

En algunos casos se emplean fermentaciones combinadas para la preparación de los alimentos; particularmente para obtener una fermentación de alcohol etílico por la levadura, á expensas de los materiales que, propiamente hablando, no son fermentescibles; por ejemplo, el almidón, la dextrina, la lactosa. Es verosímil que se produzcan semejantes fermentaciones combinadas en la preparación de la *chicha*

periores y se transforma en un líquido opalino. Este germen es aerobio y resiste de un modo notable al calor.

Tyrothrix filiformis. — Bastoncillos cortos, de 0.8 μ . de diámetro. Se desarrolla de diferentes maneras en la leche, ya formando una película sobre ésta, ya quedando aprisionada en la caseína precipitada. A veces queda durante varios días la leche intacta en la apariencia; luego, súbitamente, en algunas horas, se decolora y se transforma en un líquido un poco turbio. Otras veces se coagula, pero el coágulo no persiste y se transforma á su vez en un líquido análogo al anterior, salvo cuando adquiere coherencia por la acción de una temperatura demasiado alta.

Tyrothrix distortus. — Bastoncillos móviles, 0.9 μ . de diámetro, longitud cinco á diez veces mayor. Por su acción la leche se vuelve viscosa por efecto de la formación de un precipitado fino de caseína. Este coágulo aumenta sin llegar á hacerse coherente, y permite acumularse sobre él un líquido seroso casi decolorado.

Tyrothrix geniculatus. — Se desarrolla al aire en la leche, formando filamentos de 1 μ . de diámetro, siendo la longitud de los individuos jóvenes unas diez veces mayor. Estos bastoncillos están siempre inmóviles. Este microbio segrega cuajo y caseosa, como los precedentes, pero en cantidades aún menores.

Tyrothrix turgidus. — Bastoncillos de unos 2 á 3 μ . de longitud, 1 μ . de diámetro, móviles. Por efecto de su desarrollo, las capas superficiales de la leche se vuelven transparentes y permanecen líquidas, si la temperatura no es demasiado elevada. En el caso contrario, la leche se coagula, pero el coágulo se redisuelve.

Tyrothrix scaber. — Filamentos cortos, de 1.1 μ . á 1.2 de diámetro, de contenido finamente granuloso. No hay modificaciones en la leche durante varios días. Luego, poco á poco, la leche adquiere el color y la semitransparencia del suero.

Tyrothrix virgula. — Al principio en forma de tenues bastoncillos cilíndricos, aislados ó en rosario. En su origen están rígidos é inmóviles. Bien pronto se vuelven irregulares, presentan abultamientos. Algunos presentan de una manera asombrosa la forma de los espermatozoides. Son poco conocidas las modificaciones de la materia albuminoidea producidas por este microbio.

Todas estas especies tienen caracteres comunes; producen las mismas diastasas en cantidades más ó menos grandes, y por medio de éstas una materia albuminoidea idéntica para todas. Transforman despues, para sus necesidades vitales, una parte de esta materia en productos nuevos, cada vez más quemadas, formando una serie de compuestos cada vez más oxidados, desde la materia primitiva hasta las sales amoniacales y el carbonato amónico. Con estos microbios los ácidos grasos se sobresaturan de amoniaco, lo cual les hace menos sápidos y menos odoríficos. Nunca es perceptible el desprendimiento gaseoso que producen. No son fermentos, en el sentido ordinario de esta palabra. Junto con los anteriores microbios, es preciso citar otras especies que producen en las masas que invaden un intenso desarrollo de gas. Son las especies siguientes:

Tyrothrix urocephalum. — De preferencia anaerobio; cultivado en los ma-

de maíz (1), así como el *koji* del arroz japonés (2) y en los dos licores alcohólicos preparados por medio de la leche, el *kefir* y el *kumis*, de que se habló en el tomo I.

