

tran actividad proteolitica y sustancias aromáticas para el verdadero yogur búlgaro que, a consecuencia de la buena simbiosis de nuevas ramas fueron conseguidas estreptococcus termófilus y lactobacterium bulgaricum, separados, depurados y clasificados por los inventores.

5

Se conoce que para la producción de yogur búlgaro, se utilizan ramas de estreptococcus termófilus y lactobacterium bulgaricum que muestran una buena relación mutua simbiótica. Algunos de ellos se publicaron en el certificado de propiedad búlgara N° 10 640, en el que se describe una nueva técnica para la producción del yogur búlgaro.

10

La tarea del presente invento es el utilizar las posibilidades para la producción de cultivos de levadura mucho mas efectivos y con propiedades mucho mejores de funcionamiento, garantizando así la producción de yogur búlgaro con mayor alimento y con marcado sabor y aroma.

15

La tarea consiste en separar, depurar, y diferenciar nuevas ramas activas de estreptococcus termófilus y lactobacterium bulgaricum que muestran una buena simbiosis, pudiendo producirse así cultivos de levadura mas activos, con mejores propiedades de funcionamiento.

20

La tarea, según el invento, se resuelve en que nuevas ramas de estreptococcus termófilus y lactobacterium bulgaricum se separan, se depuran y se diferencian los cuales muestran, como ventaja y en comparación a las ramas conocidas hasta ahora y utilizadas para este fin, una mejor característica biológica y morfológica, mejores propiedades proteolíticas (especialmente las ramas de lactobacterium bulgaricum), buena simbiosis, muy buena capacidad de formar sustancias

25

.../...

aromáticas consiguiéndose, a consecuencia de esta simbiosis, cultivos de levadura mas activos y con combinaciones de, esencialmente, mejores propiedades de funcionamiento para la producción del verdadero (original) yogur bulgaro de leche de oveja ó de vaca.

Estas ramas se separan de cultivos naturales de levadura, leche prima, plantas y nata prima. Después de una triple depuración, estos quedan diferenciados según las características indicadas por Sehleman, Berge, Rogosa y Charp y ciertamente: determinación de la temperatura óptima de desarrollo y reducción de la leche lakmus. La apreciación organoléptica, momento de coagulación, contenido limite de ácido. Características morfológicas de las colonias y las células. Aumento de leche con 0'1% de azul de metileno, Aumento en Bouillón (leche hidrolizada ó M R S) con pH 9'2 y 9'6. Aumento en Bouillón (leche hidrolizada ó M R S) con 2'4 y 6% de bilis. Aumento en Bouillón (leche hidrolizada ó M R S) con 2'4 y 6'5 % de sal. Desarrollo en Bouillón de esculin. Prueba de catalasa. Formación de diacetil. Fermentación de los tipos de azúcar. Actividad proteolítica indicada según el número y cantidad de los aminoácidos libres. Desarrollo en Bouillón (M R S) y leche con fenol. Resistencia térmica. Determinación de la homo- y heterofermentatividad. Substancias aromáticas.

Tablas: Streptococcus termófilus N^{os} 12, 14, 18,
22 lactobacterium bulgaricum N^{os} 5, 37,
26, 144.

.../...

Estas ramas son las siguientes:

1. Estreptotermófilo Nº, Nº 12, 14, 18, 22

| Características | Nº 12 | Nº 14 |
|---|------------------------------|-------------------------|
| Procedencia | Dorf Grastiza-(Bulgaria) | Dorf Dalboki-(Bulgaria) |
| 5 Morfología | | |
| a) Tipo de colonia en el aumento de la superficie | Pequeño, redondo | redondo |
| b) Cuadro microscópico | Diplococcus y cadenas cortas | |
| Apreciación organoléptica | | |
| 10 a) Consistencia | gelatinoso | gelatinoso |
| b) Aroma | ácido láctico | |
| c) Sabor | ácido láctico | |
| Temperatura óptima de desarrollo | 45°C | 45°C |
| 15 Reducción | Reducción roja | |
| Desarrollo con 10°C | - | - |
| - " - 23°C | 3 días | 3 días |
| - " - 32°C | 14 horas | 14 horas |
| - " - 37°C | 6'30 horas | 7 horas |
| - " - 50°C | 12 horas | 12 horas |
| 20 Contenido límite de ácido | 124°T | 123°T |
| Aumento en leche en 0'1% en azul de metileno | - | - |
| Momento de coagulación | 6 - 8 horas | 6 - 8 horas |
| 25 Evolución en bouillón con pH 9,2 y 9,6 | - | - |
| Evolución en Bouillón con 2,4, 6% bilis | - | - |
| Evolución en Bouillón con 2,4, 6'5 % sal | - | - |

.../...

| | | | |
|----|---|--|---|
| | Evolución en Bouillon de esculin | - | - |
| | Prueba de catalasa | - | - |
| | Formación de Diacetil (Voges-Proskauer) | - | - |
| 5 | Fermentación de los tipos de azúcar | fermentan, glucosa, sacarosa y lactosa | |
| | Resistencia térmica | | |
| | 63° - 30 minutos | + | + |
| | 65° - 30 minutos | + | + |
| 10 | 75° - 30 minutos | - | - |

| | Actividad proteolítica indicada en aminoácidos libres según el tipo y cantidad | 8 horas | 48 horas | 15 días | 8 horas | 48 horas | 15 días |
|----|--|---------|----------|---------|---------|----------|---------|
| | | (1) | (2) | (3) | (4) | (5) | (6) |
| 15 | 1. Acido Cistain | - | - | - | - | - | - |
| | 2. X 1,2,3,4,6 | +++++ | +++++ | +++++ | +++++ | +++++ | +++++ |
| | 3. Acido asparagimico | 0,026 | 0,020 | 0,018 | 0,021 | 0,018 | 0,019 |
| | 4. Sulfona de metionina | - | - | - | - | - | - |
| | 5. Treonina | 0,008 | 0,011 | 0,009 | 0,006 | 0,009 | 0,011 |
| 20 | 6. Serina | 0,015 | 0,017 | 0,019 | 0,018 | 0,024 | 0,018 |
| | 7. Acido glutámico | 0,124 | 0,140 | 0,116 | 0,096 | 0,110 | 0,121 |
| | 8. Prolina | 0,050 | 0,045 | 0,064 | 0,056 | 0,051 | 0,061 |
| | 9. Glicina | Rasgos | 0,014 | 0,010 | 0,010 | 0,015 | 0,011 |
| | 10. Alanina | 0,039 | 0,059 | 0,054 | 0,023 | 0,047 | 0,057 |
| 25 | 11. 1/2 Cistina | - | - | - | - | - | - |
| | 12. X 7 | + | + | + | + | + | + |
| | 13. Valina | Rasgos | Rasgos | 0,005 | Rasgos | Rasgos | 0,006 |
| | 14. X 8 | Rasgos | Rasgos | Rasgos | Rasgos | Rasgos | Rasgos |
| | 15. Metionina | " | " | " | " | " | " |

.../...

