

I

# LOS ALIMENTOS COMO SUSTRATO MICROBIANO

Prof. Dr. D. BERNABÉ SANZ PÉREZ  
*Universidad Complutense*



# LOS ALIMENTOS COMO SUSTRATO MICROBIANO

Prof. Dr. D. BERNABÉ SANZ PÉREZ

## ALIMENTOS, DETERIORO Y MICROORGANISMOS

Como todos sabemos, los **alimentos** son sustancias naturales, de origen animal o vegetal, que una vez digeridos y absorbidos realizan una o más de las siguientes funciones:

- Proporcionar energía para las actividades corporales.
- Suministrar material para construir, mantener y reparar los tejidos orgánicos.
- Proporcionar sustancias que regulan las funciones o actividades orgánicas.

Cada alimento puede cubrir una o más de estas funciones pero la **dieta**, esto es el conjunto de los alimentos que ingerimos, debe satisfacer todas ellas. Los componentes del alimento que cubren dichas funciones (una o más) se conocen como **nutrientes**. Tradicionalmente se han dividido en carbohidratos, grasas, proteínas, vitaminas y minerales.

Los microorganismos que también tienen sus necesidades nutritivas, compiten hasta cierto punto con el hombre por los alimentos y si en éstos encuentran condiciones adecuadas, se desarrollan dando lugar a su alteración.

El deterioro o alteración de los alimentos podría definirse como todo cambio que sufren, a consecuencia del cual se convierten en no aptos para el consumo, independientemente de que se modifique o no su aspecto externo.

Esta definición nos obliga, a su vez, a señalar cuando un alimento debe considerarse apto o no apto para el consumo. En su ya clásico texto de Higiene, Thom y Hunter (1924) señalaban que “un producto podía ingerirse cuando una persona consciente y sensata, a la vista del mismo y conociendo la forma en que se elaboró, lo consume sin problema alguno, mientras que se considera alterado cuando tal persona lo rechaza como alimento”. Según esto la comestibilidad de los alimentos depende de las personas y con cierta frecuencia lo que algunas consumen es rechazado por otras como incomedible. Sirvan de

ejemplo las piezas de caza que consumen en el Reino Unido después de dejarlas varios días colgadas a temperatura ambiente para que adquieran un fuerte sabor. Esta carne, que los británicos ingieren con auténtico placer, sería para nosotros, como para la mayoría de los americanos, una carne alterada. Lo mismo sucede con el **titmuk** de los esquimales, pescado enterrado y transformado en producto semilíquido y maloliente que la mayoría de nosotros, como sus perros, lo consideraríamos incomedible.

En condiciones de hambre y escasez, se consumen los alimentos más inverosímiles, alimentos que nunca se habrían ingerido en condiciones normales.

Para la mayoría de las personas, alimentos deteriorados o alterados son los que presentan un aspecto externo desagradable o distinto del que exhiben en condiciones normales, es decir, los que se conocen corrientemente como alimentos “estropeados”; sin embargo, en ciertas circunstancias, los alimentos pueden estar deteriorados o alterados aunque su aspecto externo sea “normal”, tal es el caso de los causantes de toxiinfecciones alimentarias.

Atendiendo a la facilidad con que se alteran, los alimentos suelen clasificarse en tres grupos fundamentales:

1. Estables o no alterables: que son los que no se alteran en condiciones corrientes de almacenamiento, a no ser que se traten sin ningún cuidado, por ejemplo, harina, azúcar, legumbres, etc.
2. Semiestables o semialterables: son los que si se manipulan y almacenan convenientemente (lugares fríos, secos y al abrigo de la luz) permanecen mucho tiempo sin alterarse: patatas, nabos, frutos secos, ciertas variedades de manzanas, etc.
3. Alterables o perecederos: son los que se alteran rápidamente salvo que se sometan a métodos de conservación convenientes. A ellos pertenecen los alimentos de mayor interés consumidos diariamente: carne, leche, pescado, huevos y la mayoría de las frutas y hortalizas.

Las principales causas de alteración de los alimentos son las siguientes:

- Lesiones físicas, como las producidas por heladas, golpes y otros traumatismos, quemaduras, desecación, presión, etc.
- Ataques de insectos, roedores y aves (además suelen contaminarlos con microorganismos diversos).
- Enzimas autóctonas: pardeamiento enzimático, etc.
- Cambios químicos no enzimáticos: autooxidación o enranciamiento.
- Desarrollo y actividad microbiana (generalmente a cargo de diversos microorganismos).

Sin duda alguna, son los microorganismos las causas más importantes de alteración, debido fundamentalmente a la rapidez con que se multiplican y difunden cuando las condiciones les son favorables. A ello debe añadirse que los alimentos, además de microorganismos alterantes, albergan en ocasiones bacterias patógenas, como las productoras de toxiinfecciones alimentarias.

Los microorganismos se hallan distribuidos por todos los ambientes del planeta, siendo especialmente abundantes en las aguas y en las tierras de cultivo por lo que es lógico que se encuentren también en los alimentos. Muchos microorganismos, según hemos visto más atrás, utilizan los alimentos para su desarrollo y funciones vitales, lo que da lugar a su alteración debido a las modificaciones enzimáticas que experimentan y a los sabores y olores desagradables que les comunican a consecuencia de ciertas sustancias, producidas en la degradación y descomposición de los nutrientes, o sintetizadas **de novo**.

La multiplicación microbiana en los alimentos es el resultado de tres factores concurrentes: características físico-químicas del alimento (considerado como sustrato microbiano), clases y número de microorganismos presentes y condiciones del medio o entorno en que se encuentran tanto el alimento como los microorganismos.