De estas sustancias, la que más valor tiene en dietética es ciertamente el *kefir* (3). El método empleado por los montañeses del Cáucaso para preparar este licor es muy sencillo. Se vierte en un odre leche fresca de vacas ó de cabras; añádense entonces algunos granos de *kefir* (véase t. I) y se cierra el odre. En verano se coloca el recipiente á la sombra; más tarde, cuando baja la temperatura, se pone al sol, y en invierno, en el hogar. Sacútese con frecuencia. Al cabo de uno ó dos días está preparado el licor; se trasvasa y se añade nueva leche sobre los granos de *kefir* que han quedado en el odre. Para pre-

traces Pasteur produce al principio en la leche bastoncillos cilíndricos, de 1 μ . de diámetro, muy móviles. Por influjo del desarrollo de este germen, el aire del matraz se transforma en anhídrido de carbono. El microbio privado de aire se vuelve entonces fermento y hay desprendimiento de dos partes de anhídrido carbónico y una parte de hidrógeno. Sembrado en la leche, en presencia del anhídrido de carbono, trasmite á éste un olor desagradable y en seguida comienza el desprendimiento gaseoso.

Tyrothrix claviformis. — Puramente anaerobio. No se desarrolla más que en el anhídrido de carbono ó en el vacío. Se desarrolla muy bien en la leche. Bastoncillos de menos de 1 μ . de diámetro, cilíndricos ó estrangulados por en medio (cuando se dividen). El esporo se forma en la extremidad del bacilo. Por su desarrollo produce la coagulación de la leche. Al cabo de veinticuatro horas el coágulo se redisuelve, comenzando por abajo, de manera que forma un líquido turbio. Despréndense anhídrido de carbono é hidrógeno.

Tyrothrix catenula. — Microbio polimorfo. Tan pronto en filamentos cortos, de 0.7 μ . inmóviles; tan pronto en filamentos de 1 μ . de diámetro, móviles, aislados ó reunidos en rosario. En la leche, en ciertas condiciones, produce un desarrollo enérgico de gas, formado por tres partes de anhídrido de carbono y dos de hidrógeno, una parte del cual se convierte al principio en hidrógeno sulfurado. Sin embargo, el olor del líquido nunca se vuelve pútrido, y el sabor permanece fresco. La leche se asemeja entonces por completo á la que á medio digerir vomitan los niños pequeños.

Puede decirse de una manera general que los fermentos anaerobios de la caseína producen menos diastasa que los aerobios; dan los mismos ácidos grasos que estos últimos, pero los saturan menos de amoniaco, de suerte que los medios que crean son más sápidos y más olorosos. Este olor aumenta por la producción de gases sulfurados y fosforados. Si quieren resumirse en pocas palabras los hechos que preceden podemos decir que la caseína puede servir de alimento á todos estos microbios. Para algunos de ellos (como el *T. tenuis*) esta caseína es un alimento admirablemente adecuado; para otros (*T. catenula*) no lo es sino despues de sufrir la acción de la caseína; al paso que para el *T. virgula* y el *T. scaber* debe experimentar una transformación más profunda todavía. — *T.*

(1) La *chicha* es una bebida muy alcohólica que los indios de la América del Sur preparan por medio de la harina de maíz. — *T.*

(2) El *koji* sirve para preparar una bebida fermentada que se usa en el Japon, y se llama *saké*. El *saké* es una especie de cerveza de arroz embriagadora. El fruto del *hovenia* pasa por gozar de la propiedad de desvanecer la embriaguez producida por el *saké*. — *T.*

(3) Krannhals. (Véase la BIBLIOGRAFÍA.)

