasificación se basa en la fermentación de carbohidratos.

Tipó	o	Malitosa	·	Dextrosa	·	Lactosa	·	Sacarosa	·	Rafinósa :
A	-			+		+		-		-
B	+			+		+		-		-
C	-			+		+		+		-
D	-			+		+		+		+

### Lactobacillus acidophilus.

Se conoce también como Bacilo de Moro.

Se presenta en forma de bastoncillos de 4 a 5 micras, generalmente en pares y en cadenas cortas, de extremos afiliados. Se encuentra en el contenido intestinal de niños que se alimentan artificialmente. Estos bacilos, mas bien delgados, algunas ocasiones tienen sus terminaciones redondeadas, otras frecuentemente cónicas, variando en longitud. Generalmente son rígidos y raramente corvados.

En medios aerobios parece cocobacilo corto, semejante a *Escherichia coli* pero más largo y grueso. No forma esporas, son inmóviles, Gram-positivos pero en cultivos vie-

jos los hay Gram-negativos. Se desarrolla entre 20 y 37°C, siendo su óptima 37°C.

En agar forma colonias como puntas finas y transparentes que llegan a ser blanquizcas y un poco más opacas.

En caldo, lo enturbia ligeramente con formación de sedimento gris.

En leche tornasolada se desarrolla magníficamente bien, volviéndola ácida y formando un coágulo suave después de 48 horas.

No forma indol, no licúa la gelatina y probablemente no reduce los nitratos.

En papa no hay desarrollo visible.

En la fermentación de lactosa se forma una mezcla de ácidos entre los cuales se incluyen unos volátiles, como son: Acido Fórmico, Acético y Butírico, comúnmente de 12 a 20 % de ácido total; además produce Bióxido de carbono en pequeña cantidad.

Hay cuatro variedades de *Lactusbacillus acidophilus* también clasificados por su poder fermentador de los carbohidratos.

Tipo	Maltosa	Dextrosa	Lactosa	Sacarosa	Rafinosa
A	+	+	+	+	+
B	+	+	+	+	-
C	+	+	-	+	-
D	+	+	+	-	-

*Streptococcus thermophilus*

Pertenece al grupo *Viridans*.

Es un diplococo o caducillas largas o cortas, iguales o desiguales. Produce de 0.8 a 0.9 % de Acido Láctico, ataca débilmente a la caseína, forma un poco de diacetilo en presencia de citratos de la leche y da así su aroma particular al Yoghurt.

Su temperatura óptima de desarrollo es de 40-42°C.- y según Orla-Jensen 40-45°C. y desarrolla mejor a un pH 6 aproximadamente. La duración por generación es de 20 minutos

No produce esporas, no tiene flagelos y es inmóvil. Gram-positivo y anaerobio. No tienen cápsula.

Sus colonias son del tipo de punta de alfiler, fermenta la lactosa y sacarosa pero no la salicina. Coagula la leche.

Produce colonias no hemolíticas sobre agar-sangre.

Su desarrollo se inhibe a los 10°C. y no se destruye por calentamiento a 63°C, durante 30 minutos.

### CAPITULO III

#### PREPARACION DEL CULTIVO MADRE, PREPARACION DE YOGHURT, DEFECTOS DEL YOGHURT Y EXAMEN MICROSCOPICO.

Preparación del cultivo madre.

Material empleado:

- a) Matraces Erlenmeyer de 1,000 ml.
- b) Pipetas de 9 g. para crema o para 10 ml.
- c) Papel para envolver las pipetas.
- d) Recipiente a presión, autoclave o Baño María.
- e) Incubadora.

Preparación de la leche para los cultivos madre.

1.- Debe usarse exclusivamente leche fresca, dulce, homogenizada o no, leche descremada o en polvo reconstituida hasta 10 % de sólidos y debe estar libre de antibióticos u otros inhibidores.

2.- Lávese el equipo y esterilícese antes de usarse. Para esto, primero se lava el material con una solución de detergente alcalino al 1 % y se enjuaga con abundante cantidad de agua; con esto queda químicamente limpio y luego - - hiérvase en agua limpia durante 30 minutos, con lo que queda bacteriológicamente estéril.

Las pipetas se pueden esterilizar en agua hirviendo durante 30 minutos o bien envolverlas en papel y calentar - en estufa a 180°C. durante una hora.

3.- Llenar los matraces con leche escogida hasta -

las 2/3 partes y tapar con una torunda de algodón envuelta en gasa para evitar que se pegue a las paredes del matraz e introducirlo en la boca de éste unos 5 centímetros, debiendo quedar fuera de él solamente 2 centímetros; después se envuelve la parte saliente en papel pergamino y se sujeta con una liga; Junto con la torunda deberá colocarse un termómetro para controlar la temperatura interna del matraz.

4.- Colocar los matraces en el recipiente a presión y abrir la salida del vapor hasta desalojar el aire; luego ciérrase la válvula hasta que la presión suba a 10 libras y manténgase así de 5 a 15 minutos (preferiblemente 10), dejando después que la presión baje gradualmente a cero y después abra la válvula.

Si la esterilización se hace en autoclave sostenga la presión a 15 libras durante 15 minutos y si se hace en Baño María caliente la leche de 30 a 40 minutos en agua a partir del momento en que se inicia la ebullición.

5.- Dejar enfriar la leche lentamente hasta que alcance 45°C. No debe someterse a cambios bruscos de temperatura, ni agitarse. Inocular en seguida el contenido de un frasco de cultivo procedente de algún laboratorio comercial si es la primera vez que se hace o se trata de un cultivo nuevo; si se trata de una resiembra, inocular 9 o 10 ml. de el cultivo anterior en 2/3 partes de un litro de leche.

6.- Agite bien el matraz para mezclar el cultivo con la leche. Si es la primera vez que se hace o se trata de un cultivo nuevo, habrá que agitar cada hora durante 3 o

4 horas y si se trata de una resiembra puede omitirse este paso, solamente se agitará después de inoculado.

7.- Incúbese la leche a 38°C. hasta que la coagulación empiece. En la primera propagación la coagulación ocurre entre las 4 y 6 horas; en las propagaciones siguientes se requiere menor tiempo y se saca cuando la acidez sea de 0.900 g % de Acido Láctico.

8.- Enfríese a 5°C. y mantenga esta temperatura hasta el momento de usarla o hasta que se efectúen nuevas propagaciones.

#### Preparación del Yoghurt.

Se requiere una leche que contenga más o menos 3.2% de grasa butírica y 0.14-0.17 g\* % de Acido Láctico de acidez.

Con la excepción del homogenizador si uno lo juzga útil se necesita un material muy reducido.

1.- Pasteurizador.

2.- Matraces con cultivo madre con una acidez de 0.9625-1.3500 g\* % de Acido Láctico.

3.- Embotelladora y tapadora. Estos aparatos se usan solo en caso de una fabricación considerable; un trabajo experimental como éste no justifica su empleo.

4.- Incubadora o Baño María calibrados a 38°C.

5.- Frigorífico.

Técnica:

a) Pasteurización.

b) Inoculación de los fermentos.

- c) Embotellado y tapado.
- d) Incunación.
- e) Enfriamiento.

La pasteurización es la operación más importante -- porque controla la limpieza bacteriológica y el aspecto físico del coágulo. Este aspecto físico se refiere a su consistencia y viscosidad, la cual se puede mejorar aumentando el porcentaje de materia seca no grasa ya sea por evaporación o adición de leche en polvo de gusto franco.

La homogenización (en caso de efectuarla) tiene dos ventajas: una es la de evitar que la grasa de la leche ascienda a la superficie y otra la de aumentar la consistencia del producto evitando así la exudación del lactosuero. Se ha recomendado la homogenización a 200 atmósferas de presión y 55°C. de temperatura.

La inoculación se hace una vez que la leche ha sido bajada hasta 45°C. poniendo más o menos 2 a 2½ % de cultivo madre (con una acidez de 0.9625-1.3500 g % de Acido Láctico Este cultivo puede estar formado por las dos especies de bacterias que intervienen (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) ya sean mezcladas o procedentes de cultivos aislados.

La incubación deberá hacerse a 38°C. pues de acuerdo a la temperatura de inoculación que es de 45°C., haya un margen que comprenda la temperatura óptima de desarrollo de las dos especies que comprenden los fermentos lácticos. *E. S. thermophilus* crece entre 30 y 50°, siendo la óptima --

40-42°C. y las del *L. bulgaricus*, que es de 30 a 55°C., --- siendo la óptima 43-45°C.