Las características físico-químicas de los alimentos tienen una importancia extraordinaria en lo que concierne a la alteración, ya que es de ellas de quienes depende la aptitud del alimento como medio de cultivo.

Si se conocen las propiedades del alimento y las de su entorno, se puede predecir el tipo de flora microbiana que se desarrollará. De aquí la importancia de saber qué factores del alimento favorecen o inhiben el desarrollo microbiano. Estos factores son principalmente pH, humedad, potencial de óxido-reducción (O-R), tipo y cantidad de nutrientes y presencia de sustancias inhibitoras o barreras, como se les llama ahora.

### **pH o concentración de iones $H^+$**

A las células microbianas les afecta mucho el pH del alimento en el que se encuentran ya que cada especie microbiana crece dentro de un intervalo de pHs comprendido entre el mínimo y el máximo de crecimiento; dentro de este intervalo se encuentra el llamado pH óptimo que es aquel al que mejor se desarrollan los microorganismos. Corrientemente los mohos y levaduras toleran mejor la acidez que las bacterias, por ello los alimentos ácidos y muy ácidos difícilmente son alterados por bacterias; de aquí que se conserven mejor que los poco ácidos. La mayoría de las bacterias crecen a pHs próximos a

la neutralidad ( $\text{pH}=7$ ), si bien hay algunas, como las acidúritas (*Acetobacter* y *Lactobacillus*, entre otras) que se desarrollan en alimentos de acidez media y otras, como las proteolíticas, que lo hacen a  $\text{pH}$  alcalino, como las que se desarrollan en la clara de los huevos.

En los alimentos existen algunas sustancias tampón o “buffer” que, hasta cierto punto, evitan que cambie su  $\text{pH}$ . La presencia de estas sustancias en ciertas fermentaciones permite que se prolonguen más tiempo que en su ausencia, por lo que los rendimientos de productos finales de la fermentación son mayores que cuando faltan y lo mismo ocurre con los recuentos microbianos.

El poder tampón de las hortalizas y por tanto el de sus jugos, es escaso por lo que su  $\text{pH}$  baja mucho en las primeras fases de elaboración de la col ácida y de los encurtidos a pesar de que todavía sea escasa la producción de ácido por las bacterias lácticas. No obstante, es suficiente para eliminar la flora microbiana competitiva constituida por microorganismos pectolíticos y algunos proteolíticos. Así mismo, esta pequeña capacidad tampón permite unos tiempos de generación microbiana más cortos.

Por el contrario, la leche es un tampón eficaz, dado su contenido proteico relativamente grande (3,2%) permitiendo así un crecimiento abundante de bacterias lácticas que originan una gran actividad de ácido antes de que cese su crecimiento.

El  $\text{pH}$ , además de influir en el crecimiento de los microorganismos de los alimentos, influye también en la cantidad de los mismos, que sobreviven a los procesos tecnológicos y al almacenamiento. Puede ocurrir que el  $\text{pH}$  inicial del alimento sea adecuado para el desarrollo de un determinado microorganismo pero como consecuencia de la multiplicación de la flora competitiva o del propio microorganismo, el  $\text{pH}$  puede convertirse en disgenésico. Otras veces el  $\text{pH}$  inicial de un alimento puede ser el limitante del crecimiento, siendo suficiente que crezcan determinados microorganismos para modificarlo y llevarlo hasta un límite compatible con el desarrollo de los que inicialmente podían crecer. En ocasiones el  $\text{pH}$  óptimo de crecimiento es muy distinto del necesario para otras actividades microbianas; algunos microorganismos pueden modificarlo. Por ejemplo, los hay que creciendo en medios demasiado ácidos, descarboxilan los aminoácidos liberando  $\text{CO}_2$  a la atmósfera y dejando como residuos aminas que suben el  $\text{pH}$  hacia el óptimo. Lo mismo ocurre en medios alcalinos con ciertas bacterias dotadas de potentes desaminasas.

Otro efecto curioso del  $\text{pH}$  es que *Staphylococcus aureus*, que crece en un  $\text{pH}$  relativamente bajo, para originar su enterotoxina necesita un  $\text{pH}$  bastante más alto.

## Humedad

Sin agua es imposible la vida de los seres superiores y el desarrollo microbiano. La cantidad exacta de agua que requieren los microorganismos varía de unos a otros. Normalmente, la demanda o necesidad de agua se expresa como actividad de agua ( $a_w$ ) o agua disponible que se define como la presión de vapor de la solución (esto es de las sustancias disueltas en el agua de los alimentos) dividida por la presión de vapor del disolvente (es decir, agua pura). Esta tiene una  $a_w = 1$ . La  $a_w$  multiplicada por 100 está equilibrada con la humedad relativa (HR) de la atmósfera que rodea al alimento. Por lo tanto,  $a_w \times 100 =$  porcentaje de la HR en equilibrio, o bien  $HRE \div 100 = a_w$ .

Hay una serie de factores que impiden a los microorganismos disponer de agua, entre ellos:

- Los solutos e iones que fijan el agua de la solución. Por ejemplo el aumento de la concentración de sustancias disueltas, como azúcares, y sales, equivale a la desecación del alimento.
- Los geles (coloides hidrófilos) convierten el agua en no disponible. Así solo un 3-4% de agua en un medio de cultivo puede convertirlo en no apto para el desarrollo microbiano al dejar solo a disposición de los microorganismos cantidades de agua muy pequeñas.
- El agua de cristalización o hidratación tampoco está disponible para los microorganismos. Tal ocurre con el hielo. La  $a_w$  de las mezclas de agua/hielo disminuye al hacerlo la temperatura. Al congelar los alimentos baja la  $a_w$  porque aumenta la concentración de solutos en el agua sin congelar.

