



ESPAÑA

ES

11

NUMERO

449.698

AI

21

FECHA DE PRESENTACION

8-7-76

22

PATENTE DE INVENCION

50 PRIORIDADES: 51 NUMERO	52 FECHA	53 PAIS
608.094	27-8-75	ESTADOS UNIDOS

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C12B	

54 TITULO DE LA INVENCION

UN METODO DE PREPARACION DE UN INDUCTOR MIXTO A GRANEL DE COCOS Y BASTONCILLOS PARA LA MANUFACTURA DE QUESO ITALIANO.

22-SET. 1977

71 SOLICITANTE (S)

LEPRINO CHEESE CO.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

183 West 38th Avenue, Denver Colorado 80211, Estados Unidos

72 INVENTOR (ES)

George Wilmer Reinbold y Malireddy Srinivasulu Reddy. Estadounidense e hindú, respectivamente.

73 TITULAR (ES)

74 REPRESENTANTE

D. BERNARDO UNGRIA GOIBURU

1

RESUMEN DE LA INVENCION

Se preparan inductores a granel (starters) con relaciones optimizadas de cocos (Streptococcus thermophilus) a bacterias en bastoncillo (lactobacilli) en un medio de cultivo a base de suero, caracterizado por proporciones definidas de sólidos de suero ácido a sólidos de suero dulce, siendo el suero dulce preferiblemente un suero parcialmente delactosado. El medio y el método son especialmente adecuados para uso en la manufactura de quesos del tipo pasta filata.

5

10

ANTECEDENTES Y TECNICA ANTERIOR

15

20

25

30

En la manufactura de queso italiano, como el Mozzarella, la leche en la artesa de cuajada es inoculada con aproximadamente 2 a 4 % de un inductor a granel que proporciona un cultivo mixto de los organismos formadores de ácido. En la manufactura de Mozzarella y otros quesos de pasta filata, es práctica habitual emplear Streptococcus thermophilus junto con uno o más lactobacilos. Nos referiremos a los streptococos con el nombre abreviado de "cocos" mientras que los lactobacilos serán denominados bacterias en "bastoncillo" debido a su aspecto cuando se examinan bajo el microscopio. La relación preferida de cocos a células en bastoncillo en los inductores del queso italiano es alrededor de 3:1 a 5:1. Los fabricantes de queso tienen dificultades en mantener esta relación en los inductores a granel, tal como se preparan en la fábrica, incluso aunque los fabricantes de cultivos suministran concentrados en relaciones próximas a las normalmente deseadas. Pueden tolerarse ciertas variaciones en estas relaciones óptimas que están dentro del alcance del experto en la técnica produciéndose todavía un queso de calidad aceptable pero el aroma y las propiedades físicas del queso, ta-

1 les como elasticidad, "correosidad", sabor y humedad pueden
ser gravemente afectados a no ser que haya presentes cocos y
organismos en bastoncillo y crezcan activamente. Para asegu-
5 rarse de ello, los inductores a granel agregados a las arte-
sas de cuajada deben presentar una relación de cocos a bas-
toncillos comprendida entre 2,5:1 y 5,5:1 como mínimo.

10 En una práctica más antigua, que ha sido en gran parte
abandonada por los actuales fabricantes de queso de Estados
Unidos, se utilizaba suero fresco de artesas anteriores de
queso italiano como medio de cultivo para producir el induc-
tor a granel. Este uso de suero líquido conservado de arte-
sas previamente realizadas de queso constituye una práctica
15 peligrosa. Puede haber en el suero compuestos inhibidores,
bacterias contaminantes resistentes al calor y bacteriofagos
igualmente resistentes al calor. Por consiguiente, en las
condiciones actuales de manufactura en Estados Unidos, los
medios de cultivo para la preparación de inductores a granel
de queso italiano están constituidos por leche seca no grasa
reconstituída (LSNG) sola o en combinación con diversas pro-
20 porciones de suero dulce. La LSNG es un medio de cultivo ca-
ro debido al elevado precio de la leche seca no grasa. Sin
embargo, es el medio de elección porque es un material de
confianza que puede ser previamente sometido a ensayo. Se-
ría muy conveniente encontrar un medio de cultivo mucho más
25 barato para la producción de inductores a granel de queso
italiano con las relaciones apropiadas de cocos a bastonci-
llos, cuyo medio fuera tan de fiar, tan seguro y tan suscep-
tible de ensayos previos como los medios a base de LSNG.

