

XVI

EFECTOS DE LOS PROCESOS COMBINADOS DE CONSERVACIÓN SOBRE LOS MICROORGANISMOS

Prof. Dr. D. JOSÉ FERNÁNDEZ-SALGUERO
Universidad de Córdoba

EFFECTOS DE LOS PROCESOS COMBINADOS DE CONSERVACIÓN SOBRE LOS MICROORGANISMOS

Prof. Dr. D. JOSÉ FERNÁNDEZ-SALGUERO

Los microorganismos constituyen la principal causa de alteración de los alimentos. Además de su carácter alterante, muchos gérmenes representan una seria amenaza para la salud de los consumidores por cuanto son causa de numerosas intoxicaciones alimentarias de distinta gravedad. Se estima que en EE.UU. se producen cerca de 12 millones de intoxicaciones alimentarias al año (Todd, 1989). Para asegurar la estabilidad y seguridad de los alimentos frente a los microorganismos, la Tecnología de los Alimentos, utiliza distintos procesos de conservación, tanto tradicionales como de desarrollo reciente, para lograr su destrucción o la reducción de su número. Así, después de la obtención de la materia prima a partir del sector primario, la “Tecnología de los alimentos” trata de interponer algún proceso de conservación para evitar que los alimentos se alteren y así poderlos almacenar durante el mayor tiempo posible hasta que son consumidos. Para ello se recurre a diferentes procedimientos físicos, químicos y biológicos de conservación. Algunos de estos procesos de conservación (por ej., refrigeración, congelación, esterilización, desecación, fermentación, curado y ahumado) están bien establecidos en la industria alimentaria desde hace muchos años. Algunos de estos procesos requieren un grado de tecnificación elevado y en ocasiones también un alto coste de producción así como de almacenamiento y distribución. También algunos de estos procesos afectan desfavorablemente a las características organolépticas y reológicas de los alimentos conservados ya que se continúan aplicando bajo el concepto de “un único factor” de conservación como el responsable de la calidad del alimento.

Junto a los clásicos procesos de conservación están emergiendo tecnologías avanzadas que tratan de conservar alimentos u obtener productos alimenticios integrando conceptos tales como “mínimamente procesados” (también calificado como procesado “invisible”) y “procesos combinados de conservación”, “procesado no térmico de alimentos”, etc. Se trata en definitiva de aplicar procesos suaves para reducir su impacto sobre las características nutritivas,

dietéticas y sensoriales de los alimentos. Por tanto, la estabilidad del alimento no se basa en un único factor de conservación sino en el efecto combinado y/o sinérgico de varios procesos y/u obstáculos (también denominados barreras o vallas).

A pesar de que la obtención de productos alimenticios por aplicación de procesos y/o factores combinados están en pleno desarrollo, existen numerosos productos obtenidos con este mismo fundamento. Muchos de tales alimentos se encuadran en dos grupos de productos alimenticios ya acuñados en la terminología de los tecnólogos de los alimentos, como son los alimentos de **humedad intermedia** y los de **humedad alta**, existiendo en este último grupo los denominados productos autoestables que como luego veremos tienen características bien definidas.

Los alimentos de humedad intermedia (AHI) o alimentos semisecos se definen como aquellos alimentos que tienen un contenido acuoso intermedio entre los alimentos frescos y los deshidratados, que tienen suficiente plasticidad para ser consumidos sin necesidad de rehidratación y sobre todo que son estables a temperatura ambiente no precisando, por tanto, de refrigeración durante su etapa de almacenamiento y distribución.

La elaboración de AHI ha sido un excelente procedimiento de conservar los alimentos, practicado por el hombre desde la prehistoria. En analogía con la observación de la Naturaleza donde los granos y los tallos se secan por exposición al aire y al sol, el hombre primitivo aprendió a desecar la carne, a salazonar y ahumar el pescado, etc. Aunque desde hace décadas la Tecnología de los alimentos dispone de otros métodos más eficaces para conservar los alimentos a largo plazo aún se están utilizando las técnicas que empíricamente se han aplicado en la elaboración de multitud de alimentos semisecos.

La preparación de los AHI, básicamente ha consistido en reducir la disponibilidad del agua del alimento para de esa forma inhibir o retardar el crecimiento de los microorganismos, asegurando su estabilidad. En los alimentos frescos la disminución de la disponibilidad del agua por parte de los microorganismos o lo que es lo mismo la reducción de la actividad del agua (a_w) se logra básicamente desecando parcialmente el producto y/o adicionándole determinados humectantes (deshidratación osmótica).