| | | | | | | | |
|----|------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 16. Isolencina | " | " | " | " | " | " |
| | 17. Leucina | " | " | " | " | " | " |
| | 18. X 9 | + | + | + | + | + | + |
| | 19. Tirosina | - | - | Rasgos | - | - | - |
| 5 | 20. Fenilalamina | - | - | Rasgos | - | - | Rasgos |
| | 21. X 10, 11, 12 | +++ | +++ | +++ | Rasgos | Rasgos | +++ |
| | 22. Lisina | Rasgos | Rasgos | Rasgos | Rasgos | + | + |
| | 23. Histidina | Rasgos | Rasgos | 0,013 | Rasgos | Rasgos | 0,015 |
| | 24. Amoniaco | + | + | + | + | + | + |
| 10 | 25. Arginina | Rasgos | - | Rasgos | Rasgos | - | - |

Observación: La cantidad de aminoácidos esta indicada en micromoles en 1 ml de leche coagulada

X = Significa aminoácidos no conocidos

| Características | | Nº 18 | Nº 22 |
|-----------------|--|------------------------------|---------------------------|
| 15 | Procedencia | Dorf Dalboki - (Bulgaria) | Dorf Preslavez (Bulgaria) |
| | Morfología | | |
| | a) Tipo de colonia en el crecimiento en superficie | Pequeño, redondo | pequeño, redondo |
| | b) Cuadro microscópico | Diplococcus y cadenas cortas | |
| 20 | Apreciación organoléptica | | |
| | a) Consistencia | cremoso | |
| | b) Aroma | ácido láctico | |
| | c) Sabor | ácido láctico | |
| 25 | Temperatura óptima de evolución | 45° | 45° |
| | Reducción | reducción roja | |
| | Evolución por 10°C | - | - |
| | " " 23°C | 3 días | 4 días |
| | " " 32°C | 12 horas | 15 horas |

.../...

| | | | | |
|----|--|-----------|--|-----------|
| | " " | 37°C | 6,30 horas | 15 horas |
| | " " | 50°C | 12 horas | 15 horas |
| | Contenido limite de ácidos | | 120°T | 144°T |
| 5 | Aumento en leche con 0,1% de azul de metileno | - | - | - |
| | Momento de coagulación | 6-8 horas | | 6-8 horas |
| | Evolución en bouillón con pH 9'2 y 9'6 | - | | - |
| | Evolución en bouillón con 2'4 y 6% de bilis | - | | - |
| 10 | Evolución en bouillón en 2,4 y 6,5% de sal | - | | - |
| | Evolución en bouillón de esculina | - | | - |
| | Prueba de catalasa | - | | - |
| | Formación de dia- cetil(vogen-proskauer) | - | | - |
| 15 | Fermentación de tipos de azúcar | | fermentan, glucosa, sacarosa y lactosa | |
| | Resistencia térmica | | | |
| | 63° - 30 minutos | + | | + |
| | 65° - 30 minutos | + | | + |
| 20 | 75° - 30 minutos | - | | - |

| | 8 ho- ras | 48 ho- ras | 15 días | 8 ho- ras | 48 ho- ras | 15 días |
|--|--------------|---------------|------------|--------------|---------------|---------|
| Actividad proteo- lítica indicada en aminoácidos li- bres según el tipo y cantidad | (1) | (2) | (3) | (4) | (5) | (6) |
| 25 1. Acido Cistain | - | - | - | | | |
| 2. X 1,2,3,4,6 | +++++ | +++++Sp. | +++++ | | | |
| 3. Acido asparagínico | 0,023 | 0,023 | 0,017 | + | - | - |
| 4. Sulfona de metioni- na | - | - | - | - | - | - |
| 30 5. Treonina | 0,011 | 0,008 | 0,011 | - | - | + |
| 6. Serina | 0,108 | 0,021 | 0,015 | + | ++ | ++ |
| | | | | | .../... | |

| | | | | | | |
|----|--------------------|--------|--------|--------|---|--------|
| | 7. Acido glutámico | 0,060 | 0,061 | 0,031 | + | + |
| | 8. Prolina | Rasgos | 0,035 | 0,055 | + | ++ |
| | 9. Alanina | - | 0,035 | 0,032 | | Rasgos |
| | 10. Glicina | 0,018 | 0,013 | 0,011 | + | ++ |
| 5 | 11. 1/2 Cistina | - | - | - | - | - |
| | 12. X 7 | + | + | + | | |
| | 13. Valina | Rasgos | Rasgos | 0,008 | - | - |
| | 14. Metionina | Rasgos | Rasgos | + | - | - |
| | 15. Isolencina | - | - | 0,006 | + | + |
| 10 | 16. Leucina | Rasgos | Rasgos | 0,005 | | |
| | 17. X 9 | Rasgos | + | + | | |
| | 18. Tirosina | - | - | Rasgos | - | - |
| | 19. Fenilalanina | - | - | Rasgos | - | - |
| | 20. X 10, 11, 12 | Rasgos | Rasgos | ++++ | - | - |
| 15 | 21. Lisina | Rasgos | Rasgos | + | - | - |
| | 22. Histidina | Rasgos | Rasgos | 0,015 | | |
| | 23. Amoniaco | + | + | + | | |
| | 24. Arginina | + | - | - | | |

X . Significa aminoácidos no conocidos

20 2. Lactobacilo Bulgarico Nº, Nº 5, 37, 26 y. 144

| Características | Nº 5 | Nº 37 |
|---------------------------|----------------------------------|--------------------------|
| Procedencia | Dorf Dalboki- (Bulgaria) | Dorf Hristene-(Bulgaria) |
| Morfología | | |
| 25 a) Tipo de colonia | R - Colonias | S - Colonias |
| Cuadro microscopico | Palitos cortos con granos voluta | |
| Tamaño de la celula | 5 - 10 μ | 4 - 8 μ |
| Apreciación organoleptica | | |

| | | | |
|----|---|------------------------------|-----------------------|
| | a)Consistencia | | ligeramente granuloso |
| | b)Aroma | ácido láctico | especifico |
| | c)Sabor | marcado saor a ácido láctico | |
| | Temperatura óptima de evolución | - | 45°C |
| 5 | Evolución por 15°C | - | - |
| | " 32°C | 23 horas | 20 horas |
| | " 37°C | 11 horas | 10 horas |
| | " 50°C | 9,30 horas | 12,30 horas |
| | Momento de coagulación | 7 - 8 horas | 7 - 8 horas |
| 10 | Contenido limite de ácido 141 ^o T | | 176 ^o T |
| | Crecimiento en leche con 0'1% de azul de metileno | | - |
| | Evolución en bouillón con pH 9,2 | | - |
| 15 | Evolución en bouillón con 2,4 y 6% de bilis | | - |
| | Evolución en bouillón con 2, 4 y 6,5% de sal | 2% + | 2% + |
| | Evolución en bouillón de esculin | - | - |
| | Reacción para hetero y homofermentatividad | | homofermentatividad |
| 20 | Formación de amoniaco de ar - ginina | | - |
| | Resistencia térmica | | |
| | 63° - 30 minutos | + | + |
| | 65° - 30 minutos | + | + |
| 25 | 70° - 30 minutos | - | - |
| | Evolución en leche y bouillón con fenol | | |
| | a) MRS en bouillón con | | |
| | 0,1% fenol | + | + |
| | 0,2% " | - | - |
| 30 | b) Leche con | | |
| | 0,1% fenol | + | + |
| | 0,2% " | + | + |
| | 0,3% " | + | + |

.../...