30 Se han realizado intentos para poner a punto medios a
base de suero para la preparación de inductores a granel pa-

1 ra la manufactura del queso, incluidos los quesos italianos.
Se ha utilizado suero fresco y suero dulce seco reconstituido.
En la patente estadounidense 2.805.950 se describe la prepa-
5 ración de cultivos bacterianos para uso en la fabricación
de queso suizo. El Streptococcus thermophilus se cultiva so-
lo o en combinación con lactobacilos en suero, tal como suero
fresco de una operación anterior de fabricación de queso sui-
zo, y una vez completado el cultivo se añade de 5 a 15 % de
10 leche en polvo y el cultivo incubado se congela para conser-
varlo para uso futuro. Como se reconoce en dicha patente
(columna 3, líneas 61 y siguientes), un problema importante
en la fabricación de queso suizo ha sido la obtención de las
proporciones adecuadas de cocos a bastoncillos. La patente
recomienda la preparación de cultivos puros de cocos (S. ther-
15 mophilus) y cultivos puros separados de bastoncillos (lacto-
bacilos) que después se mezclan en las proporciones adecua-
das para uso en las artesas de cuajada. Por lo tanto, el pro-
cedimiento de dicha patente consiste preferiblemente en cul-
tivar en un cultivo de suero el Streptococcus thermophilus
20 esencialmente exento de lactobacilos.

En la patente estadounidense 3.852.158 se describe un
medio inductor a granel que puede ser preparado en forma se-
ca, a partir de productos lácteos o de sus derivados tales
como suero dulce, LSNG, suero ácido en polvo, suero de mante-
25 quilla en polvo, leche completa en polvo y mezclas de estos
productos. Una formulación preferida contiene una cantidad ma-
yoritaria de suero dulce y una cantidad minoritaria de LSNG.
Los medios de cultivo se caracterizan por contener citratos.
Se recomiendan para uso en la preparación de una amplia va-
30 riedad de cultivos inductores del queso.

1 La manufactura de cultivos a granel para queso descre-
mado, suizo e italiano con un medio inhibidor de bacterio-
fagos a base de suero con control de pH ha sido descrita
por W.L. Chen y G.H. Richardson, J. Dairy Sc., vol. 58, n°5,
5 págs. 785-786. Se han ensayado el suero ácido y el suero
dulce pero no en combinación.

 Durante el trabajo experimental que condujo a la pre-
sente invención, se encontró que ni el suero dulce seco re-
constituido ni el suero ácido seco reconstituido eran me-
10 dios satisfactorios para la producción de inductores a gra-
nel de queso italiano. El suero ácido inhibe el crecimiento
de los cocos y de las bastoncillos. Con el suero dulce son
inhibidos los lactobacilos, con el resultado de que la rela-
ción de cocos a bastoncillos es muy superior a la deseada.
15 El suero dulce parcialmente delactosado da lugar a dispari-
dades todavía mayores en las relaciones deseadas de cocos a
bastoncillos, creciendo los cocos profusamente mientras que
los bastoncillos se desarrollan mal. Por lo tanto, ninguno
de estos medios de suero son comparables a la LSNG reconsti-
20 tuida para la producción de inductores a granel de queso
italiano.

COMPENDIO DE LA INVENCION

 Esta invención se basa en parte en el descubrimiento
de que, para uso como medio inductor a granel de queso ita-
25 liano; el suero dulce reconstituido, natural o parcialmente
delactosado, puede ser combinado con una cantidad crítica
de sólidos de suero ácido. Las proporciones necesarias pa-
ra obtener los resultados óptimos están comprendidas entre
10 y 30 partes en peso de sólidos de suero ácido a 70 a 90
30 partes en peso de sólidos de suero dulce. Para mantener las

1 relaciones óptimas de cocos a bastoncillos en los inductores
a granel, se combinan de 15 a 25 partes en peso de sólidos
de suero ácido con 75 a 85 partes de sólidos de suero dulce.
Además, es preferible que los sólidos de suero dulce estén
5 parcialmente delactosados. Con los medios de cultivo formu-
lados de esta forma se obtienen resultados iguales o mejores
a los obtenidos cuando el medio de cultivo está constituido
por 100 % de LSNG reconstituida. Aunque puede combinarse una
cantidad minoritaria de sólidos de LSNG con la mezcla de só-
10 lidos de suero ácido y dulce, las formulaciones preferidas
de esta invención no contienen LSNG y están constituidas
prácticamente por completo por sólidos de suero ácido y só-
lidos de suero dulce en las proporciones indicadas.