Aunque se han propuesto diferentes rangos de contenido en humedad y de actividad de agua para los AHI, la opinión más generalizada (Tabla 1) es la de considerar AHÍ a aquellos alimentos que se encuentran en el rango de 0.60 y 0.90 de a_w (los de menos de 0.60 serían los de humedad baja, los de más de 0.90 de humedad alta e incluso dentro de estos los de a_w superior a 0.99 de humedad muy alta). En la Directiva Comunitaria CEE nº. 77/99

de 22-12-76 se introdujo el control de la a_w para clasificar los productos cárnicos en base a su conservabilidad. Así entre otros criterios se establecía que los productos con $a_w < 0.91$ se clasificaban como conservables siendo posible su almacenamiento sin necesidad de refrigeración. También indicaba otros productos cárnicos en conservables, perecederos y fácilmente perecederos junto con la temperatura recomendada de almacenamiento. Hoy día esta Directiva ha sido sustituida por la UE nº. 92/5 del 10-02-92.

Tabla 1
CLASIFICACIÓN DE LOS ALIMENTOS EN FUNCIÓN DE LA a_w .

	a_w	Humedad %*
* Alimentos de humedad (AHB)	0,00-0,60	0-20
* Alimentos de humedad intermedia (AHI)	0,60-0,90	10-50
* Alimentos de humedad alta (AHA)	0,90-0,99	25-100
* Alimentos de humedad muy alta (AHMA)	0,990-0,999	>40

Puesto que como hemos dicho al principio los AHI se denominan estables a temperatura ambiente sin necesidad de refrigeración y además se sabe que la mayoría de las bacterias alterantes no crecen por debajo de 0,91 (Forrest et al., 1975; Troller, 1986), hemos utilizado este criterio, de rango de a_w entre 0,60 y 0,91, para dar alguna información, que veremos al final, sobre productos cárnicos españoles seleccionados de humedad intermedia.

En la Tabla 2 se representa la a_w mínima necesaria para el crecimiento de los microorganismos patógenos causantes de intoxicaciones alimentarias. Como puede verse en ésta Tabla citada por Chirife y Favetto (1992), el límite de 0,91 de a_w de los AHI también es suficiente para inhibir a todos los patógenos a excepción del *Staphylococcus aureus* en condiciones aeróbicas. Con respecto a la a_w mínima de crecimiento de algunos microorganismos patógenos, también se sabe que no se puede establecer una siempre relación a_w vs. crecimiento microbiano sino que depende del soluto utilizado para reducir esa a_w (Troller, 1978). Recientemente Ballesteros et al. (1993) han observado que la actividad de agua mínima para el crecimiento del *S. aureus* en medios de cultivos es tan alto como de 0,975 cuando se incluye como soluto el etanol.

En cualquier caso, en el rango alto de a_w de los AHI el primer problema lo plantea la posibilidad de crecimiento del *S. aureus*. Si se reduce la actividad de agua a 0,85 para inhibir el crecimiento del *S. aureus* mediante adición de

humectantes, se precisan añadir grandes cantidades de dichos solutos. En la Tabla 3 se expone la concentración necesaria de los humectantes más frecuentemente utilizados en la industria alimentaria para hacer descender la actividad de agua a valores de 0,85 y 0,93 respectivamente.

Tabla 2
a_w MINIMA PARA EL CRECIMIENTO DE BACTERIAS PATÓGENAS
CAUSANTES DE INTOXICACIONES
(pH y temperatura óptima).

Bacterias patógenas	a _w
<i>Campylobacter jejuni</i>	0,990
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0,970
<i>Clostridium botulinum</i> Tipo E	0,970
<i>Shigella</i> spp.	0,960
<i>Yersinia enterocolítica</i>	0,960
<i>Clostridium botulinum</i> Tipo G	0,965
<i>Clostridium botulinum</i> Tipo A & B	,0945
<i>Clostridium perfringens</i>	0,950
<i>Vibrio parahemolyticus</i>	0,940
<i>Salmonella</i> spp.	0,940
<i>Escherichia coli</i>	0,935
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,930
<i>Bacillus cereus</i>	0,930
<i>Bacillus subtilis</i>	0,910
<i>Staphylococcus aureus</i> (anaeróbica)	0,910
<i>Staphylococcus aureus</i> (aeróbica)	0,860

A partir de diversas fuentes (Chirife y Favetto, 1992).