Como sucedía con el pH, cada microorganismo tiene un intervalo de crecimiento comprendido entre una  $a_w$  mínima y otra máxima, con una  $a_w$  óptima comprendida entre ellas. Cuanto más se aleja la  $a_w$  de la óptima, tanto mayor es la fase de latencia del crecimiento microbiano, tanto menor la velocidad de crecimiento y por lo tanto, tanto más baja es la biomasa y la sustancia celular bacteriana sintetizada por unidad de tiempo.

Son varios los factores que influyen en las necesidades de  $a_w$  de los microorganismos:

- Tipo de soluto empleado para disminuir la  $a_w$ . En los mohos, el soluto usado para bajar la  $a_w$  no influye en la mínima necesaria para el crecimiento pero en las bacterias la  $a_w$  limitante del crecimiento varía ligeramente de unos solutos a otros, así:  $KCl < NaCl < Na_2 SO_4$ .

- Calidad nutritiva del alimento o sustrato. Cuanto más apropiado es para el crecimiento, tanto menor es la  $a_w$  a la que se desarrollan los microorganismos.
- Temperatura de almacenamiento del alimento. Cuanto más se aproxima a la óptima de crecimiento más baja es la  $a_w$  a la que crecen los microorganismos.
- Aporte de oxígeno. Cuando en los alimentos hay aire la multiplicación de las bacterias aeróbicas acaece a  $a_w$  menores que en su ausencia ocurriendo lo contrario en los microorganismos anaerobios.
- pH. En los alimentos con valores de pH próximos a la neutralidad, los microorganismos son más tolerantes a las  $a_w$  bajas que cuando se trata de alimentos netamente ácidos o alcalinos.
- Inhibidores. Su presencia en los alimentos acorta el intervalo de valores de  $a_w$  a los que se multiplican los microorganismos.

### Potencial de óxido-reducción (O-R)

La tensión de oxígeno o presión parcial de oxígeno en torno de un alimento y su potencial de óxido-reducción (Eh) influyen mucho en el tipo de microorganismos que en él se desarrollan y por lo tanto, en los cambios o modificaciones que experimenta.

El potencial de O-R de un producto alimenticio depende:

1. Del que tenía el alimento original.
2. De su capacidad de compensación o resistencia a la modificación del Eh.
3. De la presión de  $O_2$  de la atmósfera que rodea al alimento.
4. De la posibilidad de intercambios entre la atmósfera y el alimento.

El aire tiene una gran tensión de oxígeno mientras que en el polo opuesto se sitúa el espacio de cabeza de los botes de conserva en los que se ha hecho el vacío.

Atendiendo a la capacidad de utilización del  $O_2$  libre los microorganismos se han clasificado en aerobios, anaerobios y facultativos.

Los alimentos con Eh altos y oxidantes, favorecen el crecimiento de los microorganismos aerobios, pero también permiten el de los facultativos. Por el contrario, los que poseen Eh bajos o reductores dejan desarrollarse a los anaerobios y facultativos. Es curioso que algunos microorganismos aerobios crecen (aunque no bien) a Eh francamente bajos. En ocasiones cuando crecen en el alimento determinados microorganismos modifican tanto su Eh que



lo convierten en no apto para el crecimiento de otros. Tal sucede cuando al crecer las bacterias anaerobias reducen tanto el Eh que convierten al alimento en inhibidor de las aerobias. El Eh se mide y expresa en milivoltios (mV). Los productos alimenticios o sustratos oxidados tienen un Eh positivo, mientras que los reducidos lo tienen negativo. De aquí que los microorganismos aerobios necesiten para desarrollarse alimentos o sustratos con potenciales de O-R positivos y los anaerobios negativos.

Los alimentos recién recolectados, esto es frescos, presentan en la profundidad de sus tejidos Eh bajos, los vegetales porque contienen sustancias reductoras como ácido ascórbico y azúcares reductores y los animales porque poseen radicales -SH y otros compuestos reductores. Las células, tanto animales como vegetales, mientras respiran y mantienen su actividad poseen un Eh bajo que contrarresta el  $O_2$  que difunde de la atmósfera del entorno. Por ello un trozo de carne reciente o una fruta fresca entera solo presentan condiciones aerobias en su superficie y proximidades. Esto permite que en la superficie de un trozo de carne se desarrollen bacterias aerobias productoras de mucosidad o bacterias acidificantes mientras en su interior crecen las responsables de la putrefacción. Los tratamientos tecnológicos modifican esta situación, por ejemplo los térmicos al destruir o alterar las sustancias reductoras modifican el poder del alimento de equilibrar el Eh permitiendo así una difusión más rápida del  $O_2$  hacia el interior del alimento. Posiblemente ello se debe a que el calor destruye las sustancias que equilibran o contrarrestan las modificaciones estructurales experimentadas por el alimento.

Los tratamientos tecnológicos también pueden separar y eliminar del producto alimenticio las sustancias reductoras y oxidantes; por ello los zumos de frutas exentos de las sustancias reductoras que acompañan a la pulpa, constituyen un buen medio de crecimiento de las levaduras, mucho mejor que el zumo original acompañado de la pulpa.

Cuando las concentraciones de  $O_2$  son bajas los microorganismos aerobios y facultativos originan productos parcialmente oxidados por ejemplo ácidos orgánicos a partir de los carbohidratos; en cambio si el  $O_2$  es abundante los oxidan por completo a  $CO_2$  y agua.

Los alimentos están constituidos por centenares de compuestos químicos, si bien los mayoritarios son: Agua, proteínas, lípidos, carbohidratos y minerales. De otra parte, cada microorganismo solo puede utilizar para su desarrollo determinados compuestos como fuente de energía y de nutrientes. Serán los microorganismos que dispongan de un arsenal enzimático más potente y variado los que más fácilmente crecerán en los alimentos.