15 Los medios preparados de acuerdo con esta invención
son especialmente ventajosos para la preparación de cultivos
inductores para la manufactura de quesos del tipo de pasta
filata, como Mozzarella, Provolone, Caciocavallo y otros que
son cuajados estirados. Para todos estos quesos, es ventajoso
preparar cultivos mixtos de cocos y bastoncillos. Además, los
20 medios preparados de esta misma forma pueden ser ventajosos
para cultivar cultivos de bastoncillos y cocos, desarrollados
independientemente, para otros quesos como el queso suizo.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

25 El suero es el alimento obtenido en forma líquida por
separación del coágulo de la leche, crema o leche descremada.
Es uno de los subproductos principales en la manufactura de
queso. El suero seco se prepara separando la humedad del sue-
ro natural. Contiene la lactosa, las proteínas y los consti-
tuyentes minerales en las mismas proporciones relativas que
30 en el suero. El suero también puede ser modificado, por ejem-

1 plo por separación parcial de la lactosa. Tal como se acepta
en general en la industria del queso y del suero, el suero
parcialmente delactosado tiene un contenido en lactosa que
no pasa del 60 % de los sólidos del suero.

5 En general, hay dos tipos de suero. Uno de ellos es
conocido como suero "dulce" y el otro como suero "ácido". El
suero dulce se obtiene como subproducto de la manufactura de
la mayoría de los quesos, como Cheddar, Suizo y Mozzarella.
El suero ácido se obtiene fundamentalmente como subproducto
10 de la manufactura de queso descremado. Tal como se acepta
generalmente en la industria del queso y del suero y para los
fines de esta memoria, el suero ácido es un suero, en forma
líquida o seca, que contiene una acidez valorable no inferior
a 0,30 %. Típicamente, la acidez de los sueros del tipo áci-
15 do oscila aproximadamente entre 0,35 y 0,44 % mientras que la
de los sueros del tipo dulce oscila entre 0,07 y 0,20 % apro-
ximadamente. En general, puede afirmarse que el suero dulce
tiene una acidez valorable no superior a 0,16 %. El suero
dulce puede ser líquido, seco o modificado, por ejemplo sue-
20 ro parcialmente delactosado. Los ingredientes preferidos pa-
ra la formulación del medio de cultivo de esta invención son
el suero ácido seco y el suero dulce seco, especialmente sue-
ro dulce seco parcialmente delactosado.

25 De acuerdo con esta invención, se prepara un medio de
cultivo en forma seca, listo para su reconstitución mediante la
adición de agua, mezclando de 10 a 30 partes en peso de sólidos
de suero ácido seco con 70 a 90 partes en peso de otros sólidos
seleccionados entre sólidos de suero dulce y mezclas de los mis-
30 mos con sólidos de leche seca no grasa (LSNG). La cantidad de
sólidos de LSNG está limitada a no más de 1 parte en peso por

1 cada 3 partes de sólidos totales de suero ácido y dulce. En
las formulaciones preferidas, se prescinde por completo de
los sólidos de LSNG o se limita a no más de 1 parte en peso
por cada 9 partes de sólidos totales de suero ácido y dulce.

5 Más específicamente, un medio de cultivo para la pre-
paración de inductores a granel de cocos y bastoncillos mez-
clados para la manufactura de queso italiano, de acuerdo con
esta invención, está constituido esencialmente, calculado so-
bre el peso seco, por 10 a 30 % de sólidos de suero ácido con
10 una acidez valorable no inferior a 0,30 % y de 70 a 90 % de
otros sólidos seleccionados entre sólidos de suero dulce o
mezclas de los mismos con sólidos de LSNG, estando limitada
la cantidad de sólidos de LSNG en la forma anteriormente des-
crita. En las formulaciones preferidas, se combinan de 15 a
15 25 % de sólidos de suero ácido con 75 a 85 % de los otros só-
lidos, principalmente los sólidos de suero dulce, con no más
de 1 parte en peso de sólidos de LSNG por cada 9 partes de
sólidos totales de suero ácido y dulce.

20 Los sólidos de suero dulce empleados en las formula-
ciones de esta invención tienen preferiblemente una acidez va-
lorable no superior a 0,16 %. Se obtienen resultados especial-
mente buenos con los sólidos de suero dulce seco parcialmente
delactosado, que no contienen más del 60 % de lactosa calcula-
do en seco. Los sueros secos parcialmente delactosados también
25 contienen proporciones relativamente mayores de sales inorgá-
nicas, denominadas minerales o cenizas. Los sueros dulces pre-
feridos, al ser sueros parcialmente delactosados, contienen
de 15 a 25 % de minerales (cenizas), calculado sobre el sólido
30 seco. Típicamente, el suero dulce seco parcialmente delac-
tosado preferido para uso en esta invención contiene de 45 a

1 55 % de lactosa, de 20 a 25 % de proteína del suero y de 15
a 25 % de minerales (cenizas).