parar el *kefir* fuera del país se procede de dos maneras diferentes. Según la primera, se obra de la manera siguiente: los *granos de kefir* secos y parduzcos que se encuentran en el comercio se ponen durante cinco á seis horas en agua tibia, hasta que se hinchan; se lavan entonces con esmero y se trasportan á la leche fresca, la cual se renueva dos veces al día, hasta que los *granos de kefir* sean de una perfecta blancura y suban con rapidez (á los veinte ó treinta minutos) hasta la superficie del líquido. En un frasco que contenga como un litro de leche, se vierte una cucharada de *granos* preparados de este modo; se tapa en seguida y se mantiene el frasco á la temperatura de unos 18°, sacudiéndolo cada dos horas. Al cabo de ocho á veinticuatro horas se filtra el líquido á través de un tamiz fino y se recoge el líquido filtrado en otra botella, que debe llenarse hasta los $\frac{4}{5}$, se tapa y se agita de tiempo en tiempo. De esta manera, obtiéndose á las veinticuatro horas lo que se llama *kefir de un día*, que aún contiene poco alcohol y anhídrido de carbono. De ordinario, se bebe primero el de *dos días*, que por un reposo más largo se divide en dos capas: una inferior, parecida al suero y transparente; otra superior, formada por pequeños grumos de caseína. Después de sacudir, tiene una consistencia de crema. El *kefir de tres días* es más líquido y muy agrio. Lo que permanece en el filtro se lava con esmero y puede utilizarse para una nueva cantidad de leche.

El segundo método para preparar el *kefir* es aplicable donde puede procurarse buen *kefir de dos á tres días*. A una parte de *kefir* se le añaden tres ó cuatro partes de leche fresca de vacas; se vierte en botellas y se deja durante cuarenta y ocho horas, agitando de tiempo en tiempo. Se pone como $\frac{1}{5}$ ó $\frac{1}{3}$ de líquido en la botella y se echa encima una nueva cantidad de leche. Los granos que se emplean deben lavarse de vez en cuando con cuidado y reducirse á fragmentos del tamaño de un guisante. Se pueden secar los *granos* lavados con papel sin cola, al sol ó cerca de una estufa. En estado seco, conservan el poder de provocar la fermentación durante varios meses y aún años.

Ni las investigaciones químicas ni los cultivos han dado luz suficiente acerca del modo como se verifica la fermentación del *kefir*. Sabido es que los productos más esenciales de esta fermentación son el alcohol etílico, el ácido láctico y el anhídrido de carbono. Al mismo tiempo se forman pequeñas cantidades de glicerina, de ácido succínico, de ácido acético y de ácido butírico. La cantidad de ácido láctico que contiene el *kefir* corresponde casi al 1 $\frac{1}{2}$ por 100; la del alcohol al 1 por 100. Ambos productos está probado que provienen de la lactosa. En las primeras veinticuatro horas, gran parte del azúcar de leche sirve para formar ácido láctico; al paso que en los días siguientes predomina la formación de alcohol. A una temperatura más alta (25 á 30°),

la fermentación láctica es demasiado fuerte respecto de la alcohólica, y sólo van acordes á una temperatura relativamente baja. La riqueza de albúmina que contiene la leche, según los análisis hasta hoy practicados, no se modifica por la fermentación del *kefir*; verdad es que existe una modificación de la caseína, la cual se precipita en forma de grumos en extremo finos, de suerte que todo el líquido adquiere una consistencia de crema. Es probable que el valor dietético del *kefir* dependa principalmente de este cambio de la caseína. No se ha demostrado la existencia de peptonas.

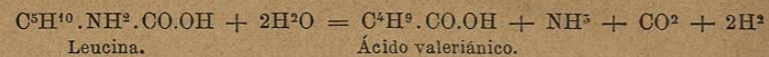
d) LA PUTREFACCION. — Entiéndese por putrefacción ó fermentación pútrida la descomposición rápida é intensa de las sustancias que contienen nitrógeno, y en particular de las sustancias albuminoideas, por el influjo de ciertos esquizomicetos; descomposición en la cual se forman productos gaseosos fétidos.