## Composición química

Como fuente de energía los microorganismos emplean preferentemente los azúcares sencillos, aprovechando también otros compuestos de carbono como alcoholes, ácidos orgánicos, ésteres, etc. Los hidratos de carbono complejos, como la celulosa, son utilizados por muy pocos microorganismos, siendo también pocos los que poseen capacidad amilolítica. El distinto poder de las bacterias de utilizar diversos azúcares ha sido aprovechado para su clasificación e identificación; hoy son corrientes las “galerías” o “bacterias” comerciales de soluciones azucaradas que permiten una identificación rápida de algunas bacterias de gran interés desde el punto de vista patógeno. Es digno de señalarse que la mayoría de los microorganismos que no pueden utilizar los azúcares en general, sin embargo aprovechan la glucosa como fuente de energía.

Hay bacterias que atacan a la pectina de frutas y hortalizas y lo mismo sucede con los mohos. Unas y otros tienen una gran importancia desde el punto de vista alterativo al poder deteriorar la piel de la fruta y ocasionar en ella y en las hortalizas ablandamientos y podredumbres.

Son pocos los microorganismos que aprovechan las grasas como fuente de energía y los que pueden solo lo hacen si el alimento no dispone de otros compuestos carbonados más fácilmente utilizables, como los azúcares. Los microorganismos lipolíticos gracias a su lipasa hidrolizan los triglicéridos a glicerol y ácidos grasos que, a su vez, son aprovechados como fuente energética por los microorganismos lipolíticos y otros.

También los microorganismos lipolíticos utilizan como fuente de carbono los productos de la hidrólisis protéica (péptidos y aminoácidos) cuando no disponen de otra fuente energética más apropiada. Tal ocurre, por ejemplo, con la carne y el pescado cuyo contenido azucarado, muy escaso, se agota muy pronto. *Pseudomonas* es un género proteolítico que aprovecha y pone a disposición de otros microorganismos no proteolíticos los productos de la hidrólisis de las proteínas.

Las fuentes de carbono de los alimentos no sólo tienen interés energético para los microorganismos, sino que muchas de ellas también lo tienen por sus efectos en la presión osmótica y en la  $a_w$  de sus soluciones. Por ejemplo, para un mismo porcentaje de azúcar la presión osmótica varía con el peso molecular del azúcar y así la glucosa al 10% tiene una presión osmótica que es aproximadamente el doble que la correspondiente a la sacarosa o maltosa; en consecuencia retiene doble cantidad de humedad.

Los mohos son los microorganismos que mejor se desarrollan en los alimentos muy azucarados, haciéndolo a concentraciones a las que no crecen

ni levaduras ni bacterias. La mayoría de las últimas sólo se multiplican en alimentos con concentraciones bajas de azúcar y las levaduras ocupan a este respecto un lugar intermedio. Sin embargo, no se puede generalizar ya que las levaduras osmófilas crecen a las mismas concentraciones de azúcar a las que se desarrollan los mohos, de ahí que lo hagan en la miel y en la leche condensada.

Algunos microorganismos no hidrolizan las proteínas por lo que, salvo en los alimentos ricos en sustancias nitrogenadas no protéicas, no se desarrollan si no cuentan con el auxilio de otros microorganismos proteolíticos. Tampoco todas las proteínas tienen el mismo valor como fuente de nitrógeno; ello depende de los productos de su hidrólisis que, por otra parte, tampoco son utilizados por igual por todos los microorganismos. Algunas bacterias productoras de ácidos orgánicos crecen bien en alimentos ricos en polipéptidos, a pesar de no hidrolizar la caseína, ni desarrollarse en alimentos que poseen una escasa cantidad de aminoácidos. En los alimentos ricos en hidratos de carbono fermentescibles se originan fermentaciones ácidas que impiden el crecimiento de las bacterias proteolíticas, lo que da lugar al llamado “efecto de ahorro” de los compuestos nitrogenados.

Si bien son muchas las especies proteolíticas de mohos, no sucede igual con las bacterias, que son pocas, y con las levaduras que todavía son menos. Corrientemente las bacterias proteolíticas crecen a valores de pH próximos a la neutralidad, por ello son inhibidas por la acidez, pero hay excepciones como las ácido-proteolíticas que producen ácido al mismo tiempo que hidrolizan las proteínas.

Aunque corrientemente los microorganismos utilizan para su crecimiento el carbono de los compuestos orgánicos del alimento, en unos pocos casos aprovechan el del dióxido de carbono.

## Sales minerales y vitaminas

Casi todos los alimentos poseen en cantidad suficiente las sales minerales que demandan los microorganismos, no obstante, puede ocurrir que un determinado elemento inorgánico se encuentre combinado de maneja que no pueda ser utilizado o bien puede encontrarse en cantidades menores que las que necesita el microorganismo. Tal es el caso de la leche cuyo contenido de hierro no alcanza la concentración suficiente para permitir la pigmentación de las esporas de **Penicillium roqueforti**.

Los microorganismos necesitan para su desarrollo ciertas vitaminas o sustancias accesorias del crecimiento que no pueden sintetizar. Afortunadamente

para ellos son muchos los alimentos vegetales y animales que las poseen, pero a veces algunos las contienen en cantidades menores que las que necesitan los microorganismos, pudiendo incluso faltar. La carne y el pescado son ricos en vitaminas del grupo B, mientras que su contenido es bajo en las frutas y hortalizas que, en cambio, son muy ricas en vitamina C. La clara de los huevos posee biotina, pero también avidina, una proteína con la que se une dicha vitamina que se convierte así en no disponible, impidiendo de este modo el crecimiento en los huevos de ciertas bacterias alterantes para las que la biotina es un factor de crecimiento indispensable.