A propósito de las temperaturas de desarrollo de los microorganismos aprovecho para decir que si se desea obtener un yoghurt dulce y de sabor agradable la incubación se debe variar hacia los 40-42°C., desarrollándose así con mayor facilidad el *S. thermophilus*, y si se desea un yoghurt ácido, la incubación se hará a 45°C. para favorecer el desarrollo de *L. bulgaricus* sin que se altere por esto el tiempo de cuajado.

Una vez cuajado el yoghurt es necesario parar el trabajo microbiano para lo cual se usa el enfriamiento. El yoghurt normalmente tiene un cuajado perfecto cuando alcanza una consistencia de flan que se obtiene cuando el producto ha alcanzado una acidez de 0.7425 g % de Acido Láctico, pero cuando los sistemas de enfriamiento no son rápidos habrá que sacarlo de la incubación antes de que alcance este límite a fin de compensar el aumento de acidez mientras el producto alcanza una temperatura más baja a la de desarrollo de las dos especies. Una acidez de 0.60-0.65 g % de Acido Láctico es suficiente en este caso. Si el sistema de enfriamiento es rápido el producto se saca cuando alcanza una acidez de 0.7425.

Terminada la incubación los frascos son llevados a un frigorífico a una temperatura comprendida entre los 0 y 5°C. con lo cual se conserva de una a dos semanas y se impide el desarrollo de gérmenes de contaminación que normalmen

te se encuentran en la superficie del producto.

24 horas después de haberse fabricado el producto - deberá tener una acidez de 1,035-1.1700 g. % de Acido Láctico.

El transporte de este producto debe hacerse evitando cualquier sacudida, porque éstas rompen el coágulo y se exuda el lactosuero.

### Defectos del Yoghurt.

1.- Falta o ausencia de sabor.

Se debe a una incubación a baja temperatura en la que solo desarrolla el *S. thermophilus*.

2.- Amargo, sin aroma o con gran cantidad de ácido.

Es debido a la falta de enfriamiento durante su conservación, a una elevada temperatura de incubación ya que solo se desarrolla el *L. bulgaricus*, a un cultivo malo o a la leche cuando llega en condiciones no adecuadas.

3.- Mohoso, enmohecido o caseoso.

Esto es debido a infecciones en el cultivo madre.

4.- Sabor metálico, aceitoso o seboso.

Se debe a la presencia de cobre, hierro, plomo, etc procedente del equipo empleado en la fabricación o a contacto con los rayos solares.

5.- Mohoso o viscoso.

Es debido a una degeneración en el cultivo madre, ya sea por degeneración o por una incorrecta preparación.

6.- Sucio, descompuesto o jabonoso.

Esto sucede cuando la limpieza es incorrecta en los

frascos de envase o a la presencia de restos de detergente.

#### 7.- Separación del lactosuero.

Esto viene como consecuencia de una incubación prolongada en la que la acidez aumenta demasiado; a un lento enfriamiento una vez que se ha sacado de la incubadora o a movimientos bruscos durante la incubación o transporte del producto.

#### 8.- Fermentado o con presencia de burbujas.

La presencia de bacterias, sobre todo del tipo de *Escherichia coli* que producen gas a expensas de carbohidratos como la lactosa, producen burbujas sobre todo al principio de la incubación; también puede deberse a levaduras por una pasteurización incorrecta; falta de higiene en el equipo o al uso de agua bacteriológicamente contaminada.

#### Examen microscópico.

Se realiza practicando una extensión del yoghurt a reconocer sobre un portaobjetos y tinción del material por el método de Gram.

Si el producto es de buena calidad, al estudiar la preparación al microscopio se observará que la proporción entre las dos especies de microorganismos es de 1:1. Otros autores dicen que la proporción deberá ser como sigue: por cada 100 lactobacilos deberá haber de 120 a 200 estreptococos.

Si al observar la preparación se observan gérmenes Gram-negativos es que el producto está contaminado.

También es importante observar si los lactobacilos-

y estreptococos presentan partes no teñidas o partes en que toman el color de contraste es que el cultivo está degenerado.

La observación microscópica también puede hacerse poniendo una gota pequeña entre lámina y laminilla y efectuar el conteo. Puede también hacerse la observación por inmersión en azul de metileno.

## CAPITULO IV

### VENTAJAS DEL YOGHURT EN LA DIETA.

#### Valor alimenticio.

El valor alimenticio del yoghurt es muy alto por lo que se recomienda en la dieta pues éste suministra 66 elementos nutritivos entre los cuales hay:

11 aminoácidos esenciales.

21 minerales.

17 ácidos grasos.

16 vitaminas.

1 carbohidrato.

#### Valor energético.

El rendimiento que tiene el yoghurt es de 883 calorías/litro.

#### Valor digestivo.

Se ha comprobado que la digestibilidad del yoghurt es superior a la de la leche y que sólo es comparable con el de la leche de madre por el grado de acidez.

La leche se digiere en un 32 % en la primera hora, 36 % en la segunda y 44 % en la tercera, mientras que el yoghurt se digiere solo en la primera hora un 92 %.

#### Valor terapéutico.

El yoghurt y las leches fermentadas dan magníficos resultados en la terapéutica de algunas enfermedades infantiles, tales como: dispepsia, enteritis, estreñimiento, etc pues una vez que se desplaza la flora intestinal putrefac-

tiva por la producción de ácido de origen fermentativo elimina la constipación, modifica los desórdenes intestinales, deodoriza y regulariza las defecaciones y tiene efecto terapéutico contra la diarrea. También se ha aplicado a la limpieza de la piel sobre todo en los casos de acné juvenil, etc.

#### Valor germicida.

El yoghurt tiene una acción bactericida contra muchos microorganismos siempre y cuando estén en contacto con leche ácida que contenga de 45 a 55°Sh durante 10 o 12 días a ésta acidez solo son resistentes el *Micobacterium tuberculosis*, brucellas y *Staphilococcus*.

Wilson y Tanner examinaron la tolerancia de ciertos microorganismos a la acción del Acido Láctico y su resistencia al mismo, por lo que creo conveniente transcribir un breve cuadro:

Tolerancia de:

<i>Escherichia coli</i> .....	0.58-0.60 g. %
<i>Salmonella paradysenterie</i> .....	0.30-0.40
<i>Eberthella typhosa</i> .....	0.30-0.40
<i>Corynebacterium dyphterie</i> .....	0.27-0.32
<i>Salmonella chtottmüleri</i> .....	0.28-0.37

#### Aspecto antialérgico.

Las personas que muestran alergia a la leche pueden tolerar con mucha más facilidad el yoghurt pues los fermentos de ésta modifican las lactoproteínas responsables de la alergia.

### Ventajas de la ingestión.

- 1.- Favorece el desarrollo dentario en los niños.
- 2.- Restablece la flora intestinal de los individuos que han sido sometidos a un tratamiento con sulfamidas y antibióticos pues éstos destruyen la flora intestinal e inclusive producen ciertos estados anémicos.
- 3.- Tiene una acción antipútrida que se deduce de la propiedad que tienen las bacterias de producir " in situ " Acido Láctico que inhibe el desarrollo de los gérmenes patógenos pues éstos una vez que han estado en contacto durante varios días con leches agrias pierden el poder de desarrollarse.
- 4.- Una fácil digestibilidad ya que el yoghurt contiene gran cantidad de Acido Láctico y éste complementa el valor digestivo del Acido Clorhídrico del estómago.
- 5.- Forma un obstáculo en la formación de nitritos pues es sabido que la flora intestinal reduce los nitratos que se ingieren en el agua formando nitritos y éstos pasan a la sangre produciendo un cuadro conocido como Metahemoglobinemia.

### Otros tipos de leches fermentadas.

Son muchas y muy variadas tanto en su composición, como en los microorganismos empleados en su fabricación y los lugares en que tuvieron origen.

Entre éstas las principales son: el yoghurt, bioghurt, Koumiss, keffir, y la leche acidófila; otras menos conocidas tales como: el lebben, huslanka, taetemjolk, Fili o

põma, dadhi, matzoon, gioddu, kaimak o skorup, skyir, etc.

**Kefir.**- Esta bebida es originaria del Cáucaso y se prepara a partir de leches de muy diversos animales, especialmente de vaca, cabra, oveja y yegua. La leche se pasteuriza o se hierve y después se baja la temperatura a 25°C. y se inocula el 3 % de cultivo madre formado de *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Betacoccus caucasicum*, *Lactobacillus casei* y *Streptomyces kefir* y se incuba a 25°C. - durante 8 a 12 horas.

En este lacticinio se produce abundante cantidad de ácido y alcohol. Debe consumirse a lo sumo 3 días después de elaborado, porque después se deteriora.