0,4% fenol

Fermentación de los tipos de azúcar

Fermentan glucosa y lactosa

Prueba de catalasa

| | 8 ho- ras | 48 ho- ras | 15 dias | 8 ho- ras | 48 ho- ras | 15 dias |
|----|--|---------------|------------|--------------|---------------|---------|
| 5 | Actividad proteolítica indicada en aminoácidos libres según el tipo y cantidad | | | | | |
| | 1. Acido Cistain | | | | | |
| | 2. X 1,2,3,4,6 | | | | | |
| 10 | 0,034 | 0,179 | 0,134 | 0,043 | 0,084 | 0,137 |
| | 4. Sulfona de metionina | | | | | |
| | 5. Treonina | | | | | |
| | 6. Serina | | | | | |
| | 7. Acido Glutámico | | | | | |
| 15 | 0,385 | 0,772 | 0,575 | 0,680 | 0,669 | 0,959 |
| | 9. Glicina | | | | | |
| | 10. Alanina | | | | | |
| | 11. 1/2 Cistina | | | | | |
| | 12. X 7 | | | | | |
| 20 | 0,224 | 0,583 | 0,375 | 0,258 | 0,269 | 0,382 |
| | 14. Metionina | | | | | |
| | 15. Isolencina | | | | | |
| | 16. Leucina | | | | | |
| | 17. X 9 | | | | | |
| 25 | 0,054 | 0,145 | 0,106 | Rasgos | 0,015 | 0,021 |
| | 19. Fenilalanina | | | | | |
| | 20. X 10,11 | | | | | |
| | 21. Lisina | | | | | |
| | 22. Histidina | | | | | |
| 30 | 23. Amoniaco | | | | | |
| | 24. Arginina | | | | | |

.../...

Observación: La cantidad de aminoácidos está indicada en micromoles en 1 ml de leche coagulada

X = significa aminoácidos no conocidos

| Características | Nº-144 | Nº 26 |
|---|----------------------------------|-------------------------|
| 5 Procedencia | Dorf Novo Selo (Bulgaria) | Dorf Grastiza(Bulgaria) |
| Morfología | | |
| a)Tipo de colonia | R - Colonias | S - Colonias |
| Cuadro microscopico | Palitos cortos con granos voluta | |
| 10 Tamaño de la celula | 5 - 8 μ | 5 - 10 μ |
| Apreciación organoleptica | | |
| a)Consistencia | ligeramente granuloso | |
| b)Aroma | ácido láctico | especifico |
| 15 c)Sabor | Marcado sabor a ácido láctico | |
| Temperatura óptima de evolución | Coagulación en 6 - 7 horas | |
| Evolución por 15°C | 20 horas | 19,30 horas |
| " 32°C | 20 horas | 19,30 horas |
| " 37°C | 11 horas | 10 horas |
| 20 " 50°C | 7,30 horas | 8,30 horas |
| Momento de coagulación | 7 - 8,40 horas | 6,8 horas |
| Contenido limite de ácido | 189°T | 225°T |
| Crecimiento en leche con 0'1% de azul de metileno | - | - |
| 25 Evolución en bouillon con pH 9, 2 | - | - |
| Evolución en Bouillon con 2,4 y 6% de pilis | - | - |
| Evolución en bouillon con 2, 4 y 6'5% de sal | 2% + | 2% + |

.../...

| | | | |
|----|--|---|-----------------------------|
| | Evolución en bouillón de esculín | - | - |
| | Reacción para hetero y homofermentatividad | | para todos homofermentativo |
| | Formación de amoniaco de arginina | - | - |
| 5 | Resistencia térmica | | |
| | 63° - 30 minutos | + | + |
| | 65° - 30 minutos | + | + |
| | 70° - 30 minutos | - | - |
| 10 | Evolución en leche y bouillón con fenol | | |
| | a) MRS en bouillón con | | |
| | 0,1% fenol | + | + |
| | 0,2% " | - | - |
| | b) Leche con | | |
| | 0,1% fenol | + | + |
| | 0,2% " | + | + |
| | 0,3% " | + | + |
| 15 | 0,4% " | - | - |
| | Fermentación de los tipos de azúcar | | Fermentan glucosa y lactosa |
| | Prueba de catalasa | - | - |

| | | | | | | | |
|----|--|--------------|---------------|------------|--------------|---------------|---------|
| 20 | Actividad proteolítica indicada en aminoácidos libres según el tipo y cantidad | 8 ho- ras | 48 ho- ras | 15 dias | 8 ho- ras | 48 ho- ras | 15 dias |
|----|--|--------------|---------------|------------|--------------|---------------|---------|

| | | | | | | | |
|----|-------------------------|-------|-------|-------|-------|--|-----|
| | 1. Acido Cistain | - | - | | | | |
| | 2. X, 1, 2, 3, 4, 6 | | | | | | |
| 25 | 3. Acido asparagínico | +++++ | +++++ | +++++ | ++ | | + * |
| | | 0,066 | 0,098 | 0,200 | | | |
| | 4. Sulfona de metionina | - | - | - | | | |
| | 5. Treonina | 0,096 | 0,128 | 0,199 | ++ | | + |
| | 6. Serina | 0,268 | 0,312 | 0,486 | + | | + |
| | 7. Acido glutámico | 0,835 | 0,825 | 1,380 | +++++ | | ++ |

.../...

| | | | | | | | |
|----|------------------|--------|--------|--------|-------|----|-------|
| | 8. Prolina | 0,768 | 0,757 | 1,320 | +++++ | ++ | ++++ |
| | 9. Glicina | 0,020 | 0,049 | 0,082 | + | | + |
| | 10. Alanina | 0,041 | 0,134 | 0,319 | ++ | | ++ |
| | 11. 1/2 Cistina | - | - | - | | | |
| 5 | 12. X 7 | Rasgos | Rasgos | Rasgos | | | |
| | 13. Valina | 0,356 | 0,345 | 0,576 | +++++ | | +++++ |
| | 14. Metionina | 0,041 | 0,041 | 0,076 | +++++ | | +++++ |
| | 15. Isolencina | 0,168 | 0,173 | 0,304 | +++ | | ++ |
| | 16. Leucina | 0,198 | 0,217 | 0,383 | | | |
| 10 | 17. X 9 | Rasgos | Rasgos | Rasgos | | | |
| | 18. Tirosina | 0,050 | 0,050 | 0,085 | +++ | | ++ |
| | 19. Fenilalanina | 0,067 | 0,084 | 0,148 | ++ | | |
| | 20. X 10, 11, -- | ++ | ++ | ++ | | | |
| | 21. Lisina | 0,185 | 0,177 | 0,312 | +++ | | +++ |
| 15 | 22. Histidina | 0,161 | 0,104 | 0,184 | ++ | | |
| | 23. Amoniaco | + | + | + | | | |
| | 24. Arginina | 0,077 | 0,088 | 0,153 | +++ | | + |

X = Significa aminoácidos no conocidos

De las ramas descritas de estreptococcus termófilus y lactobacterium bulgaricum se producen 300 combinaciones de cultivo de levadura de la siguiente manera: recipientes que contienen cada uno 100 ml de leche de vaca estéril a una temperatura de 45°C (±1°C) se vacuna cada uno con 1 ml de cada rama de estreptococcus termófilus y lactobacterium bulgaricum. La leche acidificada (en los recipientes) se termostatiza a +45°C. Se observa el tiempo de coagulación. Las combinaciones con una coagulación de 2 horas se separan y se examinan microscópicamente. Las combinaciones que muestran una morfología normal de las células de ambas ramas se separan de nuevo. Finalmente, cada 100 ml de leche esteril de oveja ó una mezcla de leche de vaca y de oveja en una relación 1:1 se vacuna con

.../...