Los materiales para esta fermentación proporciónanlos, ante todo, las albúminas propiamente dichas; éstas no parecen descomponerse nunca directamente, sino en primer término se trasforman en peptonas. Puesto que los esquizomicetos de la putrefacción y algunos otros más producen un fermento peptonizante, en la práctica no hay más que una diferencia de tiempo entre la putrefacción de las albúminas solubles y la de las insolubles; en fin, conforme con este hecho, la pancreatina y la pepsina favorecen la putrefacción. Las sustancias gelatinosas y gelatígenas son también favorables á la putrefacción; después vienen las peptonas y algunos cuerpos nitrogenados, que es cierto que se alejan de las proteínas por su composición y sus propiedades, pero se acercan á éstas en el sentido de que deben considerarse como componentes de la molécula de albúmina. Tales son la leucina y quizá también la tirosina, el indol, etc.

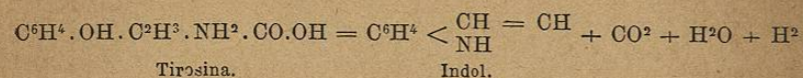
Por influjo de la putrefacción, la molécula de albúmina se disocia. Conforme á las ideas actuales acerca de cómo están constituidas las albúminas, y conforme también á las modificaciones que estas sustancias experimentan por influjo de los ácidos y de los álcalis, podemos presumir que aquella disociación producirá derivados amidos de la serie grasa, en particular ácidos amidos, cuerpos de la serie aromática, ácidos tiónicos (taurina, ácido isetiónico) y quizá también residuos análogos á la peptoná. La mayor parte de las veces, los primeros productos de descomposición formados continúan descomponiéndose con rapidez, de suerte que se observan poco. Tales son, por ejemplo, los ácidos amídicos que se trasforman en amoniaco y en ácidos grasos, los últimos de los cuales se descomponen con arreglo á una ecuación trascrita más arriba, de ordinario con desprendimiento de anhídrido carbónico, hidrógeno y metano.

Así, especialmente con la leucina, se ha podido provocar una fer-

mentacion, que parece estar representada por la siguiente ecuacion:



La glicocola y otros ácidos amídicos sufren quizá una descomposicion análoga. Tambien debe suponerse que la tirosina experimenta una descomposicion más extensa, si se advierte que sólo se encuentra en gran cantidad al principio de la putrefaccion. Segun Nencki, la fermentacion de la tirosina pudiera efectuarse segun la siguiente ecuacion:



Segun Baumann, cuando se verifica la putrefaccion de la tirosina en presencia de una insuficiente cantidad de aire, se producen ácido hidroparacumárico, ácido paraoxifenilacético, paracresol, fenol, y es posible que formen los grados intermedios el paraetilfenol y el ácido paraoxibenzoico. Otros observadores han visto formarse ácido hidrocínómico á expensas de la tirosina.

Entre los productos efimeros es menester señalar tambien el ácido succínico, que se disocia en anhídrido carbónico, el ácido propiónico, el ácido fenilamidopropiónico, el cual produce ácidos fenilacético y fenilamidoacético; estos últimos, independientemente de otros productos, forman pequeñas cantidades de ácido amidálico.

Los cuerpos en extremo numerosos que generalmente nacen durante la putrefaccion son: el anhídrido de carbono, nitrógeno, hidrógeno, ácido sulfhídrico, hidrógeno fosforado, la metana, los ácidos fórmico, acético, butírico, valerianico, palmítico, acrílico, crotónico, glicólico, láctico, valeroláctico, oxálico, succínico, la leucina, la glicocola, los ácidos glutamínico, aspártico, amidoesteárico, el amoniaco, el carbonato amónico, el sulfato amónico, un gran número de aminas (propilamina, trimetilamina, etc.), indol, escatol, tirosina y los cuerpos de la serie aromática de ella derivados; y, finalmente, las ptomainas ántes enumeradas.

El número y la diversidad de estos productos permiten ya deducir que su formación no se reproduce con la misma extension en todos los momentos de la putrefaccion. En realidad, no siempre hallamos todos los productos enumerados, sino que la descomposicion de la molécula de albúmina se verifica de diferente manera, y ora predomina tal producto, ora tal otro. La diversidad de los productos que entran en putrefaccion, lo mismo que la variacion de las condiciones exteriores, pueden influir en esta marcha inestable de la putrefaccion; pero la causa más importante de estas modificaciones reside en la diversidad

de las bacterias que se observan en la putrefaccion. Segun predomine una ú otra especie ó una mezcla variable de ellas, así resultará una composicion cuantitativa y cualitativa diferente.