**Bioghurt.**- Esta leche se prepara inoculando 5 % de cultivo madre formado por las siguientes bacterias: *Bacterium acidophilus* y *Streptococcus lactis*-Variante en simbiosis.

La leche una vez estéril o pasteurizada se baja a 40-42°C., se inocula y luego se incuba a 40°C. durante 90 a 100 minutos. Finalizando la incubación se baja la temperatura a 15-18°C. para su conservación.

Después de 12 horas debe tener una acidez de 35-45 SH.

**Leche acidófila.**- Se prepara a partir de *Lactobacillus acidophilus* inoculando de 4 a 6 % de la madre a 40°C. e incubando a 37°C. durante 8 horas.

Este producto de consistencia más o menos líquida, tiene poco aroma y ácido y tiene el gran defecto de ser fá-

cilmente contaminable, además, la madre se pierde en 4 o 5 -  
resiembras. Sin embargo, tiene a su favor que el Lactobaci-  
llus acidophilus se implanta mejor que muchas bacterias en-  
el intestino, de ésto se deduce que esta leche se use con fi-  
nes terapéuticos.

Koumiss.- Esta leche se prepara con leche de yegua -  
exclusivamente. Es de origen ruso -de una tribu llamada de -  
los Kumans- y las bacterias que intervienen son diversos es-  
treptococcus, lactobacillus (del tipo casei) y levaduras.

Se caracteriza porque además de Acido Láctico produ-  
ce también algunos ácidos volátiles y gases como CO<sub>2</sub> y una -  
gran cantidad de alcohol (etanol) al grado de producir em- -  
briaguez, de lo que se infiere el empleo exclusivo de la le-  
che de yegua pues su contenido de lactosa es muy alto.

Estas leches fermentadas son las más conocidas, pero  
existen otras que se toman en diversos países, tales como:

El Taetemjolk que se usa mucho en Suecia y Noruega;-  
el Fili o Püma de Finlandia y Minnesota, E.E.U.U.; el Labben  
de Siria y Egipto; el Huslanka en los Cárpatos; el Dadhi de-  
la India y el Matzoon de Armenia.

## CAPITULO V

### PARTE EXPERIMENTAL.

La forma como inicié este trabajo se originó ante la necesidad causada por un problema que surgía frecuentemente en la fábrica.

Es conveniente hacer notar que aunque elaboraba yoghurt mucho antes de hacer este estudio, no conocía del todo bien algunas fases del proceso y que aprendí a hacerlo como una cosa rutinaria, lo hacía con rapidez, como un acto mecánico en el cual no era necesario poner demasiada atención y por lo general al mismo tiempo practicaba análisis de leche o alguna otra labor dentro de la fábrica.

El problema empezó a ser centro de mis preocupaciones cuando se me decía que el producto del día anterior estaba demasiado ácido; otro día se me decía que le faltaba consistencia; otro que la acidez era baja, etc., etc.

Todos estos errores hicieron que posteriormente los enmendara a medida que acumulaba experiencia y conocía mejor el proceso.

Como este trabajo es puramente experimental, el material de trabajo es muy reducido y solo consta de lo siguiente:

- 1.- Leche estéril.
- 2.- Recipiente de acero inoxidable de un litro.
- 3.- Termómetro de 0-110°C.
- 4.- Cultivo madre.

5.- Incubadora a 38°C.

6.- Frascos de envase y tapas.

7.- Pipetas de 10 ml. graduadas en 1/10.

La técnica usada es la que anteriormente cito, salvo algunas modificaciones que hice con la única mira de eliminar errores de los que hablaré en su oportunidad.

Durante el tiempo que fabriqué yoghurt siempre lo hice conforme a las indicaciones de la casa que fabrica las cepas de cultivo, dando para la inoculación un margen muy reducido y consecuentemente un tiempo de cuajado amplio (3- a 4 horas), entonces cuando se me pedía fabricar una cantidad equis de producto y no tenía suficiente cultivo madre, me preguntaba;

¿Cómo forzar las bacterias a trabajar más rápidamente y obtener suficiente cultivo madre?

¿Cómo acelerar el proceso de la fabricación aunque sea solo en casos especiales como éstos?

Empecé experimentando con llevar el porcentaje de inóculo haciendo un día un yoghurt con 1 % de inóculo; otro con 1.5 %; otro con 2 %, etc., hasta con 5 %. Observé que se reducía el tiempo de cuajado bastante; observé también que no siempre conseguía abreviar el tiempo sino que a veces encontraba hasta resultados antagónicos; después de varias decenas de experiencias en las que unas veces había resultados satisfactorios y otras totalmente anormales. Decidí empaparme más de bibliografía al respecto e inclusive logré conseguir las cifras normales del yoghurt europeo y de-

cedí elaborarlo conforme a ellas, ya que es un yoghurt -pu-  
diéramos decir- estable, o sea que no es demasiado ácido ni  
demasiado dulce o aromático.

Comencé haciendo una práctica diaria con un porcen-  
taje de inóculo dado para así darle mayor atención. Para es-  
to procedí conforme a la técnica ya mencionada, tomando la-  
acidez cada 30 minutos al principio de la incubación y a me-  
dida que ésta se incrementaba, la determinación de acidez -  
la hacía cada vez en menos tiempo hasta observar la consis-  
tencia de flan que determina el punto final de la incuba- -  
ción y titulaba la acidez final.

En las primeras determinaciones de esta segunda par-  
te se me volvió a decir que el yoghurt carecía de acidez.

Esta consistencia de flan no puede ser siempre la -  
misma, puesto que dar este paso es sólo por una observación  
ocular, no siendo la misma para todas las personas y como +  
la acidez al salir de la incubadora es importante ya que el  
producto debe salir al mercado hasta al día siguiente a su-  
fabricación para que desarrolle sabor; aumentando aún un po-  
co la acidez para la que existe también una cifra normal --  
(1.035-1.17 g. % de Acido Láctico) pero la acidez primera -  
si no es correcta tampoco lo será la segunda.

Hurgando en la bibliografía encontré que el yoghurt  
debe sacarse de la incubadora cuando la acidez es de 0.74 g  
% de Acido Láctico y así lo hice en lo sucesivo enmendándo-  
se el fenómeno de la exigua acidez.

Otro problema que frecuentemente se presentó fué --

que la acidez que debe tener el yoghurt 24 horas después de elaborado es alta a veces aún cuando la primera acidez sea normal, pero esto sólo depende de los sistemas de enfriamiento pues si son deficientes la acidez se sigue incrementando ya que la refrigeración tiene por objeto inhibir el desarrollo bacteriano y su conservación.

Otro factor importante es que el cultivo madre se haya sembrado varias veces de tal manera que las bacterias ~~se reproducen~~ su actividad pues de otra manera se obtendrá un yoghurt defectuoso o puede ser bueno pero a cambio de emplear un mayor tiempo de incubación.

Una vez que eliminé estos errores inicié de nuevo las prácticas con los errores corregidos y con las innovaciones que le hice al método y que en seguida voy a citar:

1.- Como el volumen sobre el que trabajé era de 500 ml. dentro de un recipiente de acero inoxidable, estaba expuesto a cambios de temperatura constantemente, siendo éste uno de los factores más importantes, ya que una variación de más o menos medio grado produce variaciones bastante notorias en el producto terminado, hubo que trabajar con suma rapidez.

Esto cuando se trata de volúmenes mayores no ofrece dificultad, pues la temperatura es más estable.

2.- Como las determinaciones fueron hechas con distintos porcentajes (1 a 5 %) y como el cultivo madre debe conservarse en refrigeración a más o menos 4°C., al agregar el inóculo a los 45°C. esta temperatura disminuía de acuer-

do a la cantidad de inóculo. Después de una serie de experiencias llegué a la conclusión que si el inóculo era 5 % e levaba la temperatura 2°C.; de tal manera que mientras inoculaba, agitaba y filtraba, la temperatura en el momento de envasar fuera de 45°C.; si el inóculo era de 4 %, elevaba la temperatura a 46.5°C.; si era de 3 %, 46°C.; si era de 2 %, 45.5°C. y si era de 1 % como no observaba cambio alguno lo hacía a 45°C.

Para volúmenes mayores habría que observar cómo cambia la temperatura al agregar el inóculo.

3.- Como los frascos de envase deben estar estériles al recibir el producto, procuraba que se esterilizaran casi al momento de elaborar el producto, con el objeto de que permanecieran calientes, de tal manera que las bacterias no sintieran cambios de temperatura, ni se perdiera calor por encontrarse fríos.