### Otros factores

Los tratamientos tecnológicos y culinarios de los alimentos suelen destruir parte de su contenido vitamínico. Tiamina, ácido pantoténico, ácido fólico y su grupo y la vitamina C son termolábiles por lo que sufren pérdidas durante el procesamiento de los alimentos. Hasta el mero almacenamiento, a temperaturas relativamente altas y en presencia de oxígeno, disminuye el contenido vitamínico de los alimentos.

Cada especie microbiana tiene una escala de necesidades nutritivas definida. Cuanto menos exigentes son, mayor es el número de alimentos o sustratos en los que pueden crecer; tal ocurre con las bacterias coliformes. Otras en cambio, solo crecen en muy pocos sustratos como muchas patógenas. Hay ciertas bacterias, como *Pseudomonas*, que se desarrollan bien en una gran variedad de carbohidratos e incluso en otras fuentes de carbono como ácidos orgánicos, alcoholes y ésteres. Lo mismo sucede con las fuentes nitrogenadas. Debe insistirse en que cuanto más apto es el alimento para un microorganismo dado, tanto más amplios son los intervalos de temperatura, pH y  $a_w$  en los que puede multiplicarse.

Algunos alimentos poseen sustancias inhibitoras del desarrollo microbiano, bien porque las haya sintetizado el alimento original, bien porque se le hayan adicionado accidental o deliberadamente o porque las hayan producido algunos microorganismos durante su crecimiento e incluso porque sean consecuencia del tratamiento tecnológico experimentado por el alimento. Como ejemplos naturales pueden citarse las lacteninas y el factor anticoliforme de la leche recién ordeñada, la lisozima de la clara de huevo, el ácido benzoico de los arándanos rojos, etc. Los producidos por bacterias son muy variados; ácidos, alcoholes, peróxidos, antibióticos y bacteriocinas. Sirvan de ejemplo el ácido

propiónico producido por las bacterias propiónicas en el queso suizo, el alcohol de las levaduras de la fermentación vínica, la nisina de *Str. lactis*, etc.

Algunos de los factores influyen en el desarrollo microbiano de los alimentos (pH,  $a_w$ , temperatura, Eh, etc.) interactúan unos con otros por lo que será la ecología del alimento, considerado como un todo, la que determine qué microorganismos se desarrollarán. Con el fin de impedir o retrasar su crecimiento estos factores ecológicos se manipulan conjuntamente de diversas formas en vez de hacerlo solo con uno o más independientemente.

El estudio de los factores que influyen en la germinación de las esporas *Cl. botulinum* ha puesto de manifiesto que en las carnes curadas y en ciertos sustratos modelo, se crean una serie de interacciones o efectos combinados de la  $a_w$ , pH, temperatura, Eh y concentraciones de Na Cl y Na N O<sub>2</sub> de las que depende la germinación y el desarrollo posterior de *Cl. botulinum*.

También el estado físico del alimento, su naturaleza (líquida, sólida o coloidal), el que se haya sometido o no a la acción del frío o del calor, el que esté humedecido, desecado, etc. determinará que pueda alterarse o no y el tipo de alteración que sufrirá.

Son muchos los parámetros que influyen en el tipo y número de microorganismos que crecen en los alimentos, destacando entre ellos la contaminación del alimento, el propio desarrollo microbiano y los tratamientos previos que haya recibido el alimento.

La contaminación no solo aumenta la carga microbiana, sino que puede introducir en el alimento nuevos géneros y especies de microorganismos; así el agua de lavado puede llevar al alimento bacterias de la putrefacción, el utillaje de la fábrica puede incorporarle durante su procesado nuevas especies microbianas y las personas que lo manipulan pueden contaminarlo con especies de origen humano.

El crecimiento o desarrollo microbiano aumenta siempre el número de bacterias de los alimentos y lo que es más importante tal aumento corre a cargo de los microorganismos que más fácilmente originan alteración.

## Efecto de los tratamientos tecnológicos

Aunque ya hemos visto más atrás algunos de estos efectos, los estudiaremos con más detalle. Los tratamientos que sufren los alimentos eliminan o destruyen determinados grupos microbianos, incorporan otros, cambian las proporciones de los originalmente presentes y destruyen todas o parte de las enzimas que hay en el alimento. Así, el lavado siempre arrastra microorganismos de la

superficie lavada, pero, si el agua está contaminada, sus microorganismos pasan al alimento. Por el contrario, si el lavado se realiza con soluciones antisépticas o biocidas, la carga microbiana disminuye mucho y algunos tipos de microorganismos se destruyen.

1. Congelación. Además de inhibir la multiplicación microbiana, si la temperatura es suficientemente baja y se aplica lentamente, daña a los tejidos con lo que al descongelarse los alimentos se liberan jugos que favorecen la multiplicación microbiana. La concentración de solutos en el agua que todavía está sin congelar, inhibe, por otra parte, el crecimiento microbiano.
2. Tratamiento térmico. Modifica la composición química y estructura de los alimentos a los que ablanda al liberar o ligar agua, destruir o formar soluciones coloidales, geles o emulsiones y al cambiar su permeabilidad al agua y al  $O_2$ . Desnaturaliza las proteínas que en este estado los microorganismos en general las aprovechan mejor que las nativas. El almidón, al gelificarse y liberar humedad, se altera con más facilidad. En conclusión, los alimentos cocidos suelen descomponerse más fácilmente que los crudos.
3. Deshidratación. Ya se ha señalado antes que la vida es imposible sin el agua. El agua disponible, esto es la  $a_w$  determina en parte los microorganismos que crecen en los alimentos. Así el pan, bizcochos y otros productos horneados se alteran generalmente por hongos ya que se trata de alimentos secos; los alimentos ricos en azúcar, como jarabes, miel, leche condensada, mermeladas, etc., lo son por levaduras osmófilas y mohos; los ácidos por levaduras pelculiformes; los neutros y ricos en humedad (carne, leche, pescado) por bacterias; los refrigerados en contacto con el aire por mohos y si están protegidos del aire, por bacterias anerobias, etc.