1% de las combinaciones separadas de cultivo de levadura. Cada semana, durante 4 meses, se efectua una vacuna en un mismo medio. Después de otros dos meses se vacuna semanalmente leche de vaca con 1% del correspondiente cultivo de levadura. Durante esos 6 meses, en cada vacunación se observa el tiempo de coagulación, el cuadro microscópico y la relación entre estreptococcus termófilus y lactobacterium bulgaricum. Si las células de ambos microorganismos no se cambian morfológicamente durante este periodo y la relación entre ambos en las combinaciones de cultivo de levadura demuestra estabilidad, se separan para una prueba en relaciones de funcionamiento. Antes se realiza una degustación de yogur producido en condiciones de laboratorio, de las combinaciones individuales según las características indicadas a continuación.

De las 300 combinaciones se separan 7. En las 7 combinaciones elegidas, las ramas de estreptococcus termófilus y lactobacterium bulgaricum, muestran muy buena simbiosis y una relación estable.

La valoración de los nuevos cultivos de levadura para la producción de yogur se efectua según las siguientes características:

1.- Cuadro microscópico del cultivo de levadura que se mete inmediatamente después de la coagulación en una nevera a + 4°C durante 24 horas. Las características morfológicas observadas del estreptococcus termófilus deben corresponder a diplococos bien formados y de buen colorido y las de lactobacterium bulgaricum palitos compactos bien definidos, por separado, en pares ó como cadenas cortas. La rela-

.../...

ción entre ambos microorganismos debe variar del 1:3 - 1:10.

2.- El tiempo de coagulación se observa a +45°C ($\pm 1^\circ\text{C}$), por lo que se utiliza un 1% de cultivo de levadura.

5 3.- Apreciación organoléptica - se realiza en pruebas producidas de leche de vaca homogenizada, por lo que la leche se pasteuriza durante 30 minutos a 95°C. Las pruebas se enfrían y se acidifican a + 45°C con 1% de los cultivos de levadura examinados. Las pruebas se termostatan a 45°C. Después de la coagulación las pruebas permanecen a 10 temperatura ambiente hasta que se alcance el grado de acidez de 75°T, después de lo cual se meten en la nevera a una temperatura de + 4°C. La degustación se realiza a las 24 horas después de la regulación de temperatura de las pruebas a 15 temperatura ambiente.

La apreciación organoléptica se efectúa según las siguientes características: aspecto del coágulo, color, consistencia y estructura, rotura, sabor y aroma. Después se 20 determinan los ácidos volátiles, grado de acidez en grados Toerner y pH, los aminoácidos libres, según calidad y cantidad, las sustancias aromáticas y la actividad de los cultivos de levadura en forma liofilizada, seca y líquida:

a) por medio del procedimiento de dilución de límite y lectura del número de estreptococcus termófilus y lactobacterium bulgaricum y su relación según Mackredí y 25

b) durante la coagulación para el cultivo de levadura liofilizada seca (0.1 gr en 100 ml de leche esteril de vaca) en 3'30 horas y para el cultivo de levadura líquida (1ml en 100 ml de leche esteril de vaca) - leche natural ó leche desnatada) 30 en 2 horas. Los cultivos de levadura para la producción de yogur nºs 5-12, 5-22, 37-12, 37-18, 26-12, 144-12, y 144-14 se caracterizan por lo siguiente:

.../...

| Características | 5-12 | 5-22- | 37-12 | 37-18 |
|-----------------------|---|-------|-------|--------|
| Cuadro microscópico | Diplococos, medianamente largos, palitos compactos, individuales en pares o como cadenas cortas | | | |
| Tiempo de coagulación | Para todos 2 horas a +45°C (1 ml por 100 ml) para todos 3,30 horas (0,1 gr seco por 100 ml) | | | |
| 5 Aspecto del coágulo | | | | |
| a) Consistencia | densa para todos | | | |
| b) Rotura | con tersura reluciente para todos | | | |
| c) Sabor y aroma | especifico, bien marcado para todos | | | |
| 10 Aminoácidos libres | | | | |
| Leucina | | | +++ | +++ |
| Fenilalanina | | | | |
| Triptofano | | | | |
| Metionin de valina | +++++ | +++++ | | Rasgos |
| 15 Tirosina | +++ | +++ | | + |
| Aminoácido oleico | + | + | | |
| Prolina | ++++ | +++++ | +++ | +++++ |
| Alfaalomina | +++ | +++ | +++ | +++++ |
| Treonina | + | + | | |
| 20 Acido glutamico | ++ | +++++ | ++ | +++ |
| Serina de glicina | | | ++ | |
| Serina | | | | + |
| Acido de aspargina | | | | |
| Aspargina | | | | |
| 25 Histidina | | | | Rasgos |
| Lisina | ++ | + | | |
| Ornitina | | + | | |
| Cistidina | | | +++ | |

.../...

Oxiprolina

+

Actividad

a) Cultivo líquido de levadura

| | | | | |
|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| St. Thermophilus | 575 Mill/ml | 550 Mill/ml | 962 Mill/ml | 580 Mill/ml |
| Lb. Bulgaricum | 211 Mill/ml | 242 Mill/ml | 309 Mill/ml | 250 Mill/ml |

5 b) Cultivo seco de levadura

| | | | | |
|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| St. Thermophilus | 4.500 Mill/g | 4.500 Mill/g | 4.500 Mill/g | 2.500 Mill/g |
| Lb. Bulgaricum | 45 Mill/g | 45 Mill/g | 9.5 Mill/g | 9.5 Mill/g |

| | | | | |
|------------------|-------|-------|-------|-------|
| Acidos volátiles | 15.60 | 15,40 | 18,20 | 15,60 |
|------------------|-------|-------|-------|-------|

| | | | |
|--------------------|-------|--------|--------|
| 10 Características | 26-12 | 144-12 | 144-14 |
|--------------------|-------|--------|--------|

Cuadro microscópico Diplococos, medianamente largos, palitos compactos, individuales en pares ó como cadenas cortas

Tiempo de coagulación Para todos 2 horas (1 ml por 100 ml) 3,30 horas (0,1 gr seco por 100 ml)

15 Aspecto del coagulo

a) Consistencia densa para todos
 b) Rotura con tersura reluciente para todos
 c) Sabor y aroma específico bien marcado para todos

Aminoácidos libres

| | | | |
|--------------------|------|-------|------|
| 20 Leucina | +++ | + | ++ |
| Fenilalanina | | + | + |
| Metionin de valina | ++ | +++++ | +++ |
| Tirosina | ++ | ++ | + |
| Aminoácido oleico | | + | ++ |
| 25 Prolina | ++++ | ++++ | ++++ |
| Alfaalomina | +++ | +++ | ++++ |
| Treonina | | | |
| Acido glutamico | + | ++++ | ++++ |
| glicina | + | | + |

30 Serina

Acido de aspargina Rasgos

.../...