4.- Procuré siempre que la leche tuviera la misma cantidad de grasa butírica pues tiene mucho efecto en el sabor del producto y la misma cantidad de sólidos totales, ya que éstos son determinantes en la consistencia e inclusive en el desarrollo bacteriano, ya que si los sólidos son escasos, las bacterias desarrollarán mejor pero el producto tendrá consistencia mala y si están en exceso inhibirán el desarrollo bacteriano parcialmente.

El incremento de la acidez durante la incubación es un fenómeno que ofrece algunas cosas interesantes que enseguida voy a explicar con la ayuda de unas gráficas que ela-

boré para este objeto. Por ejemplo:

En la gráfica marcada en romanos con el número I se muestra el incremento de la acidez de un yoghurt fabricado con 1 % de cultivo madre y con una acidez de 1.03 g. % de Acido láctico.

Encontramos que siendo la acidez de la leche normal 0.14-0.17 g. % de Acido Láctico y siendo casi despreciable lo que aumenta la acidez al poner 1 % de cultivo con la acidez ya mencionada a un volumen de 500 ml., observamos que la acidez hasta los 90 minutos de incubación ha ascendido hasta 0.30 g. %, enseguida hay un incremento notorio hasta 0.67 en los 60 minutos siguientes y después este incremento empieza a declinar pues solo aumenta 0.07 g. % en 30 minutos dando un total de 0.74 g. % que es el momento en que el producto se saca de la incubación.

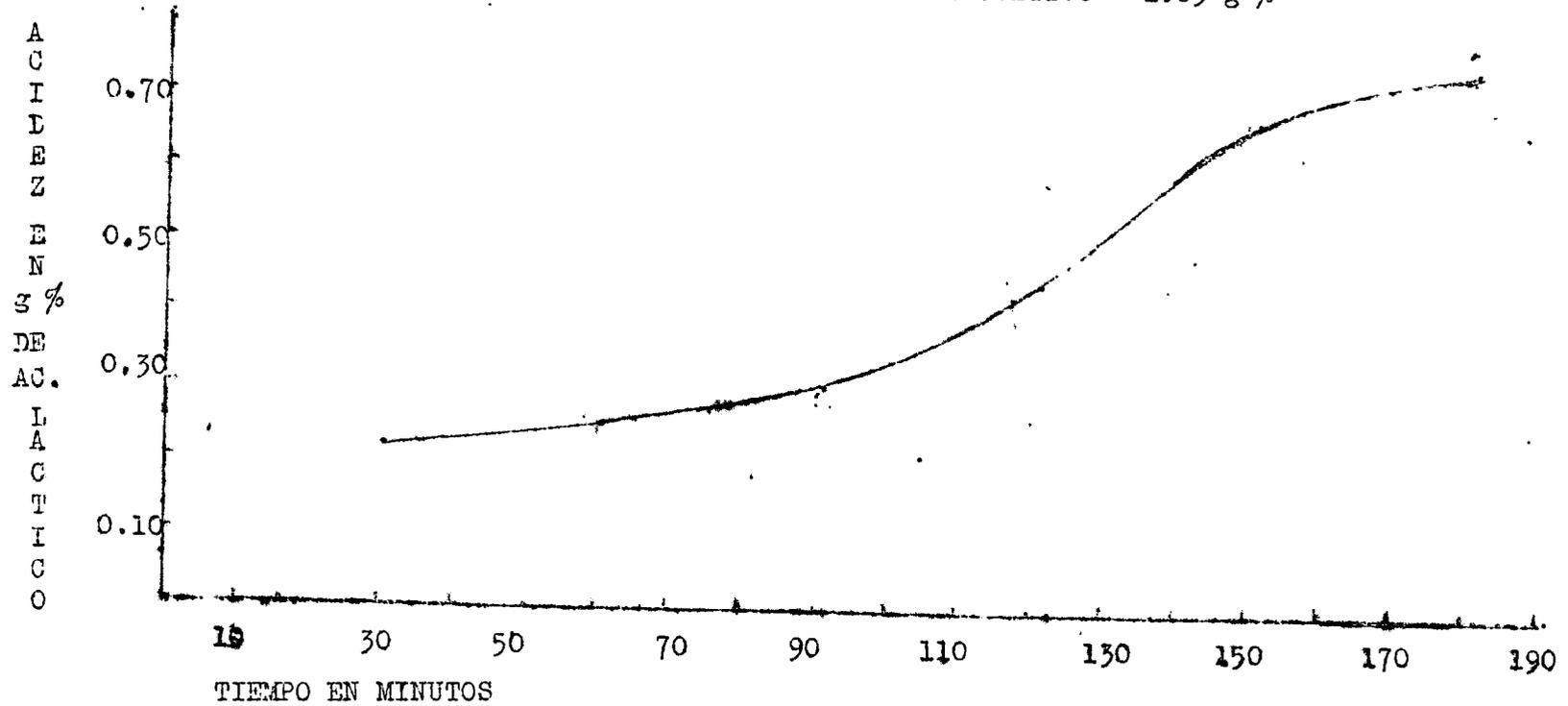
Esto se debe a que con un bajo porcentaje de inóculo y dado que las bacterias se reproducen una generación cada 20 minutos, al principio de la incubación el incremento es muy lento y más tarde en la fase media de la incubación esta lentitud se convierte en un incremento notable por que existen en este momento una cantidad gigantesca de bacterias y es por esta misma razón que después declina el incremento ya que la acidez producida por ellas mismas empieza a inhibir el desarrollo de las generaciones posteriores al grado tal de exudarse el lactosuero y formarse un coágulo muy consistente de los sólidos lácteos.