Si la  $a_w$  de los alimentos es  $\leq 0,70$  es muy difícil que en ellos crezcan microorganismos. Esta humedad es la que corresponde aproximadamente a la leche en polvo (8%), a los huevos enteros deshidratados (10.5%), a la harina (14%), a las legumbres (15%), a las hortalizas deshidratadas (17%), etc.

Resumiendo, cualquiera que sea el tratamiento aplicado a los alimentos, sus efectos se manifiestan en el número, tipo, proporción y vitalidad de los microorganismos.

Además de los citados, hay otros factores que influyen en el desarrollo de los microorganismos en los alimentos. Los estudiaremos de forma resumida:



**Asociaciones.** Las interacciones microbianas influyen en la multiplicación de los microorganismos de los alimentos, en su deterioro y en la mayoría de sus fermentaciones. Cuando las condiciones son favorables para todos los microorganismos, son las bacterias las que más rápidamente se multiplican, seguidas de las levaduras y de los mohos. Por lo tanto las levaduras solo se multiplicarán en los alimentos con más rapidez que las bacterias cuando las sobrepasen mucho en número en el alimento original o cuando las condiciones de éste y del producto alimenticio final frenen el desarrollo bacteriano. Lo mismo puede decirse respecto de los mohos. Dentro de los distintos géneros y especies microbianas predominarán siempre aquellos mejor adaptados a las condiciones del alimento.

Cuando dos o más especies microbianas crecen juntas sin producirse perjuicio alguno, o por el contrario, favoreciéndose mutuamente se dice de ellas que son simbióticas.

Se llaman sinérgicas a las especies que creciendo juntas llevan a cabo transformaciones o actividades que no realizarían por separado.

La metabiosis es el desarrollo sucesivo de microorganismos en un alimento o sustrato, gracias a las condiciones creadas por el crecimiento previo o anterior de otros microorganismos. Un ejemplo claro es la alteración de la leche natural que se deja estar a temperatura ambiente. Primero se acidifica por el crecimiento de *Str. lactis* y coliformes, hasta que la cantidad de ácido producida inhibe su desarrollo y permite el de *Lactobacillus* ácido-tolerantes; llega un momento en que la acidez inhibe también el crecimiento de los lactobacilos y entonces crecen en la superficie de la leche levaduras pelculiformes y mohos que, al rebajar la acidez de este alimento, facilitan el desarrollo de las bacterias proteolíticas. La elaboración de col ácida, sin el empleo de iniciadores, es otro ejemplo de metabiosis: corre a cargo de una serie de bacterias que actúan sucesivamente, son las siguientes:

- 1) Flora mixta (con predominio de *Pseudomonas*, *Enterobacter*).
- 2) *Leuconostoc mesenteroides* (heterofermentativos).
- 3) *Lactobacillus plantarum* (homofermentativo).
- 4) *Lactobacillus brevis* (y otros heterofermentativos).

**Cambios químicos producidos por los microorganismos en los alimentos:** Dado el gran número de sustancias químicas distintas que se encuentran en los alimentos, los numerosos microorganismos que pueden descomponerlos y la influencia que el medio o entorno ejerce en unas y otros, es natural que sean muchos los cambios que pueden experimentar los alimentos en condiciones distintas.

**Cambios de los componentes nitrogenados:** Inicialmente las bacterias atacan antes a la glucosa, a los aminoácidos y a otros compuestos de bajo peso molecular, como los nucleótidos, que a las proteínas.

La mayoría del N de los alimentos está en forma de proteínas que pueden ser hidrolizadas por las proteasas y peptidasas microbianas, pero este ataque sólo ocurre en los últimos estadios de la alteración.

Las proteasas originan péptidos de cadena larga, mientras que las peptidasas hidrolizan los últimos a péptidos de cadena corta y aún a aminoácidos. Los péptidos suelen dar a los alimentos sabor amargo y los aminoácidos ciertos sabores, agradables o no. Estas hidrólisis acaecen en condiciones aeróbicas. En anaerobiosis se originan productos malolientes que contienen azufre, (como los sulfuros de hidrógeno, de metilo, y de etilo y los mercaptanos), amoníaco, aminas (histamina, putrescina, cadaverina, tiramina, piperidina, etc.), indol, escatol y ácidos grasos.

La descomposición microbiana de los aminoácidos produce diversas sustancias como se aprecia en la tabla.

**Cambios de los carbohidratos:** Cuando los carbohidratos se encuentran disponibles, son la mejor fuente de energía de los microorganismos. Antes de su utilización los di, tri y polisacáridos deben hidrolizarse a monosacáridos que, en condiciones aeróbicas, son oxidados a  $\text{CO}_2$  y agua, mientras en anaerobiosis pueden experimentar distintos tipos de fermentaciones (véase tabla).

Además de los compuestos citados, ciertos microorganismos pueden formar otras sustancias a partir de los azúcares, como ácidos grasos y otros ácidos orgánicos, alcoholes y cetonas, que a su vez, son descompuestos a productos más sencillos.

**Cambios de los lípidos:** Las lipasas microbiana hidrolizan las grasas neutras a glicerol y ácidos grasos, y los fosfolípidos a sus fosfatos constituyentes, glicerol, ácidos grasos y la correspondiente base nitrogenada (p. ej., colina).