Aspargina Rasgos

Histidina

Lisina Rasgos

Ortinitina

5 Cistina

Oxiprolina

Triptofano

Actividad

a) Cultivo líquido de levadura

| | | | | |
|----|------------------|---------------|---------------|-------------|
| 10 | St. Thermophilus | 1.983 Mill/ml | 1.300 Mill/ml | 783 Mill/ml |
| | Lb. Bulgaricum | 497 Mill/ml | 213 Mill/ml | 383 Mill/ml |

b) Cultivo seco de levadura

| | | | | |
|--|------------------|--------------|--------------|---------------|
| | St. Thermophilus | 2.500 Mill/g | 4.500 Mill/g | 4.500 Mill/ml |
| | Lb. Bulgaricum | 2.5 Mill/g | 9.5 Mill/g | 45 Mill/g |
| | Acidos volátiles | 15,60 | 17,60 | 15,20 |

15 Observación: Los cultivos de levadura 144-12 y 144-14 muestran en relaciones especiales tecnológicas una consistencia mucilaginososa y se utilizan por lo tanto en la producción de depósito de yogur del tipo "Mladost".



NOTA REIVINDICATORIA
= = = = =

En esta Patente de Invención se reivindica:

1.- Procedimiento para la producción de cultivos de levadura para yogur búlgaro, caracterizado por comprender las siguientes operaciones sucesivas:

- inoculación de leche de vaca estéril con una combinación de las siguientes especies: lactobacterium bulgaricum y estreptococcus termófilus, a saber: lactobacterium bulgaricum nums. 5, 26, 37, 144, y estreptococcus termófilus nums. 12, 14, 18, 22.

- coagulación de lo inoculado;

- selección de combinaciones con morfología normal y una correlación estable entre las especies de lactobacterium bulgaricum y estreptococcus termófilus;

- subsiguiente subcultivo en leche de oveja estéril ó en una mezcla de leche de oveja y vaca, durante el periodo de seis meses, realizandolo: primero durante cuatro meses diariamente y luego durante dos meses semanalmente;

- selección de la combinación que posea características morfológicas estables y correlación estable entre las dos especies.

2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la inoculación y la temperatura de coagulación se efectúan a 45^o C/ y \pm 1^o C.

3.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el tiempo empleado en la coagulación es de dos horas.

4.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracte-

.../...



rizado porque el subcultivo diario se está realizando durante los primeros cuatro meses y semanalmente durante los dos siguientes.

5 5.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el primer subcultivo se efectúa en una mezcla de leche de oveja y de vaca, en la proporción de 1 : 1.

6.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la correlación entre las dos especies empleadas debe ser de 1 : 3 a 1 : 10, en favor de estreptococcus termófilus.

10 7.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por emplear como cultivador una combinación de especies lactobacterium bulgaricum nº 5 y estreptococcus termófilus nº 12.

15 8.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 6 caracterizado por emplear como cultivador una combinación de especies lactobacterium bulgaricum nº 5 y estreptococcus termófilus nº 22.

20 9.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 á 6, caracterizado por emplear como cultivador una combinación de especies lactobacterium bulgaricum nº 37 y estreptococcus termófilus nº 18.

25 10.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 6 caracterizado por emplear como cultivador una combinación de especies lactobacterium bulgaricum nº 37 y estreptococcus termófilus nº 12.

11.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 á 6 caracterizado por emplear como cultivador una combinación de las especies lactobacterium bulgaricum nº 144 y estreptococcus termófilus nº 12.

.../...



12.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 á 6 caracterizado por emplear como cultivador una combinación de las especies lactobacterium bulgaricum nº 144 y estreptococcus termófilus nº 14.

5 13.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 á 6 caracterizado por emplear como cultivador una combinación de las especies lactobacterium bulgaricum nº 26 y estreptococcus termófilus nº 12.

10 14.- "PROCEDIMIENTO PARA LA PRODUCCION DE CULTIVOS DE LEVADURA PARA YOGUR BULGARO". -

De conformidad en un todo en lo esencial y fines in dustriales a lo descrito en la precedente memoria descriptiva y gráficamente representado en los adjuntos planos para su me jor comprensión.

Esta memora consta de VEINTIUNA hojas escritas ó me- canografiadas por una sola cara a doble espacio.

Madrid. 13 OCT. 1976

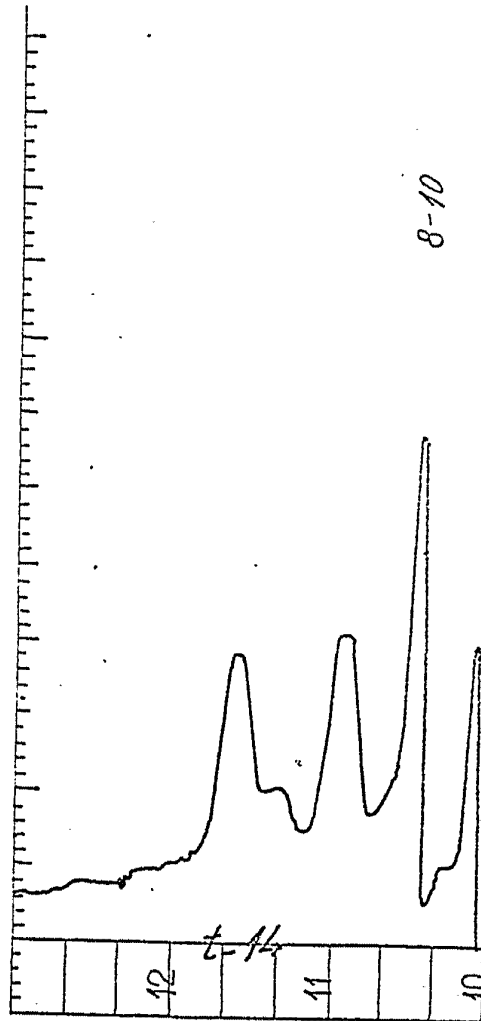
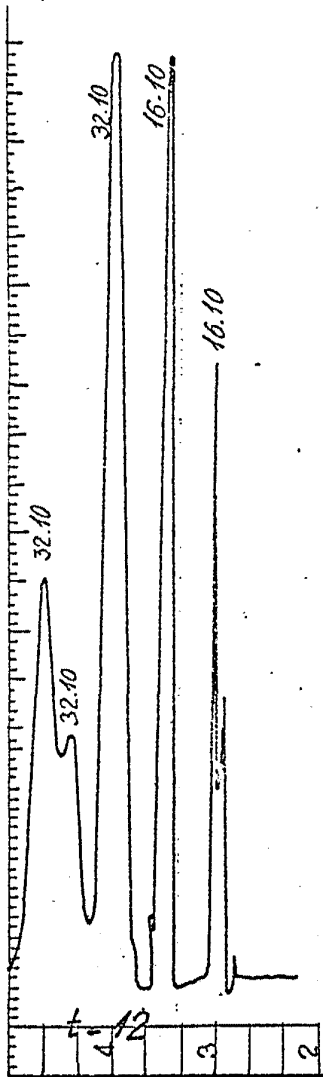
Por autorización de la interesada.