En la gráfica II encontramos una situación diferen-

GRAFICA I

INOCULO = 1 %

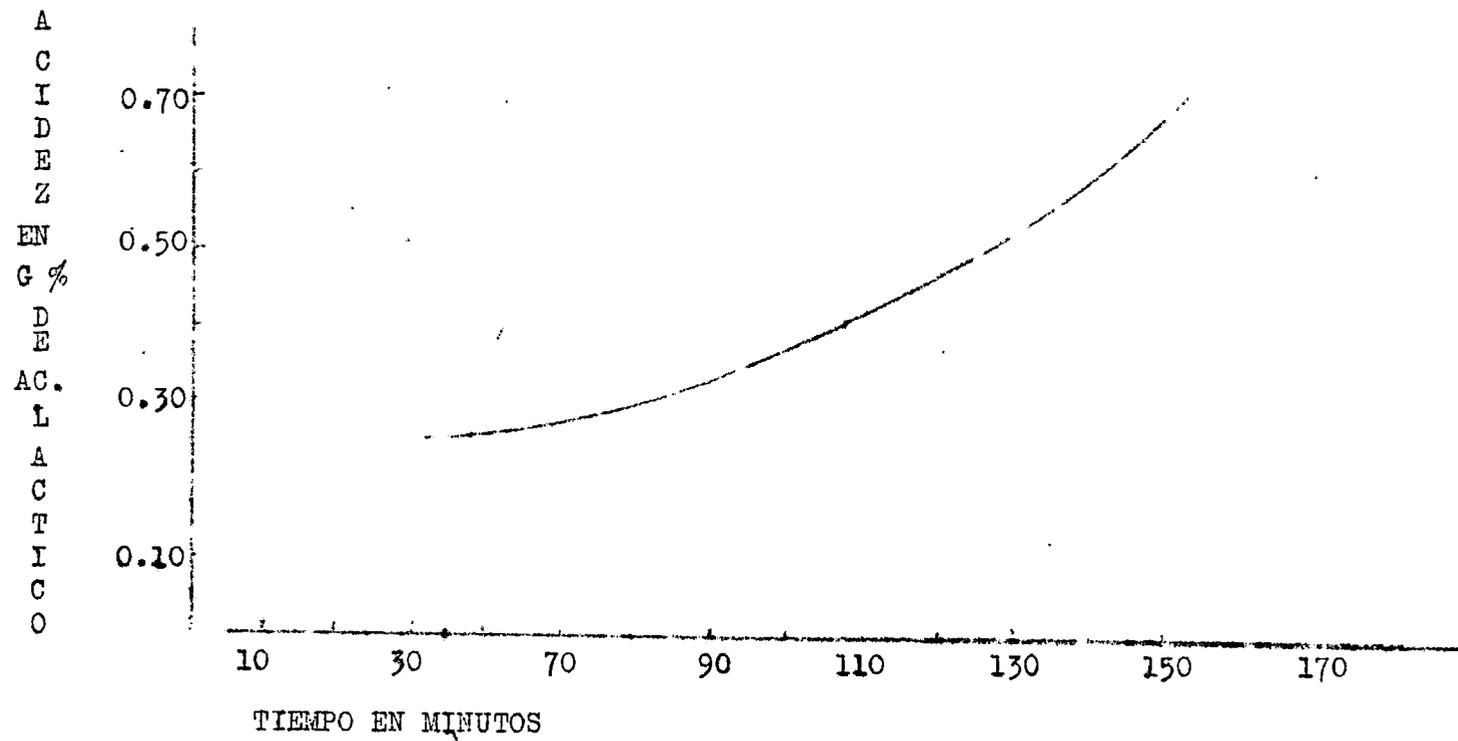
ACIDEZ DEL CULTIVO = 1.03 g %



GRAFICA II

INOCULO = 3 %

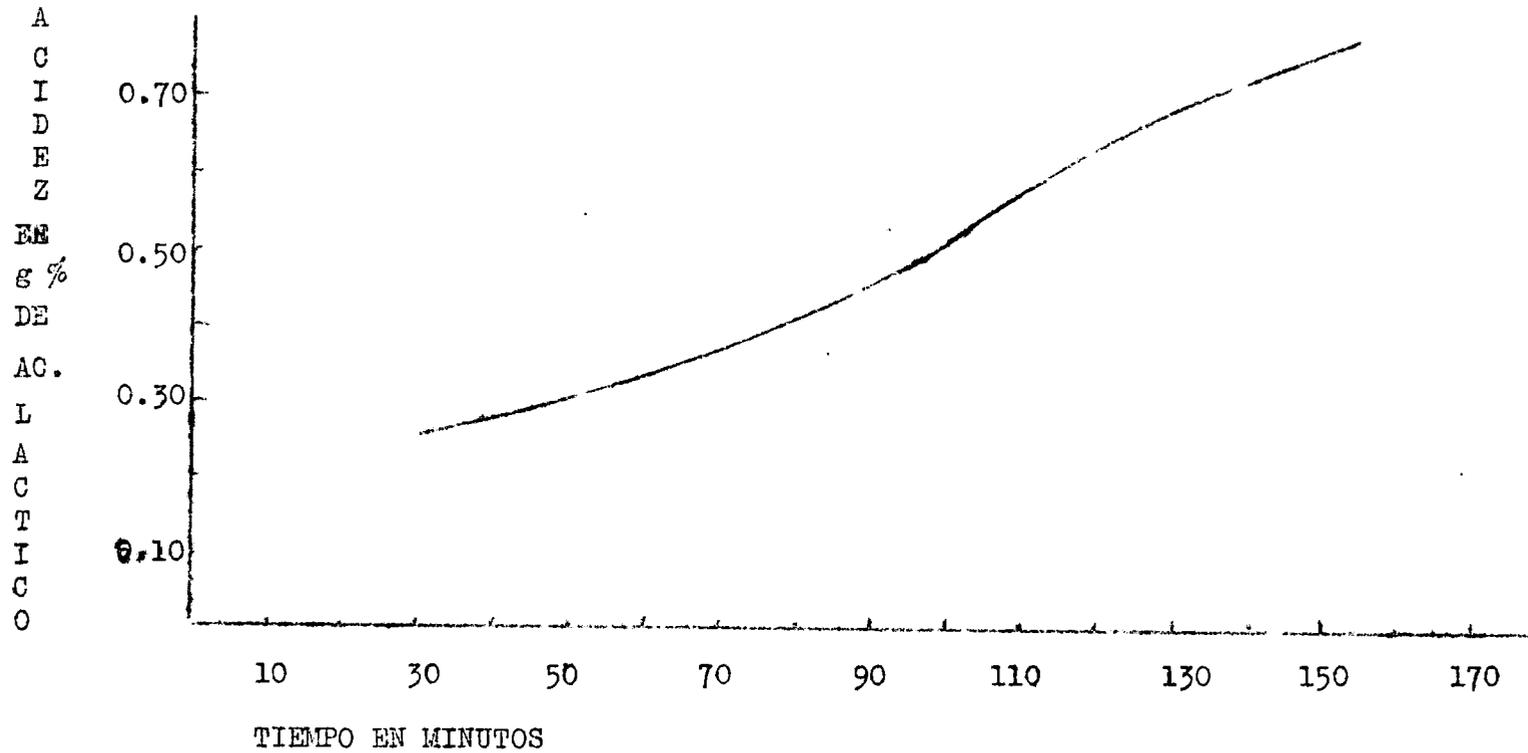
ACIDEZ DEL CULTIVO = 0.90 g %



GRAFICA III

INOCULO = 4.5 %

ACIDEZ DEL CULTIVO = 1.07 g %



te, se trata de un yoghurt fabricado con 3 % de inóculo y un cultivo madre con 0.90 g. % de Acido Láctico.

Aquí el incremento no muestra ninguna intermitencia en la curva y personalmente opino que esta gráfica nos representa las condiciones óptimas, en incremento nada más, en la fabricación de yoghurt. El incremento de esta curva es punto intermedio entre un inóculo mayor y uno menor.

Se observará que del punto inicial al final la acidez es incrementada más o menos en la misma proporción.

En el final de esta curva se obtiene un yoghurt normal, pero si prolongamos el tiempo de incubación habría un ligero ascenso todavía y después la acidez aumentada del medio haría declinar la curva debido a la inhibición natural de los microorganismos por el alto grado de acidez reinante. Estas bacterias no desarrollan bien después de un pH de 4.2 -4.4.

La gráfica III representa la fabricación de un yoghurt con inóculo de 4.5 % y un cultivo madre con 1.07 g. % de Acido Láctico.

Aquí se presenta otra situación diferente a II y semejante y antagónica con respecto a I, esto es, en la gráfica III al principio de la incubación el incremento, el punto medio poco notorio y el final lento.

Comparativamente hablando y situando una gráfica frente a otra podemos comprender mejor este razonamiento.

NOTA.

En estas tres gráficas debo hacer notar que su úni-

ca finalidad es explicar cómo se incrementa la acidez durante el proceso, pues los resultados en tiempo y la acidez de el cultivo madre en II no son exactos, ya que está un poco fuera de las cifras normales, pero sí muy aproximados.

Las siguientes gráficas que enumeraré con arábigos son distintas a las anteriores, pues aquellas representan el incremento de acidez durante el proceso y éstas representan el tiempo de cuajado en relación a la cantidad de inóculo empleado.

Por no poder explicar cada una de las gráficas en particular sino en forma comparativa, voy a mencionar por separado los resultados de cada una y después daré una explicación conjunta de todas.

Hago hincapié en no olvidar los fenómenos antes mencionados acerca del incremento de la acidez de acuerdo con los distintos porcentajes de inóculo y la acidez de los cultivos, pues de éstos deriva el tiempo de cuajado.

La gráfica número 1 representa una serie de yoghurtes hechos con un cultivo de ~~una~~ acidez de 0.98 g. % de Ácido Láctico e inóculos de 1 a 5 %.

Cada determinación fué hecha por duplicado.

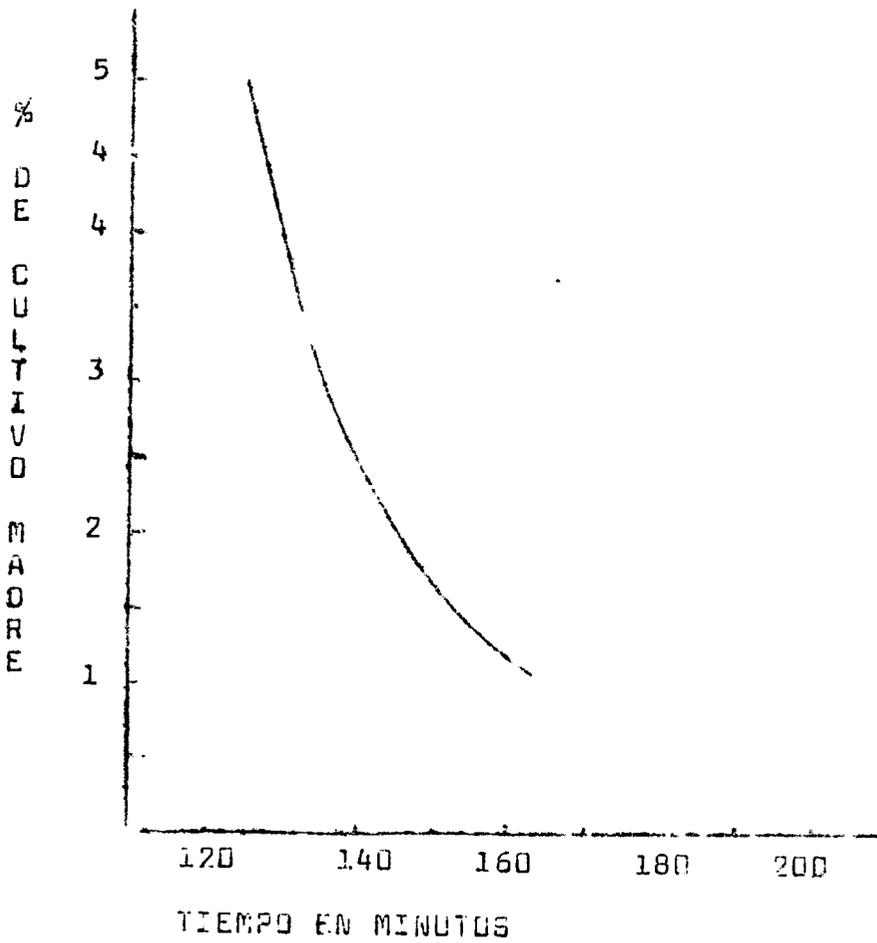
Se obtuvieron los siguientes resultados:

Para 1 % de inóculo 165 minutos de tiempo de cuajado.