**Cambios de las pectinas:** La pectina forma parte de la cubierta de algunas frutas y es insoluble. Se trata de un polímero del ácido  $\alpha$ -D-galacturónico, que es soluble en agua y que contiene ésteres metilo. Forma geles al calentarla con ácidos y azúcar.

Las pectinesterasas al hidrolizar los enlaces éster-metilo de la pectina producen ácido péctico y metanol, mientras que las poligalacturonasas rompen el enlace entre las unidades de ácido galacturónico (ácido péctico), dando cadenas cada vez más pequeñas y finalmente ácido galacturónico libre que se hidroliza a carbohidratos sencillos.



## FACTORES QUE CONTROLAN EL CRECIMIENTO MICROBIANO EN LOS ALIMENTOS

---

- pH
  - Sustancias tampón.
- Humedad disponible ( $a_w$ )
  - Solutos
  - Geles (coloides hidrófilos)
  - Agua cristalización o hidratación
- Potencial redox (Eh)
- Composición química
  - Fuentes de energía
  - Carbohidratos
  - Grasas o lípidos
  - Proteínas
  - Minerales y vitaminas
- Otros
- Tratamientos tecnológicos
  - Selección y lavado
  - Congelación
  - Tratamiento térmico
  - Deshidratación
- Asociaciones microbianas
  - Simbiosis
  - Sinergismo
  - Metabiosis

PRODUCTOS QUÍMICOS QUE PRODUCEN OLORES  
O AROMAS EN EL ALIMENTO

| <i>Substancias</i>                                                        | <i>Contribuye a</i>                                                                                                                                                                                                                        |
|---------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Metanotiol<br>[CH <sub>3</sub> SH]                                        | Olores repugnantes del bacon, jamón y pescado<br>Olor de algunos quesos, por ejemplo, “aroma de Cheddar”                                                                                                                                   |
| Trimetilamina<br>[(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> NH]                     | Utilizando el óxido de trimetilamina [(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> N=O], inodoro, como aceptor de electrones, en ausencia de O <sub>2</sub> , algunos microorganismos originan trimetilamina que posee un olor a pescado descompuesto.  |
| 3-metilbutanal<br>[(H <sub>3</sub> C) <sub>2</sub> CHCH <sub>2</sub> CHO] | Aroma a malta del queso Cheddar.<br>Algunas estirpes de <i>Str. lactis</i> contienen transaminasas y descarboxilasas; estas convierten los aminoácidos en aldehídos. La leucina se transforma en el producto que se indica a la izquierda. |

COMPUESTOS ORIGINADOS POR DIVERSAS BACTERIAS  
A PARTIR DE AMINOÁCIDOS

| <b>Aminoácido</b> | <b>Bacteria</b>         | <b>Compuestos</b>                                                   |
|-------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| Glicina           | <b>E. Coli</b>          | Ác. Glioxílico, ác. Acético y aminoácido.                           |
| Glicina           | <b>Pseudomonas, sp.</b> | Ác. Glioxílico, ác. Acético, amoniaco, metilamina y CO <sub>2</sub> |
| Glicina           | <b>Clostridium, sp.</b> | Ácido acético, amoniaco y metano                                    |
| Alalina           | <b>E. Coli</b>          | Ácido α-cetopropiónico y amoniaco.                                  |
| Alanina           | <b>Pseudomonas, sp.</b> | Ácido acético, amoniaco y CO <sub>2</sub> .                         |
| Alanina           | <b>Clostridium, sp.</b> | Ác. Propiónico, ác. Acético, amoniaco y CO <sub>2</sub> .           |
| Serina            | <b>E. Coli</b>          | Ácido pirúvico y amoniaco.                                          |
| Serina            | <b>Colstridium, sp.</b> | Ácido propiónico, ác. Fórmico y amoniaco.                           |

## PRODUCTOS DE LA DESCOMPOSICIÓN MICROBIANA DE LOS AMINOÁCIDOS

| Proceso químico                                                    | Productos                                          |
|--------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Desaminación oxidativa                                             | Cetoácido+NH <sub>3</sub>                          |
| Desaminación hidrolítica                                           | Hidroxiácido+NH <sub>3</sub>                       |
| Desaminación Reductora                                             | Ácido graso saturado+NH <sub>3</sub>               |
| Desaturación y desaminación<br>(en posiciones $\alpha$ y $\beta$ ) | Ácido graso insaturado+NH <sub>3</sub>             |
| O-R entre pares de aminoácidos                                     | Cetoácido+Ác. graso+NH <sub>3</sub>                |
| Descarboxilación                                                   | Amina+CO <sub>2</sub>                              |
| Desaminación hidrolítica+Descarboxilación                          | Alcohol primario+ NH <sub>3</sub> +CO <sub>2</sub> |
| Desaminación reductora+Descarboxilación                            | Hidrocarburo+NH <sub>3</sub> +CO <sub>2</sub>      |
| Desaminación oxidativa+Descarboxilación                            | Ácido graso+ NH <sub>3</sub> + CO <sub>2</sub>     |

EFECTOS DEL CRECIMIENTO SINÉRGICO DE  
Pseudomonas syncyanea y Streptococcus lactis EN LA LECHE

| Microorganismo                    | Crecimiento   | Cambio de color |
|-----------------------------------|---------------|-----------------|
| <b>Ps. Syncyanea</b>              | Independiente | Marrón pálido   |
| <b>Str. lactis</b>                | Independiente | Ninguno         |
| <b>Ps. Syncyanea+ Str. lactis</b> | Conjunto      | Azul brillante  |