5 La mezcla seca de inductor a granel, preparada como
se ha descrito, se emplea de forma similar a la utilizada
para los medios de LSNG. Se reconstituye con agua para for-
mar un caldo acuoso de fermentación que contiene de 9 a 15 %
de sólidos totales. El contenido preferido de sólidos es de
10 a 14 %, encontrándose el óptimo alrededor de 11 a 12 %.
Después el caldo de fermentación se inocula con un inductor
10 mixto que contiene el Streptococcus thermophilus (cocos) y
uno o más lactobacilos (bastoncillos) resistentes al calor.
La relación de cocos a bastoncillos debe estar comprendida
entre 2,5:1 y 5,5:1. Las relaciones optimizadas para la ma-
nufactura de Mozzarella y quesos italianos similares son alre-
15 dedor de 3:1 a 5:1 de cocos a bastoncillos. Estas relaciones
son determinadas por examen microscópico y recuento celular,
de acuerdo con la práctica habitual en microbiología del queso.

20 Los lactobacilos resistentes al calor adecuados para
uso en combinación con Streptococcus thermophilus son miem-
bros del subgénero Thermobacterium del género Lactobacillus.
Incluyen las especies L. caucasicus, L. lactis, L. helveticus,
L. acidophilus y L. bulgaricus. Para la preparación de queso
Mozzarella, son especialmente adecuadas las mezclas de
25 S. thermophilus y L. bulgaricus. Otros lactobacilos convenien-
tes son el L. helveticus y el L. lactis.

30 Para la puesta en práctica de esta invención, una for-
mulación especialmente ventajosa está constituida por 20 % en
peso de suero ácido seco, como suero de queso descremado se-
co, uniformemente mezclado con 80 % de suero dulce seco, par-
cialmente delactosado. Estos productos se encuentran en el

1 mercado en Estados Unidos procedentes de diversas compañías.
Un suero parcialmente delactosado adecuado es vendido bajo el
nombre de "Puritein 20" por la Purity Cheese Company de
Mayville, Wisconsin. Este producto es suero parcialmente de-
5 lactosado preparado por cristalización y separación parcial
de la lactosa del suero condensado. Una formulación represen-
tativa suministrada por el fabricante es: lactosa 50 %, pro-
teína 22 % y cenizas 21 %. Otros sueros modificados, que es-
tán parcialmente delactosados, también pueden estar parcial-
10 mente desmineralizados. Por ejemplo, el Puritein 25 (produc-
to de Purity Cheese Company vendido como " Puritein 25") es-
tá modificado tanto en lo que se refiere al contenido en lac-
tosa como en minerales. Una formulación típica suministrada
por el fabricante es: lactosa 52 %, cenizas 14 % y proteína
15 25 %. Como se ha indicado anteriormente, son convenientes
unos contenidos en cenizas más altos, por ejemplo unos con-
tenidos en cenizas del orden del 15 al 25 %, en peso. Sin em-
bargo, el Puritein 25 puede ser empleado solo o en mezcla con
Puritein 20 o con suero dulce seco.

20 De acuerdo con la práctica conocida, el crecimiento de
los lactobacilos, como L. bulgaricus, puede ser provocado in-
corporando iones manganeso al caldo de fermentación. El agua
utilizada para la reconstitución de la mezcla seca puede con-
tener ventajosamente de 1 a 10 ppm de Mn^{++} . El manganeso pue-
25 de ser agregado en forma de una sal no tóxica, como cloruro
manganoso. Sin embargo, debe sobreentenderse que para los fi-
nes de esta invención esta adición de manganeso es opcional
como lo es la incorporación de otros factores de crecimiento
accesorios como extracto de levadura, licor de infusión de
30 maíz, etc.

1 invención con otros tres medios. Los caldos líquidos de fer-
mentación se prepararon como se ha descrito antes a partir de
los ingredientes secos y el caldo fué inoculado con un culti-
vo mixto de S. thermophilus y L. bulgaricus con una relación
5 de cocos a bastoncillos de 4:1 aproximadamente. La cantidad
de este cultivo agregada al caldo era del 1 % en peso. La tem-
peratura de incubación en todos los ensayos fué de 106°F
(41,1°C). El progreso de la fermentación fué seguido midiendo
la acidez valorable, las actividades bacterianas y las rela-
10 ciones de cocos a bastoncillos. Los datos se encuentran en
las Tablas I-A, I-B y I-C, donde los medios están identifica-
dos por las letras de código A a G, que se refieren a las si-
guientes formulaciones o materiales.