"	2 %	"	"	145	"	"	"	"	"
"	3 %	"	"	135	"	"	"	"	"
"	4 %	"	"	130	"	"	"	"	"
"	5 %	"	"	125	"	"	"	"	"

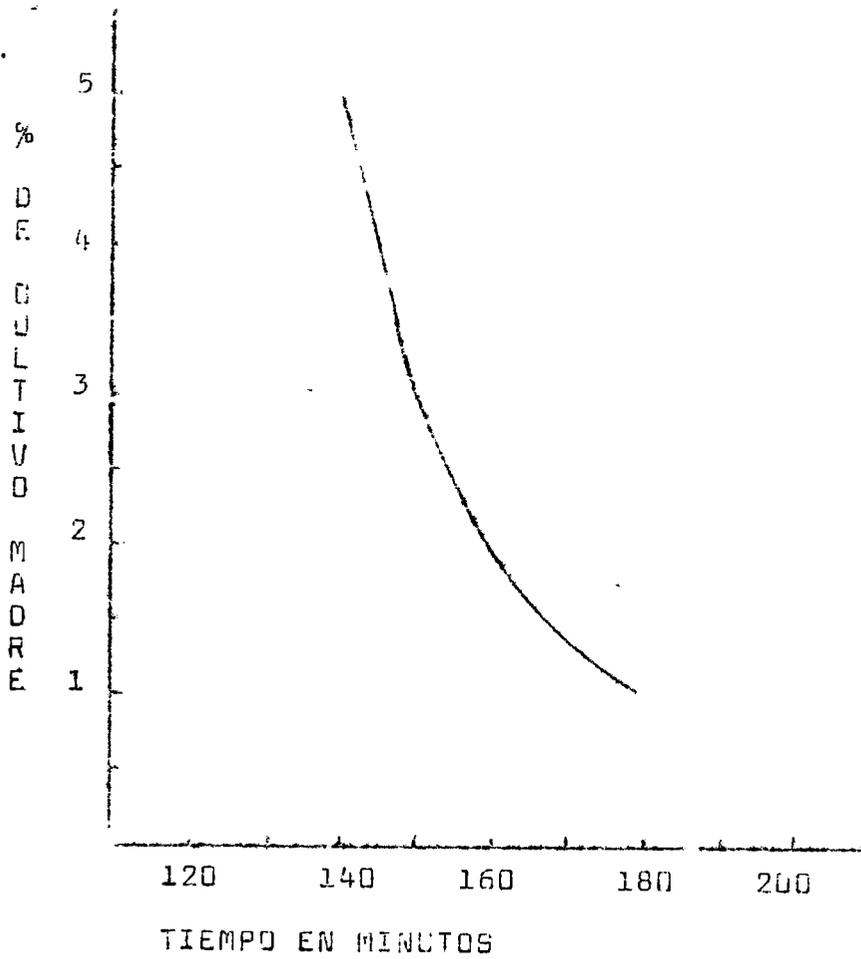
GRAFICA 1

CULTIVO MADRE, ACIDEZ : 0.98 g % DE ACIDO LACTICO.



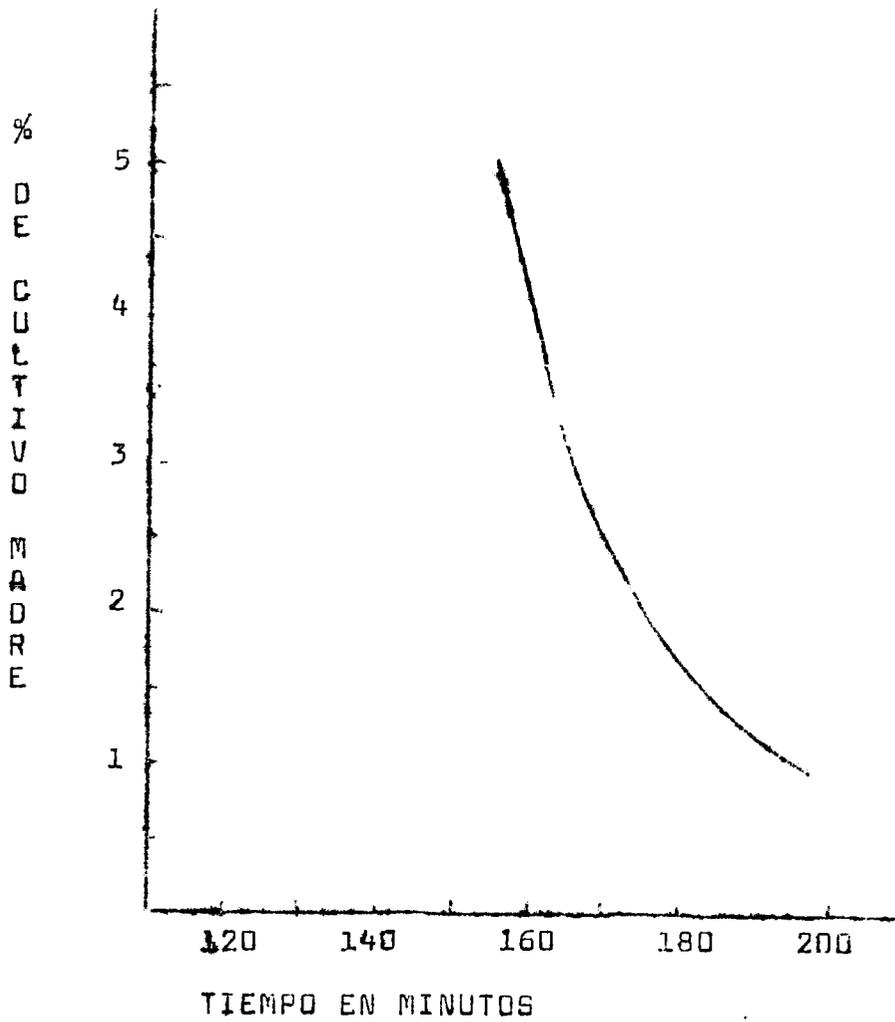
GRAFICA 2

CULTIVO MADRE, ACIDEZ : 1.04 g % DE ACIDO LACTICO.