## PRODUCTOS DE LA DESCOMPOSICIÓN MICROBIANA DE LOS AMINOÁCIDOS

| Proceso químico                                                    | Productos                                          |
|--------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Desaminación oxidativa                                             | Cetoácido+NH <sub>3</sub>                          |
| Desaminación hidrolítica                                           | Hidroxiácido+NH <sub>3</sub>                       |
| Desaminación Reductora                                             | Ácido graso saturado+NH <sub>3</sub>               |
| Desaturación y desaminación<br>(en posiciones $\alpha$ y $\beta$ ) | Ácido graso insaturado+NH <sub>3</sub>             |
| O-R entre pares de aminoácidos                                     | Cetoácido+Ác. graso+NH <sub>3</sub>                |
| Descarboxilación                                                   | Amina+CO <sub>2</sub>                              |
| Desaminac. hidrolítica+Descarboxilación                            | Alcohol primario+ NH <sub>3</sub> +CO <sub>2</sub> |
| Desaminac. reductora+Descarboxilación                              | Hidrocarburo+NH <sub>3</sub> +CO <sub>2</sub>      |
| Desaminac. oxidativa+Descarboxilación                              | Ácido graso+ NH <sub>3</sub> + CO <sub>2</sub>     |

FERMENTACIONES MICROBIANAS DE LOS CARBOHIDRATOS  
EN CONDICIONES DE ANAEROBIOSIS

| Tipo de fermentación          | Agentes                   | Productos finales principales                                                                                    |
|-------------------------------|---------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Alcohólica simple             | Levaduras                 | Etanol y CO <sub>2</sub>                                                                                         |
| Láctica simple                | Bact. Lácticas (homo)     | Ácido láctico                                                                                                    |
| Láctica mixta                 | Bact. Lácticas (hetero)   | Ác. Láctico y acético, etanol, Glicerol, CO <sub>2</sub> , etc.                                                  |
| “Coliforme”                   | Bact. Diversas            | Ác. Láctico, acético y fórmico, etanol, CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> , etc.                                  |
| Propiónica                    | Propionibacterias         | Ác. Propiónico, acético y Succínico, CO <sub>2</sub> .                                                           |
| Butírico-propil-isopropílicas | Bact. Anaerobias diversas | Ác. Butírico y acético, CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> y a veces acetona, butilenglicol, butanol y 2-propanol. |

FACTORES DE LOS QUE DEPENDE EL POTENCIAL REDOX  
DE LOS PRODUCTOS ALIMENTICIOS

- 
- Del *Eh* del alimento original.
  - De su capacidad de compensación (o resistencia al cambio) del *Eh*.
  - De la tensión de O<sub>2</sub> de la atmósfera que rodea al alimento.
  - De la posibilidad de intercambios atmósfera/alimento.
-

VALORES  $a_w$  DE DIVERSOS ALIMENTOS

| Alimentos                                                    | Valor $a_w$    |
|--------------------------------------------------------------|----------------|
| Carne fresca, carne picada, pescado fresco, contenido huevos | 0.98-0.99      |
| Embutidos escaldados y cocidos, jamón cocido                 | 0.95-0.98      |
| Frutas, verduras                                             | 0.94-0.98      |
| Artículos ahumados (jamón curado)                            | 0.91-0.96      |
| Embutidos crudos                                             | 0.92-0.96      |
| Embutidos crudos de larga maduración                         | $\approx 0.80$ |
| Quesos duros                                                 | 0.80-0.92      |
| Leche en polvo, carne en polvo, pastas                       | 0.2-0.6        |

A una solución saturada de sal común (26%), le corresponde un valor  $a_w$  de 0.75.

FACTORES QUE INFLUYEN EN LAS NECESIDADES DE  $a_w$   
DE LOS MICROORGANISMOS

- Tipo de soluto usado para bajar  $a_w$ .
- Calidad nutritiva del alimento o sustrato.
- Temperatura de almacenamiento del alimento.
- Aporte de oxígeno.
- pH del alimento o sustrato.
- Presencia de inhibidores en el alimento.

A<sub>w</sub> MÍNIMA PARA EL CRECIMIENTO DE ALGUNOS MICROORGANISMOS.

| Bacterias                     | a <sub>w</sub> mínima | Levaduras y mohos             | a <sub>w</sub> mínima |
|-------------------------------|-----------------------|-------------------------------|-----------------------|
| Eubacterias                   |                       |                               |                       |
| <i>Pseudomonas spp.</i>       | 0.97                  | <i>Candida utilis</i>         | 0.94                  |
| <i>Acinetobacter spp.</i>     | 0.96                  | <i>Rhizos stolonifer</i>      | 0.93                  |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> | 0.95                  | <i>Trichosporum pullulans</i> | 0.91                  |
| <i>Bacillus subtilis</i>      | 0.95                  | <i>Aspergillus glaucus</i>    | 0.70                  |
| <i>Escherichia coli</i>       | 0.96                  | <i>Saccharomyces rouxii</i>   | 0.62                  |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | 0.86                  | <i>Xeromyces bisporus</i>     | 0.60                  |
| Arqueobacterias               |                       |                               |                       |
| <i>Halobacterium</i>          | 0.75                  |                               |                       |

## LAS PRINCIPALES CAUSAS DE ALTERACIÓN DE LOS ALIMENTOS SON LAS SIGUIENTES:

- Lesiones físicas, como las producidas por heladas, golpes y otros traumatismos, quemaduras, desecación, presión, etc.
- Ataques de insectos, roedores y aves (además suelen contaminarlos con microorganismos diversos).
- Enzimas autóctonas: pardeamiento enzimático, etc.
- Cambios químicos no enzimáticos: Autooxidación o enranciamiento.
- Desarrollo y actividad microbiana (generalmente a cargo de diversos microorganismos).