Medio	Composición*
15 A	Pur-20 (80 partes) + suero ácido (20 partes)
B	Pur-20 (80 partes) + suero ácido (20 partes) + 0,1 % de extracto de levadura + 0,2 % de licor de infusión de maíz
20 C	Pur-20 (80 partes) + suero ácido (20 partes) + 0,1 % de extracto de levadura + 0,2 % de licor de infusión de maíz + 0,25 % de dextrosa
25 D	suero dulce (80 partes) + suero ácido (20 partes)
E	leche seca no grasa
F	suero dulce
G	Pur-20

* (Formulada al 12 % de sólidos).

1

TABLA I-A

Acidez valorable y pH

5

		<u>Horas</u>					
<u>Medio</u>	<u>7</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>14</u>	<u>16</u>	<u>20</u>	
A	0,780* (4,80)**	0,850 (4,60)	1,070 (4,60)	1,200 (4,30)	1,410 (4,15)	1,410 (4,30)	
B	1,050 (4,35)	1,190 (4,35)	1,320 (4,30)	1,400 (4,15)	1,470 (4,10)	1,510 (4,25)	
C	1,010 (4,35)	1,220 (4,30)	1,320 (4,30)	1,400 (4,15)	1,470 (4,10)	1,520 (4,00)	
D	0,700 (4,60)	0,810 (4,40)	0,910 (4,30)	0,990 (4,15)	1,050 (4,05)	1,160 (4,20)	
E	1,160 (4,00)	1,330 (4,00)	1,450 (3,85)	1,500 (3,80)	1,570 (3,75)	1,650 (3,95)	
F	0,290 (5,80)	0,360 (5,70)	0,470 (5,30)	0,570 (5,00)	0,640 (4,90)	0,730 (4,60)	
G	0,550 (5,55)	0,720 (5,35)	0,820 (5,00)	0,910 (4,80)	0,910 (4,90)	1,030 (4,85)	

10

15

* Acidez desarrollada (% de acidez valorable)

** pH.

20

TABLA I-B

Resultados de los ensayos de actividad

25

		<u>Horas</u>					
<u>Medio</u>	<u>7</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>14</u>	<u>16</u>	<u>20</u>	
A	0,840	0,870	0,840	0,800	0,700	0,670	
B	0,890	0,890	0,830	0,790	0,689	0,530	
C	0,930	0,860	0,815	0,755	0,690	0,530	
D	0,930	0,885	0,825	0,780	0,625	0,510	
E	1,000	0,920	0,840	0,525	0,470	0,460	
F	0,530	0,580	0,630	0,650	0,560	0,500	
G	0,620	0,610	0,630	0,610	0,560	0,480	

30

1

TABLA I-C

Relaciones de cocos a bastoncillos

(S. thermophilus:L.bulgaricus)

5

Medio	Horas					
	7	9	12	14	16	20
A	5:1	4:1	4:1	4:1	4:1	3:1
B	5:1	4:1	4:1	3:1	3:1	3:1
C	4:1	4:1	3:1	3:1	3:1	3:1
D	3:1	3:1	2:1	2:1	2:1	1:1
E	3:1	3:1	1:1	1:1	1:1	1:1
F	60:1	60:1	20:1	5:1	5:1	4:1
G	80:1	80:1	60:1	20:1	10:1	5:1

10

EXPERIMENTO 2

15

Se sigue el procedimiento descrito en el Ejemplo 1 a excepción de que el inoculante contiene L. helveticus en lugar de L. bulgaricus. La temperatura de incubación es de 106°F (41,1°C). Se realizaron las mismas medidas y los datos se encuentran en las Tablas II-A, II-B y II-C, donde los medios son identificados como sigue:

20

Medio	Composición*
A	Pur-20 (80 partes) + suero ácido (20 partes)
B	Pur-20 (80 partes) + suero ácido (20 partes) + 0,75 % de extracto de levadura
C	Suero dulce (80 partes) + suero ácido (20 partes)
D	Suero dulce (80 partes) + suero ácido (20 partes) + 0,075 % de extracto de levadura
E	Leche seca no grasa
F	Suero dulce
G	Pur-20

25

30

* (Formulada al 12 % de sólidos)