JOSE LOPEZ CORTES
P. P.

Sustancias Aromáticas

Rama St. Thermophilus 12

Rama St. Thermophilus 14



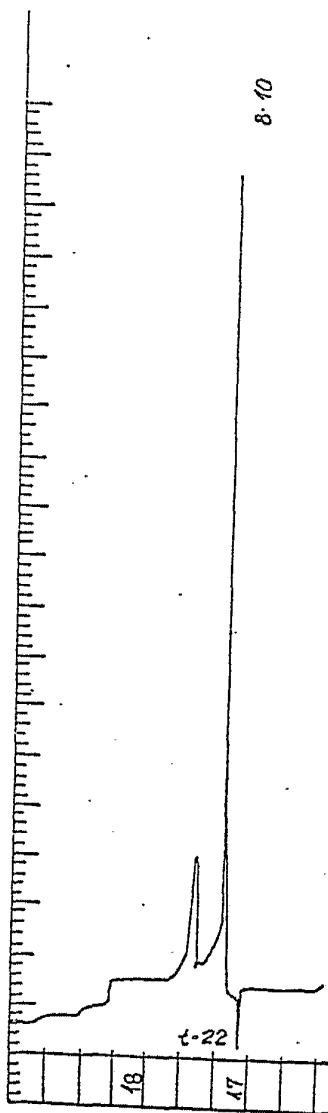
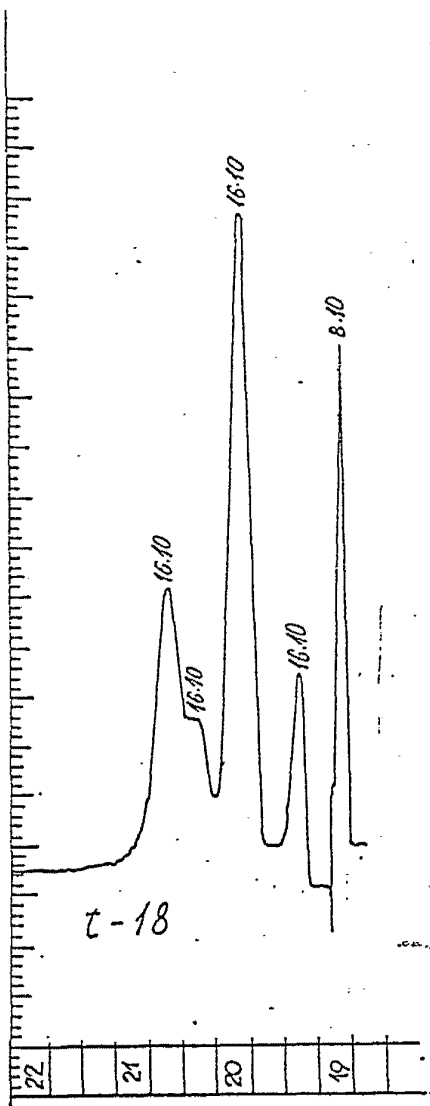
MADRID 13 ENE 1975

JOSE LOPEZ CORTES
P. P.

Sustancias Aromáticas

Rama St. Yhermophilus 18

Rama St. Thermophilus 22.



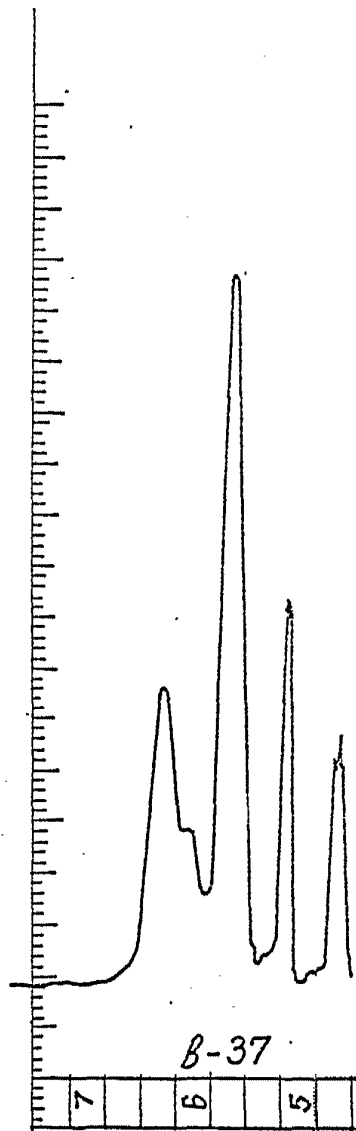
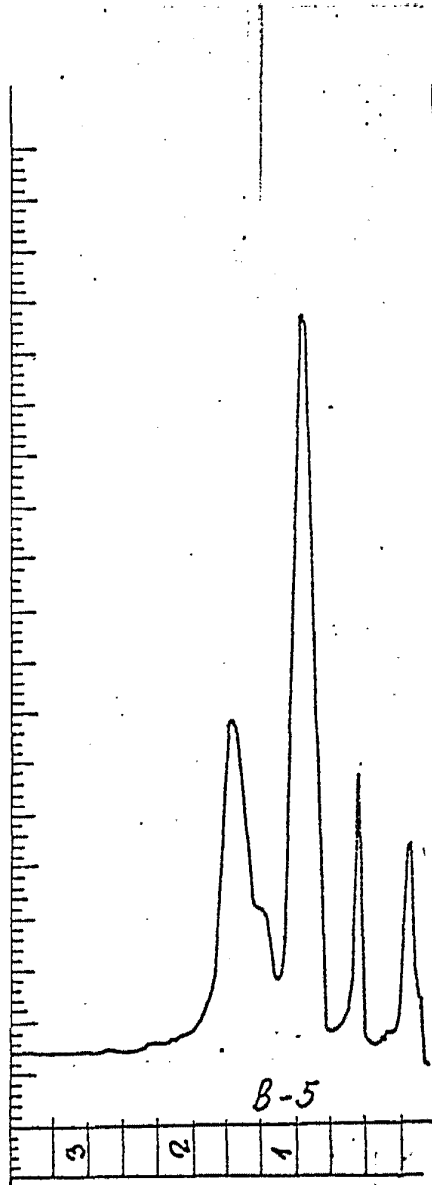
MADRID 13 ENE 1975

JOSE LOPEZ CORTES
F. P.