Desde que podemos aplicar el método de los cultivos puros á los hongos de la putrefaccion, podemos esperar establecer la prueba cierta de la multiplicidad de las bacterias aptas para disociar la molécula de albúmina con produccion de gases fétidos, pero cuyas producciones son muy diferentes, tanto desde el punto de vista de la cantidad como del de la calidad.

Con la mayoría de estos gérmenes aún no ha sido posible precisar de una manera clara cuáles son los productos que se forman. Respecto á muchos de ellos, sólo la produccion de gases fétidos, no determinados aún químicamente, nos da el criterio merced al cual suponemos una disociacion de la molécula de albúmina, en sentido de la putrefaccion.

Hé aquí ejemplos de estas bacterias:

Especies bactericas.	Productos de putrefaccion demostrados.
<i>Bacillus putrificus coli</i>	Peptona, amoniaco, ácidos grasos, tirosina, fenol, indol, escatol, etc. (Véase más arriba.)
<i>Bacillus saprogenes</i> , I, II y III.	Gas fétido.
<i>Bacillus coprogenes foetidus</i>	Idem.
<i>Protens vulgaris</i> , <i>mirabilis</i> , <i>Zenkeri</i>	Peptona, gas fétido.
<i>Bacillus pyogenes foetidus</i>	Gas fétido.
<i>Micrococcus foetidus</i>	Idem.
<i>Bacillus de Miller</i>	Hidrógeno sulfurado, amoniaco.
<i>Bacillus fluorescens liquefaciens</i> (<i>bacterium termo</i>)	Peptona, ácidos grasos volátiles, materia colorante verde.
<i>Bacillus butyricus</i> (Hueppe).	Peptona, leucina, tirosina, amoniaco, sustancias amargas.
<i>Bacillus ureae</i>	Trimetilamina.
<i>Bacillus prodigiosus</i>	Idem.
<i>Bacillus pyocyaneus</i>	Peptona, amoniaco.
<i>Bacillus fluorescens putidus</i>	Trimetilamina.
<i>Bacillus janthinus</i>	Peptona, amoniaco.
Diversos anaerobios	Gas oloroso.
Bacterias del fango ó del contenido intestinal de los rumiantes.	Anhídrido de carbono, metana, hidrógeno sulfurado, etc.

Es preciso mencionar, además, el hecho de que Salkowski halló, en análisis de mezclas putrefactas, cantidades muy diversas de indol,

atribuyendo estas diferencias á la variación de la especie predominante en el medio. Quizá esta misma explicación permita interpretar el hecho observado por Tappeiner de la presencia de escatol en el buey, en lugar del indol que se encuentra de ordinario en el intestino de los herbívoros.

En presencia de todos estos hechos, debemos admitir que gran número de bacterias son capaces de disociar la molécula de albúmina, y que no todas proporcionan de un modo tan completo como el *bacillus putrificus* de Bienstock especímenes de los diversos grupos de sustancias producidas durante la putrefacción. Además, hay muchas especies que no descomponen profundamente sino partes aisladas de la molécula de albúmina, dejando intactas grandes partes. En virtud de estos hechos, sabemos que es imposible dar una ecuación que represente la descomposición de la albúmina, designada con el nombre de putrefacción.

Por el contrario, no podremos emplear ecuaciones químicas determinadas sino para cada modo particular de putrefacción, producido por un micro-organismo dado.