1

TABLA II-A
Acidez valorable

	<u>Medio</u>	<u>Horas</u>	
		<u>7</u>	<u>9</u>
5	A	0,450* (4,90)**	0,580 (4,70)
	B	0,525 (4,80)	0,645 (4,70)
	C	0,400 (5,00)	0,535 (4,70)
10	D	0,480 (4,90)	0,630 (4,60)
	E	0,415 (5,30)	0,520 (5,05)
	F	0,005 (7,50)	0,005 (7,50)
15	G	0,155 (6,30)	0,300 (5,90)

* Acidez desarrollada

** pH

20

TABLA II-B
Resultados de los ensayos de actividad

	<u>Medio</u>	<u>Horas</u>	
		<u>7</u>	<u>9</u>
	A	0,520	0,540
	B	0,525	0,550
	C	0,500	0,505
25	D	0,525	0,545
	E	0,430	0,420
	F	0,200	0,210
	G	0,370	0,375

30

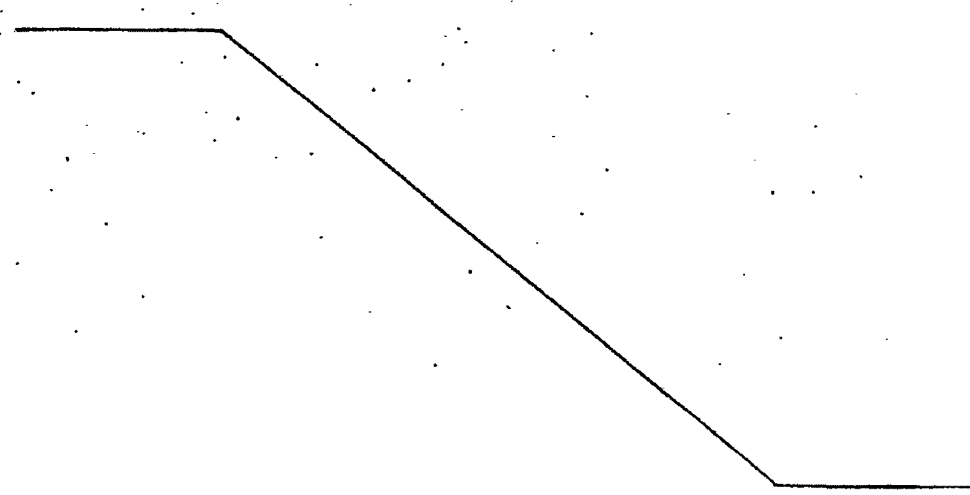
TABLA II-C

Relaciones de cocos a bastoncillos
(S. thermophilus:L. helveticus)

<u>Medio</u>	<u>Horas</u>	
	<u>7</u>	<u>9</u>
A	6:1	3:1
B	3:1	3:1
C	4:1	2:1
D	3:1	2:1
E	19:1	16:1
F	1:0	1:0
G	1:0	1:0

EXPERIMENTO 3

Se sigue el procedimiento de los Experimentos 1 y 2 a excepción de que el inoculum contiene L. lactis como bacterias en bastoncillo. La temperatura de incubación es de 106°F (41,1°C). Los medios son idénticos a los utilizados en el Experimento 2 y las letras de identificación se refieren a los mismos medios que en el Experimento 2. Los datos se encuentran en las Tablas III-A, III-B y III-C.



1

TABLA III-A

Acidez valorable y pH

	<u>Medio</u>	<u>Horas</u>	
		<u>7</u>	<u>9</u>
5	A	0,495* (5,00)**	0,700 (4,70)
	B	0,650 (4,70)	0,850 (4,50)
	C	0,595 (4,70)	0,875 (4,40)
10	D	0,700 (4,70)	0,885 (4,35)
	E	0,005 (7,50)	0,005 (7,50)
	F	0,195 (6,30)	0,385 (5,60)
15	G	0,460 (4,90)	0,670 (4,50)

* Acidez desarrollada

** pH

TABLA III-B

Resultados de los ensayos de actividad

20

25

30

	<u>Medio</u>	<u>Horas</u>	
		<u>7</u>	<u>9</u>
	A	0,525	0,575
	B	0,580	0,595
	C	0,540	0,525
	D	0,530	0,540
	E	0,200	0,200
	F	0,340	0,405
	G	0,460	0,440

1

TABLA III-C

Relaciones de cocos a bastoncillos

(S. Thermophilus:L. lactis)

5

<u>Medio</u>	<u>Horas</u>	
	<u>7</u>	<u>9</u>
A	6:1	3:1
B	3:1	3:1
C	1:1	1:1
D	7:1	3:1
E	1:0	1:0
F	1:0	1:0
G	1:1	1:1

10

15

20

En los experimentos anteriores, la acidez desarrollada, medida como porcentaje de acidez valorable, se determinó por los procedimientos habituales. Se pesaron 9 g de medio en una cápsula de porcelana blanca. Se agregaron 10 gotas de una solución alcohólica al 1,0 % de fenoftaleína y la mezcla se valoró hasta un punto final rosa pálido (30 segundos de duración) con solución de hidróxido sódico 0,1N. Después de sustraer la valoración del control de medio no inoculado, los resultados se registran como porcentaje de acidez desarrollada expresada como ácido láctico.