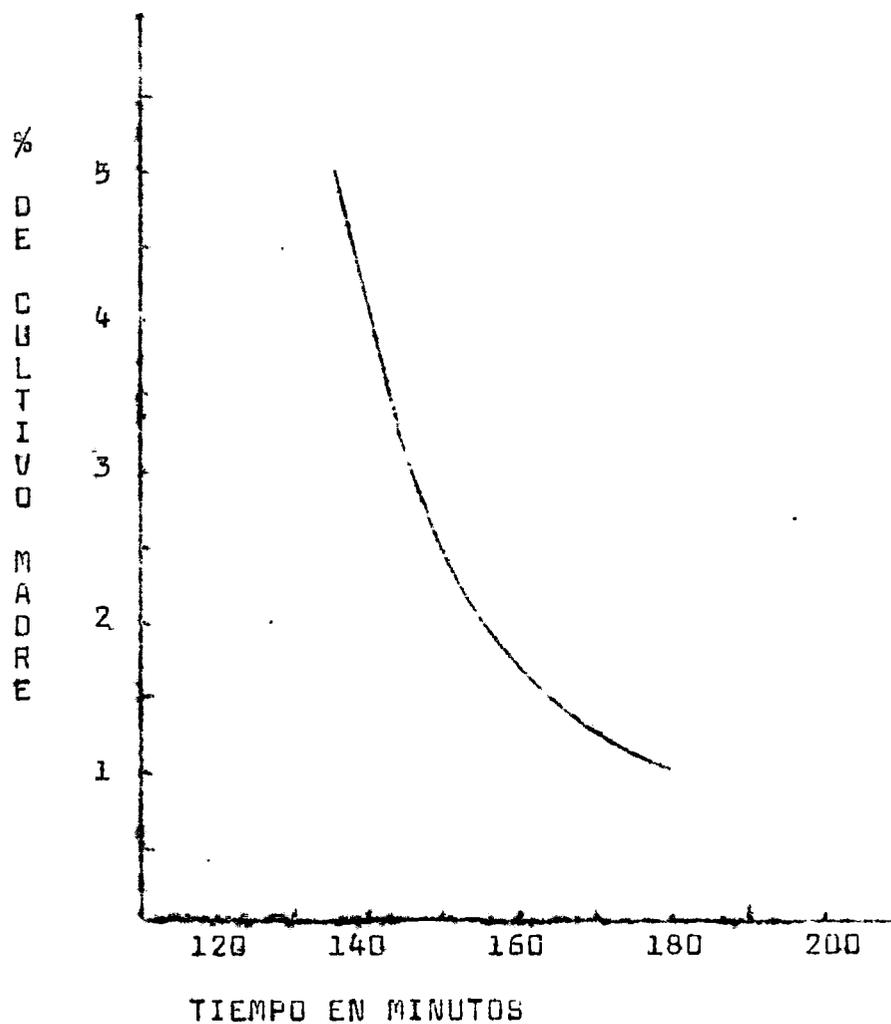
GRAFICA 3

CULTIVO MADRE, ACIDEZ : 1.09 g % DE ACIDO LACTICO



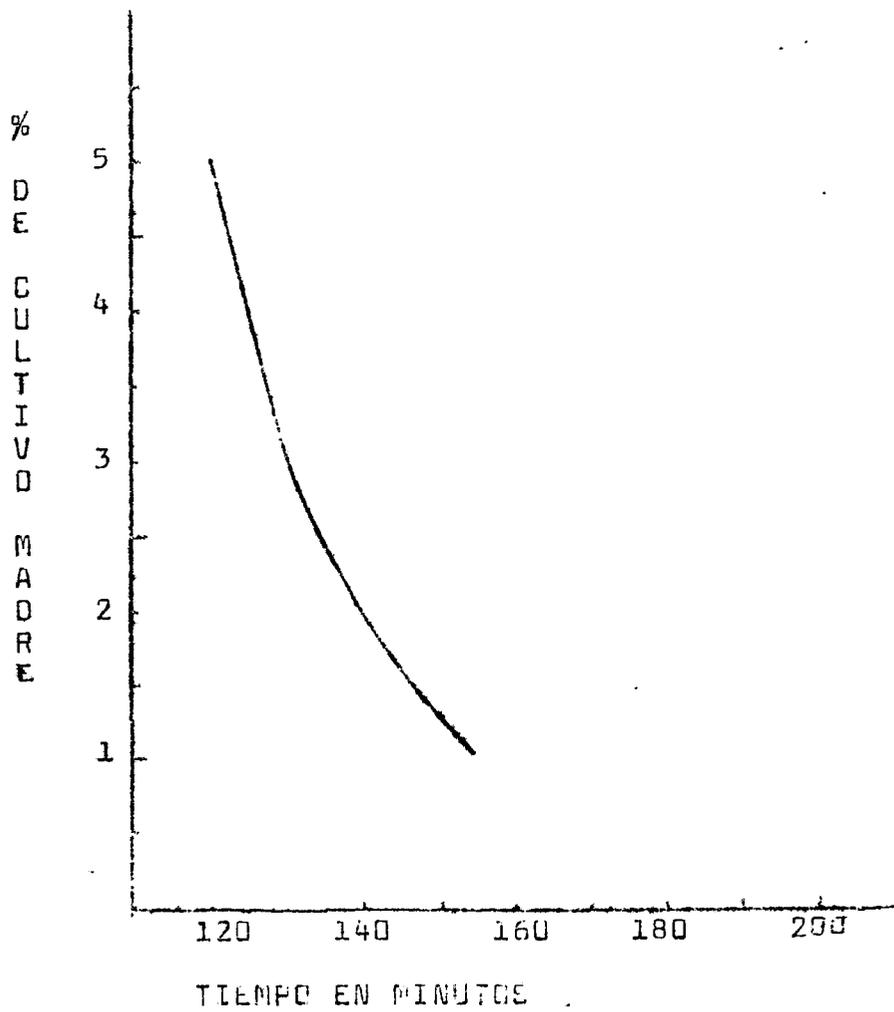
GRAFICA 4

CULTIVO MADRE, ACIDEZ : 1.23 g % DE ACIDO LACTICO



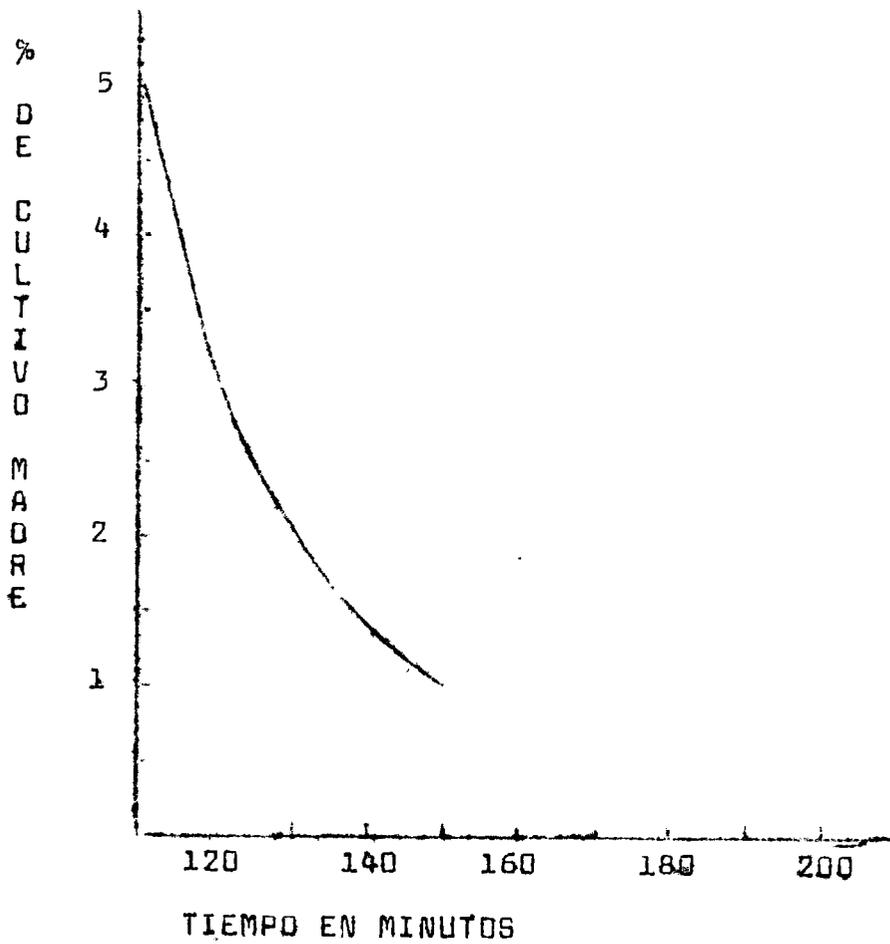
GRAFICA 5

CULTIVO MADRE, ACIDEZ : 1,29 g % DE ACIDO LACTICO



GRAFICA 6

CULTIVO MADRE, ACIDEZ : 1.33 g % DE ACIDO LACTICO



Para 1 % de inóculo 155 minutos de tiempo de cuajado.

"	2 %	"	"	140	"	"	"	"	"
"	3 %	"	"	130	"	"	"	"	"
"	4 %	"	"	125	"	"	"	"	"
"	5 %	"	"	120	"	"	"	"	"

La gráfica número 6 representa los yoghurts fabricados con un cultivo madre de 1.33 g. % de Acido Láctico, casi el límite superior normal y se obtuvieron los siguientes tiempos:

Para 1 % de inóculo 150 minutos de tiempo de cuajado.

"	2 %	"	"	130	"	"	"	"	"
"	3 %	"	"	120	"	"	"	"	"
"	4 %	"	"	115	"	"	"	"	"
"	5 %	"	"	110	"	"	"	"	"

A continuación y en forma comparativa haré notar -- los detalles más sobresalientes de cada una de las gráficas a la vez que las relaciono a las demás.