La putrefacción espontánea manifestará diferencias muy marcadas, según las especies accidentalmente presentes y, sobre todo, según las condiciones exteriores. En cuanto á saber cuáles son los hongos que predominan más que nada al principio, esto depende de la concentración, de la composición química, de la reacción y de la temperatura del substrato. Ulteriormente cambian por completo estas condiciones exteriores, por influjo de la putrefacción que progresa poco á poco; á expensas de los cuerpos neutros pueden nacer otros de reacción ácida. La reacción alcalina puede ser más intensa por la disociación de la molécula nitrogenada y por efecto de la formación de amoníaco. La relación entre los diversos compuestos químicos cambia, porque una especie se descompone con más rapidez que otra. De esta manera se producen condiciones más favorables al desarrollo de ciertas especies, de suerte que la putrefacción se presenta como una sucesión irregular de modificaciones dependientes de condiciones que no pueden abarcar de una sola ojeada; modificaciones provocadas por los esquizomicetos más diversos, que obran diferentemente. Al principio de la putrefacción se observan de ordinario varias especies de micrococos y grandes bacilos; en las fases ulteriores también se encuentran masas de bacterias más cortas. En la superficie de la mezcla parecen predominar formas análogas á las que anteriormente se han descrito con el nombre de *bacterium termo*, entre las cuales parece predominar el *bacillus fluor escens liquefaciens*, según los resultados que da el método de los cultivos en placa. Además, no hay que olvidar que, aparte de esto, numerosos esquizomicetos se desarrollan en los medios putrefactos, es-

quizomicetos que no tienen ninguna energía fermentadora, ó no se encuentran en el seno de materiales favorables para el desarrollo de un poder de esta naturaleza. Más tarde, es cierto, cuando hay una fermentación enérgica, los hongos que contribuyen á ella impiden el desarrollo de otras formas. Todas estas masas de microbios accesorios deben también complicar el proceso de la fermentación, por el hecho de mezclarse los productos de su nutrición con las otras producciones.

El oxígeno ejerce la mayor influencia en el curso de la putrefacción.

Es un hecho sabido desde hace mucho tiempo que sólo en presencia del aire se verifica la putrefacción propiamente dicha (con producción de gases fétidos). En presencia del aire en cantidad abundante, se ha notado la falta de olor; entónces se advierte una oxidación rápida y completa de las sustancias putrescibles, y se ha designado esta especie de putrefacción con el nombre especial de corrupción (*verwesung*) (1). Pasteur ha sido el primero que ha hecho resaltar la diferencia que existe entre la putrefacción en presencia del oxígeno y la que se verifica al resguardo del aire. Según este sabio, al abrigo del aire, ciertos micro-organismos emplean desde luego el oxígeno del medio nutritivo (*monas crepusculum* y *bacterium termo*) y, por consiguiente, desaparece. En seguida que se ha consumido el oxígeno, se destruyen estas bacterias y se precipitan en el fondo del vaso. Sólo entónces es cuando aparecen los verdaderos vibriones de la putrefacción, vibriones que no viven sino cuando falta el oxígeno, que dan origen á la fermentación pútrida y que necesitan en absoluto la acción preparatoria de los aerobios. Por el contrario, cuando se expone al aire el líquido los micro-organismos aerobios se multiplican indefinidamente en la superficie y producen una película que cae á veces en fragmentos al fondo del vaso, pero se regenera sin cesar. Ahora bien; esta película impide al mismo tiempo la penetración del aire en el líquido, y de esta manera es como en este último pueden desarrollarse vibriones que no viven sino al abrigo del oxígeno y que provocan las fermentaciones. Los productos de fermentación así formados son aún bastante complejos y sirven de alimento á los aerobios desarrollados en la superficie. Estos producen entónces los compuestos sencillos (agua, an-

(1) Está bastante mal definido el sentido que se da á la palabra *putrefacción*. Generalmente, caracteriza á ésta la presencia de gases infectos; pero, para ciertos autores, la *putrefacción* implica la idea de una sustancia animal. Las sustancias vegetales sufren la *corrupción*. Se ve que hay poca claridad en las definiciones. Actualmente, es preciso valerse únicamente del término *putrefacción*, hasta que investigaciones precisas nos permitan más exactitud. — T.