25

30

Los ensayos de actividad se realizaron de la forma siguiente: 100 ml de LSNG reconstituida al 11 % de sólidos, previamente analizada y tratada en autoclave, se incoularon con 2 ml de cultivo mixto activo. El cultivo se incubó después a 33°C (90°F) durante 45 minutos. Al final de este periodo, la temperatura del cultivo se elevó lentamente hasta 46°C (115°F) en 30 minutos. Después el cultivo se mantuvo a esta temperatura final durante 2 horas. El porcentaje de acidez

1 valorable se determinó en la forma descrita en el párrafo anterior.

5 El procedimiento para determinar las relaciones de cocos a bastoncillos en los experimentos anteriores fué el del examen microscópico, siendo determinada la relación aproximada de cocos a bastoncillos por recuento visual. Se trata de un procedimiento habitual para registrar la relación de cocos a bastoncillos en la manufactura de queso. Se mezclan 4 ml de inductor y 4 ml de agua destilada y se distribuyen 10 sobre 1 cm² en un porta limpio. Después de fijar, el medio de cultivo teñido de azul de metileno se observa microscópicamente bajo un objetivo de inmersión en aceite. Se cuenta el número total de bastoncillos y cocos en cada uno de tres campos diferentes, se totaliza y se promedia. Los resultados se 15 expresan como relación de cocos a bastoncillos.

Los resultados de los experimentos anteriores pueden resumirse como sigue: ni los sólidos de suero dulce reconstituido ni los sólidos de suero ácido reconstituido funcionan como medios inductores tan eficazmente como la LSNG reconstituida o una mezcla adecuadamente proporcionada de sólidos de 20 suero dulce y de suero ácido. Además, cuando los sólidos de suero dulce se sustituyen en la mezcla por sólidos de suero dulce parcialmente delactosado se obtienen resultados incluso mejores, manteniendo un crecimiento excelente de los cultivos 25 mixtos de bastoncillos y cocos. Esto parece ser debido a la estimulación inherente del cultivo de bastoncillos por el suero ácido unido a la acción reguladora del pH del mayor contenido en cenizas de estas mezclas. En general, mediante los medios inductores de esta invención se obtienen y se mantienen 30 relaciones favorables de bastoncillos a cocos. Por lo tan-

1 to, puede verse que la invención constituye un avance impor-
tante en la técnica de preparación de iniciadores a granel
para la manufactura de queso italiano. Los iniciadores a
granel preparados de acuerdo con esta invención son de una
5 calidad igual o superior a los preparados a partir de induc-
tores a granel de LSNG pero son mucho más económicos. Con
respecto al precio de coste de los medios y en relación con
los precios actuales del mercado para la LSNG, el suero dul-
ce seco, el suero ácido seco y el suero seco delactosado,
10 el ahorro aproximado que cabe esperar oscila aproximadamente
entre 60 y 90% con respecto a los medios a base de suero de
esta invención en comparación con los medios de LSNG norma-
les.

15 En resumen la Patente de Invención que se solicita
deberá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES

1.- Un método de preparación de un inductor mixto a
granel de cocos y bastoncillos para la manufactura de queso
italiano, que consiste en:

- 20 (a) preparar un caldo acuoso de fermentación que contiene de
9 a 15 % de sólidos totales, estando constituidos dichos
sólidos esencialmente por 10 a 30 % de sólidos de suero
ácido con una acidez valorable no inferior a 0,30 % jun-
to con 70 a 90 % de otros sólidos seleccionados entre
25 sólidos de suero dulce y combinaciones de estos últimos
con sólidos de leche seca no grasa (LSNG), encontrándo-
se los sólidos de leche en una proporción no superior a
1 parte en peso por cada 3 partes de sólidos totales de
suero ácido y suero dulce;
- 30 (b) inocular dicho caldo con un inductor mixto que contiene

1 Streptococcus thermophilus (cocos) y Lactobacillus del
3 subgénero Thermobacterium (bastoncillos) en una relación
de cocos a bastoncillos comprendida entre 2,5:1 y 5,5:1 y
5 (c) cultivar dichos cocos y bastoncillos en el caldo citado
para producir un inductor a granel que presenta una rela
ción de cocos a bastoncillos de 2,5:1 a 5,5:1.