Sustancias Aromáticas

Rama Lb. Bulgaricum 5

Rama Lb. Bulgaricum 37



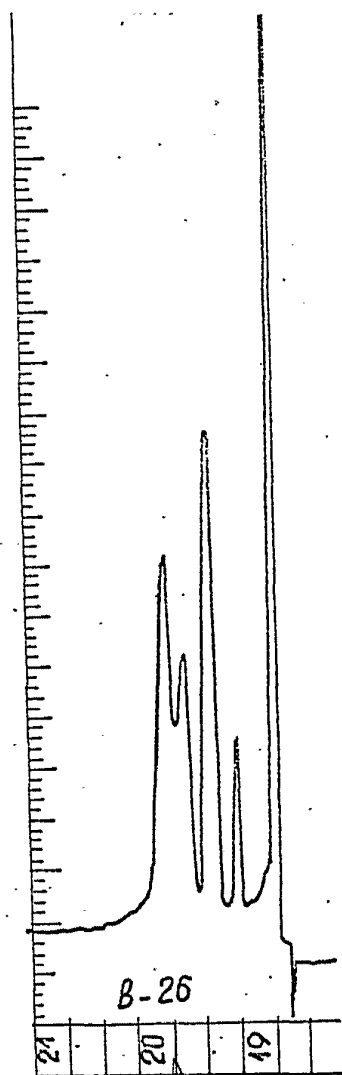
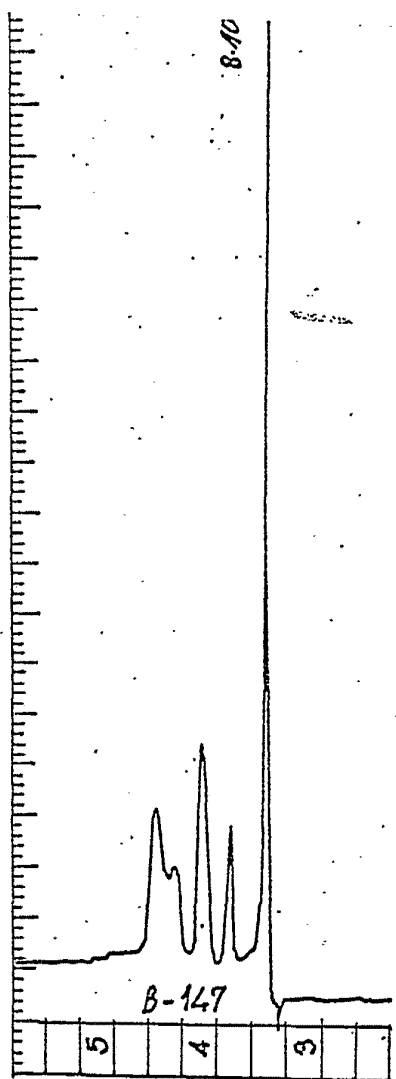
MADRID 13 ENE 1975

JOSE LOPEZ CORTES
P.P.

Sustancias Aromáticas

Rama Lb. Bulgaricum 144

Rama Lb. Bulgaricum 26



MADRID 13 ENE 1975

JOSE LOPEZ CORTES
P. P.

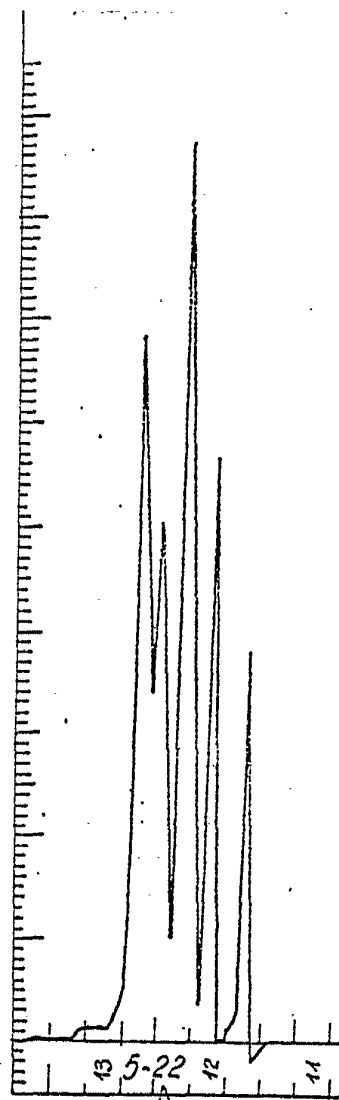
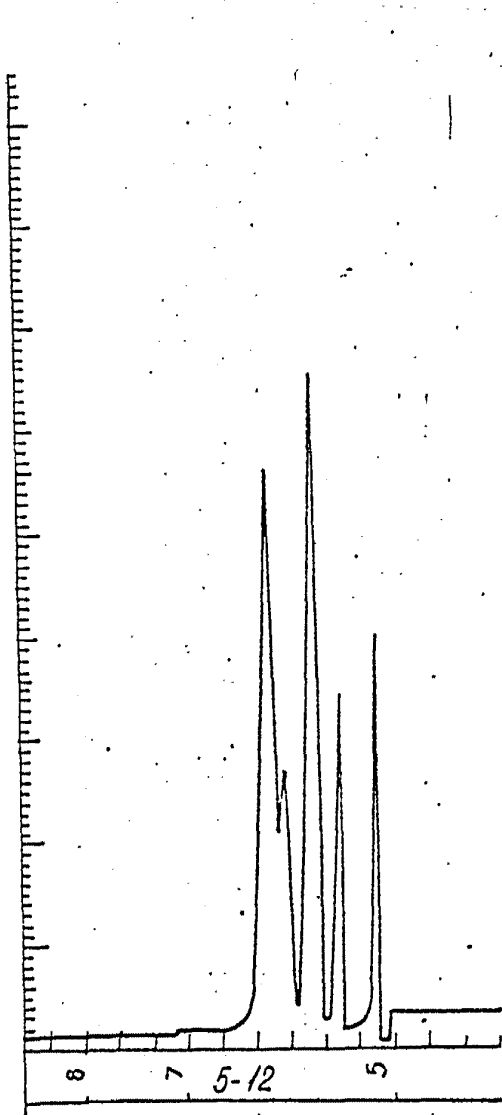
Sustancias Aromáticas

Cultivo de levadura para yogur

5-12

Cultivo de levadura para yogur

5-22



MADRID

13 ENE 1975

JOSE LOPEZ CORTES
P. P.

A handwritten signature in black ink, written over a horizontal line. The signature is stylized and appears to read 'Jose Lopez Cortes'.