Estos detalles son exclusivamente los tiempos de -- cuajado en minutos que existen entre la abcisa y los dis- - tintos porcentajes; y la diferencia en tiempo entre el porcentaje máximo y el mínimo.

En la gráfica número 1 encontramos que con 5 % de -- inóculo se obtuvo un tiempo de cuajado de 125 minutos y con 1 %, 165, o sea que la diferencia entre el porcentaje máximo y el mínimo es de 40 minutos.

Esta curva en 5 % está a sólo 15 minutos de la aboj sa y en 1 % está a 55 minutos.

En la gráfica número 2 encontramos que con 5 % de inóculo hay un tiempo de 140 minutos y en 1 % el tiempo es de 180, la diferencia son 40 minutos, o sea, la curva es idéntica a la anterior, pero ésta se aleja de la abscisa 30 minutos en 5 % y 70 en 1 %, entonces hay una diferencia de 15 minutos entre una y otra. Esta diferencia se observará también en los porcentajes intermedios, ya que las dos curvas son iguales.

En la gráfica número 3 se observa que con 5 % de inóculo se obtuvo un tiempo de 155 minutos y 195 para 1 %, habiendo una diferencia de 40 minutos también, lo que nos demuestra que la curva de la gráfica 3 es igual a las anteriores, pero ésta se aleja todavía más de la abscisa siendo en este caso 45 minutos para 5 % y 85 para 1 %.

En las gráficas números 4 y 5 se presenta una situación diferente.

La gráfica número 4 en 5 % de inóculo se encuentra en 135 minutos y 1 % en 180, siendo la diferencia entre una y otra 45 minutos, mientras que en las gráficas números 1, 2 y 3 es sólo de 40 minutos, pero aquí hay que hacer notar que entre 1 y 2 % el tiempo se prolonga 5 minutos, siendo igual para los porcentajes 2, 3 y 4.

Esta curva se acerca nuevamente a la abscisa y es muy parecida a la gráfica número 2, ya que la diferencia entre éstas son los 5 minutos que tiene de más la gráfica 4 entre los porcentajes 1 y 2 %.

En la gráfica número 5 tenemos que 5 % de inóculo -

está en 120 minutos y en 1 % en 155, siendo la diferencia - 35 minutos, mientras que en las gráficas números 1, 2 y 3 - es de 40 y en la gráfica número 4 es de 45. La razón de esta diferencia se observa entre los porcentajes 1 y 2 %, - pues hay un tiempo de 15 minutos mientras que en las gráficas números 1, 2 y 3 es 20 minutos y de 25 en la gráfica número 4.

Se aproxima todavía más a la abcisa que la gráfica anterior, pues 5 % se encuentra a sólo 10 minutos de la abcisa y la gráfica 1 está a 15 minutos.

En la gráfica número 6 encontramos una curva idéntica a las números 1, 2 y 3, nada más que aquí la curva en 5% está totalmente pegada a la abcisa. 5 % de inóculo está a los 110 minutos y 1 % a 150; la diferencia vuelve a ser de 40 minutos, situación idéntica a 1, 2 y 3.

La razón por la que las gráficas se acercan o se alejan de la abcisa y por lo que 4 y 5 son un poco diferentes al resto es la acidez del cultivo madre.

Según los europeos un buen yoghurt debe cuajar en 3 horas con porcentajes de 2 a 2,5 %. De las presentes gráficas y atendiendo a esta norma europea, sólo nos servirían las gráficas números 2, 3 y 4 de las que presento, pero entre la 3 y la 4 hay una diferencia enorme en lo que respecta a acidez del cultivo, de tal manera que si graficamos con cultivos de acidez intermedia encontraremos una gran cantidad de gráficas adecuadas a éste propósito. No las incluyo porque el objeto de este trabajo es precisamente lo -

contrario, abreviar el tiempo.

Al investigar sobre este tema obtuve en las gráficas 1, 5 y 6 tiempos menores con los mismos porcentajes, (2 y 2.5 %) de inóculo y el producto no presentó cambios notorios.

Aquella persona interesada en la fabricación de este producto no tiene que hacer otra cosa que una serie de experiencias graduales en acidez, en porciento de inóculo y graficar contra tiempo, para de esta manera elegir el porcentaje y el cultivo para trabajar. Esto debe salir más bien de la experiencia de la persona en la fabricación.

Ahora, lo indicado es procurar tener siempre un cultivo madre con una acidez dada y buscar la forma de mantener la acidez en ese grado, para lo cual se puede elaborar un trabajo similar a éste, haciéndolo a partir de una cepa nueva que haya sido resemebrada tres o cuatro veces y establecerle los límites máximos y mínimos de acidez, hacer gráficas y elegir según la experiencia del laboratorista cómo se va a trabajar.

Los resultados de mi experiencia en la fabricación están en esta parte experimental y lo que de este trabajo obtuve se encontrarán en las conclusiones.

## CONCLUSIONES.

1.- Si puede acortarse el tiempo de cuajado del yoghurt, como quedó demostrado en las gráficas enumeradas con arábigos.

2.- No es conveniente usar un cultivo de poca acidez ni uno en que sea muy elevada por lo que creo es apropiado reducir las cifras normales del yoghurt europeo ( - - 0.9625-1.3500 g. % de Acido Láctico) a las cifras encontradas al realizar este trabajo; estas fueron 1.05-1.25 g. % de Acido Láctico. Se explicó que hasta con 1 % se obtienen tiempos menores.

3.- La reducción en tiempo empleando cultivos madres con acidez de 1.05-1.25 logran un cuajado con tiempos comprendidos entre 2.15 a 3.15 horas, lo que nos proporciona la ventaja de fabricar lo mismo un yoghurt normal que uno con menos tiempo de cuajado en magníficas condiciones organolépticas dependiendo únicamente del porcentaje usado. La demostración más palpable de esta aseveración nos la da la gráfica número 3 donde podemos apreciar que con 5 % tenemos un tiempo de cuajado de 2.35 horas; con 4 %, 2.40 horas con 3 %, 2.45 horas; con 2 %, 2.55 horas y con 1 %, 3.15 horas.

4.- Cuando se desée reducir aún más el tiempo, el camino a seguir es utilizar un cultivo con acidez superior a la establecida en esta tesis, sacrificando un poco la calidad del producto.

En la gráfica número 5 podemos apreciar esta reducción elevada hasta 2 horas empleando 5 % o 2.35 horas empleando 1 %.

En la gráfica número 6 es posible reducirlo aún más : a 1.50 horas con 5 % de cultivo.

5.- Los resultados que se obtuvieron procurando que bacterias y leche al estar en contacto unas con la otra - fuera de 45°C. es necesario ver que variación de temperatura hay ya que los cultivos normalmente están en refrigeración a 4°C. como se ceti en el Capítulo 5 ( Parte Experimental ).

Para trabajos en escala industrial habrá necesidad de investigar ésto relacionándolo a los volúmenes empleados.

## BIBLIOGRAFIA.

- 1.- HANDBUCH FÜR MOLKEREIFACHLEUTE.  
Helmut Niemeyer  
5a. ed. 1959  
Verlag Th. Mann; Hildesheim  
pp. 445 y sigts.
- 2.- ECOLE CANTONALE DE FROMAGERIE " GRANGE NEUVE "  
Fribourg, Suisse.  
Boletín.
- 3.- MICROSILOGIA INDUSTRIAL.  
Alfredo Sánchez Marroquín, D.Sc.  
Ed. Química, 1961  
pp. 196 y sigts.
- 4.- MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL.  
Samuel Cate Prescott, D.Sc.  
Cecil Gordon Dunn, Ph.D.  
2a. ed, 1952  
Ed. Aguilar, S.A.  
pp. 476 y sigts.
- 5.- ENCICLOPEDIA DE LA LECHE.  
César Agenjo Cecilia  
Ed. Espasa Galpe. Madrid, 1956  
pp. 445 y sigts., 801 y sigts.
- 6.- CONTROL DIFERENCIAL DE ESPECIALIDADES MEDICINA  
LES CONTENIENDO GERMENES LACTICOS.  
Tesis, U.N.A.M., 1956
- 7.- INDUSTRIAS LACTEAS.

Revista

Vol. 10, Núm. 6, junio de 1961

Pag. 10

8.- BACTERIOLOGIA E INMUNIDAD.

Topley, Wilson & Miles

Salvat editores, S.A., 1953

Pág. 579 y sigts.