2.- Un método según la reivindicación 1, donde el
Lactobacillus es L. bulgaricus.

10 3.- Un método según la reivindicación 1, donde el Lac-
tobacillus es L. helveticus.

4.- El método de la reivindicación 1, donde el Lacto-
bacillus es L. lactis.

15 5.- Un método según la reivindicación 1 cuya etapa
(a) consiste en preparar un caldo acuoso de fermentación que
contiene de 10 a 14 % de sólidos totales, estando constituí
dos esencialmente dichos sólidos por 15 a 25 % de sólidos de
suero ácido con una acidez valorable no inferior a 0,30 %
junto con 75 a 85 % de sólidos de suero dulce que no contie
ne más del 60 % de lactosa y contiene de 15 a 25 % de mine-
20 rales (cenizas), calculado sobre el peso seco;

6.- Un método según la reivindicación 5, donde el sue
ro dulce tiene una acidez valorable no superior a 0,16 % y
contiene, calculado sobre el peso seco, de 45 a 55 % de lac
tosa, de 20 a 25 % de proteína y de 15 a 25 % de minerales
25 (cenizas).

7.- Un método según la reivindicación 5, donde dicho
Lactobacillus es L. bulgaricus.

8.- Un método según la reivindicación 5, donde dicho
Lactobacillus es L. helveticus.

30

1 9.- Un método según la reivindicación 5, donde dicho Lactobacillus es L. lactis.

10.- Un método según la reivindicación 5 cuya etapa (b) consiste en:

5 inocular dicho caldo con un inductor mixto que contiene Streptococcus thermophilus (cocos) y Lactobacillus bulgaricus (bastoncillos) en una relación de cocos a bastoncillos de 3:1 a 5:1 aproximadamente y cuya etapa (c) consiste en:

10 cultivar dichos cocos y bastoncillos en el citado caldo para producir un inductor a granel que presenta una relación de cocos a bastoncillos de 3:1 a 5:1 aproximadamente.

15 11.- Un método según la reivindicación 1, donde el caldo acuoso de fermentación de la etapa (a) está constituida por:

20 15 a 25 % de sólidos de suero ácido con una acidez valorable no inferior a 0,30 % y 75 a 85 % de otros sólidos seleccionados entre sólidos de suero dulce y combinaciones de los mismos con sólidos de leche seca no grasa (LSNG), encontrándose los sólidos de leche en una proporción no superior a 1 parte en peso por cada 9 partes de sólidos totales de suero ácido y suero dulce.

25 12.- Un método según la reivindicación 11 donde los otros sólidos están constituidos esencialmente por completo por sólidos de suero dulce con una acidez valorable no superior a 0,16 %.

30 13.- Un método según la reivindicación 11, donde los sólidos de suero dulce son sólidos de suero dulce parcialmente delactosado, que no contienen más del 60 % de lactosa, cal

1 culado sobre el peso seco.

3 14.- Un método según la reivindicación 1, donde el
caldo acuoso de fermentación de la etapa (a) está constituí
do por:

5 15 a 25 % de sólidos de suero ácido con una acidez valo
rable no inferior al 0,30 % y 75 a 85 % de sólidos de
suero dulce con una acidez valorable no superior a 0,16%
siendo los sólidos de suero dulce unos sólidos de suero
dulce parcialmente delactosado que no contienen más del
10 60 % de lactosa, calculado en peso seco.

15 15.- Un método según la reivindicación 14, donde los
sólidos de suero dulce contienen de 15 a 25 % de minerales
(cenizas), calculado como peso seco.

15 16.- Un método según la reivindicación 14, donde los
sólidos de suero dulce contienen, calculado sobre el peso
seco, de 45 a 55 % de lactosa, de 20 a 25 % de proteína y
de 15 a 25 % de minerales (cenizas).

20 17.- Se reivindica por último como objeto sobre el
que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita por:
UN METODO DE PREPARACION DE UN INDUCTOR MIXTO A GRANEL DE
COCOS Y BASTONCILLOS PARA LA MANUFACTURA DE QUESO ITALIANO.

25 Todo conforme queda descrito y reivindicado en la pre
sente memoria descriptiva, que consta de veintitres páginas
mecanografiadas.

Madrid, 8 Julio 1.976
BERNARDO UNGRÍA
P.P.

25

30