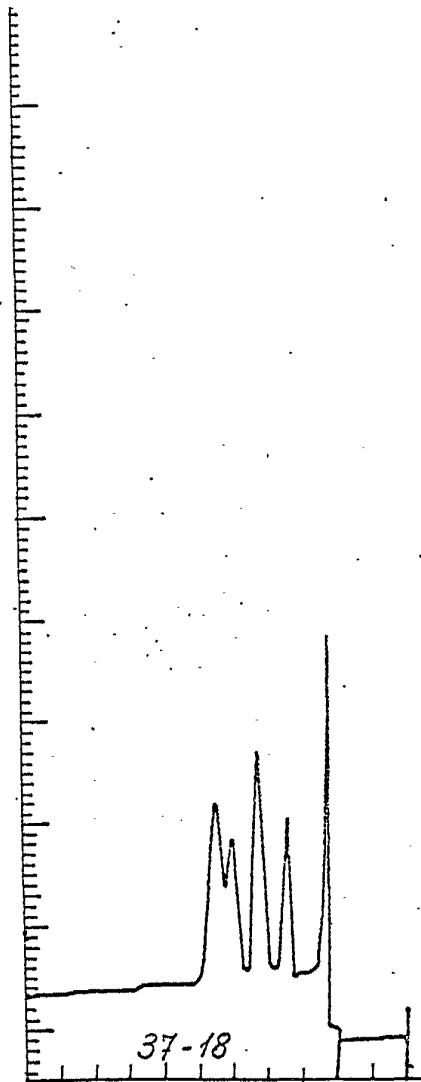
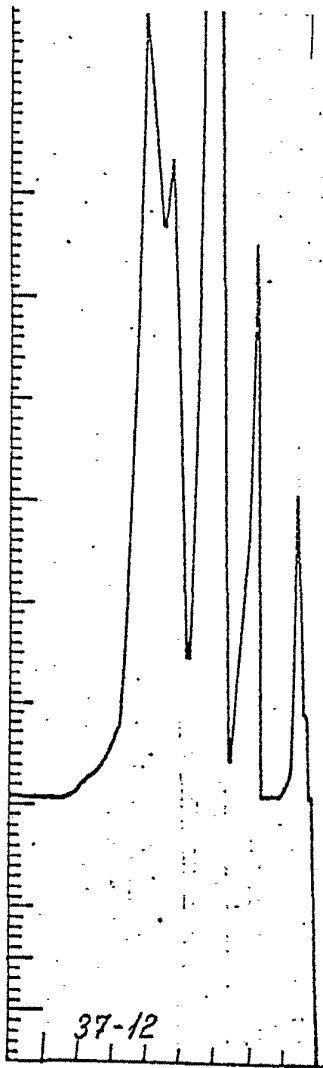
Sustancias Aromáticas

Cultivo de levadura para yogur

Cultivo de levadura para yogur

37-12

37-18



MADRID 13 ENE 1975

JOSE LOPEZ CORTES
P. P.

[Handwritten signature]

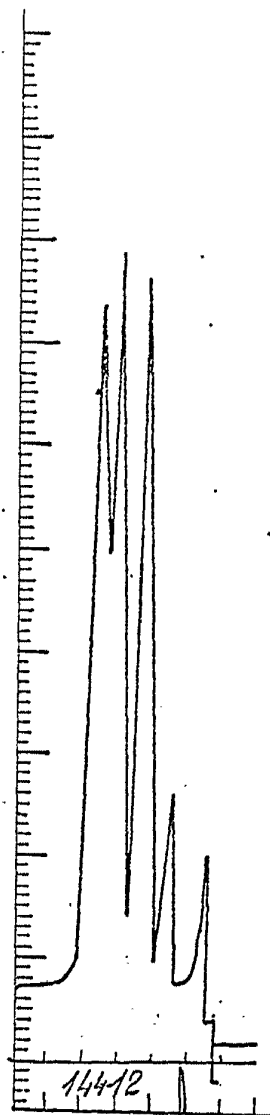
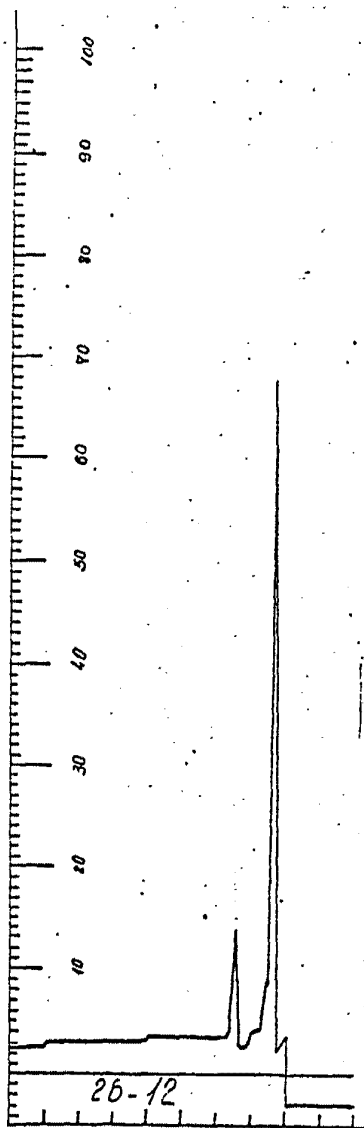
Sustancias Aromáticas

Cultivo de levadura para yogur

26-12

Cultivo de levadura para yogur

144-12



MADRID

13 ENE 1975

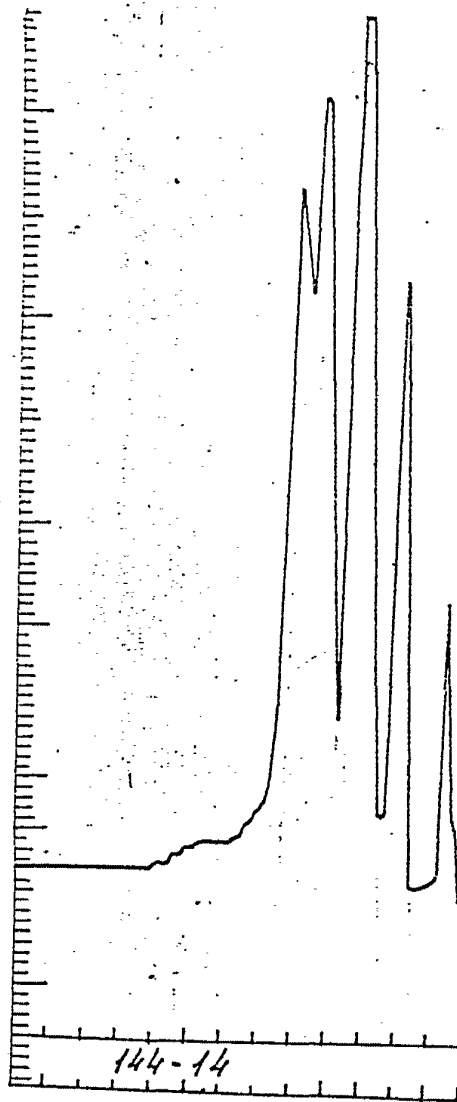
JOSE LOPEZ CORTES
P. P.

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'Jose Lopez Cortes', is written over a circular stamp. The signature is fluid and cursive. The stamp is partially obscured by the signature.

Sustancias Aromáticas

Cultivo de levadura para yogur

144 - 14



MADRID 13 ENE 1975

JOSE LOPEZ CORTES
P. P.

A handwritten signature in dark ink, appearing to be 'Jose Lopez Cortes', written over a horizontal line.