Aunque se redujera la actividad de agua por debajo de 0,85 habremos conseguido la seguridad del alimento pero no su total estabilidad ya que a estas actividades de agua, e incluso mucho menores, también pueden crecer las bacterias, levaduras y mohos alterantes.

Tabla 3
CONCENTRACIÓN DE LOS HUMECTANTES MAS FRECUENTES NECESARIOS
PARA REDUCIR LA ACTIVIDAD DE AGUA

Solutos	Concentración (g/100 g agua)	
	$a_w = 0,85$	$a_w = 0,93$
Cloruro potásico	34,4	16,4
Propilenglicol	51,5	25,8
Glicerol	78,0	35,8
Glucosa	138,1	66,0
Sorbitol	147,3	68,9
Sacarosa	203,9	106,4
Lactato sódico	46,5	23,2
Etanol	48,0	20,5
Cloruro sódico	23,6	11,9

Datos de Benmergui et al. (1979) y Chirife et al. (1980)

En consecuencia, si se reduce la a_w lo suficiente para estabilizar a los alimentos frente al crecimiento de los microorganismos aparecen otros problemas derivados de la influencia de los humectantes sobre las propiedades sensoriales, nutritivas y dietéticas de los alimentos. De ahí que la inhibición del crecimiento del *S. aureus* y de los microorganismos alterantes se tenga que garantizar con otros medios, factores, parámetros, vallas u obstáculos como pueden ser: pH, Eh, flora competitiva, adición de conservadores, etc.

Esta filosofía de preparar alimentos con una reducción moderada de la actividad del agua en combinación con otros procesos suaves o de intensidad media para producir alimentos microbiológicamente estables, fue propuesta para los productos cárnicos por Leistener y Rödel en 1976, dando origen al desarrollo de una nueva generación de alimentos (Leistener, 1987) denominados "Shelf-stable foods" (SSP) o "Alimentos autoestables" (AAE). Estos alimentos autoestables se definen como alimentos con una a_w superior a 0,90 (en contraste con los AHI) y un pH > a 4,6, aunque a veces se engloban entre actividades de agua de 0,90 a 0,95 y que pueden ser almacenados sin necesidad de refrigeración después de someterlos a un tratamiento térmico de pasteurización.

La conjunción de factores u obstáculos, es decir el denominado "efecto obstáculos" o "concepto obstáculos" fue introducido por Leistener y Rödel

en 1976 y Leistener 1978, para los productos cárnicos, dando origen a lo que ya se conoce como la “Tecnología de obstáculos”. Es evidente que esta filosofía de los métodos combinados de conservación se puede aplicar tanto a la obtención de alimentos autoestables como a los de humedad intermedia.

Aunque ya hemos apuntado algunos de estos parámetros o factores que se pueden combinar de forma inteligente para el desarrollo de productos estables, nos podríamos preguntar ¿Cuáles son los obstáculos que resultan implicados en la preparación de éste tipo de alimentos? Algunos de estos procesos de conservación como la fermentación, el curado, la congelación, el salazonado, etc. tienen uno o más factores fundamentales implicados, otros de menor importancia pero que también intervienen y otros que no intervienen en el proceso. Puesto que muchos de estos procesos de conservación se han practicado desde la antigüedad, es evidente que aunque de forma empírica el hombre ha utilizado los procesos combinados de conservación para obtener muchos de los alimentos estables que todos conocemos. Como Cherife et al. (1991) han demostrado, la momificación practicada en el antiguo Egipto, hace 4.000 años, constituía un claro ejemplo de método de conservación basada en el efecto obstáculos o de aplicación de métodos combinados.

En un amplio sector de la industria cárnica como es en la elaboración de productos crudos-curados, en los que existe una etapa de maduración y desecación, la secuencia de actuación de los obstáculos es como sigue: Al comienzo del período de maduración de los embutidos un importante obstáculo lo constituye el nitrito añadido con la sal de curado, ya que el nitrito inhibe a las salmonelas. El nitrito junto con otros solutos ingredientes (particularmente los de bajo peso molecular) provocan la caída de la a_w desde 0,99 a 0,97 que inhibe también la mayoría de las bacterias gram negativas, con lo que se favorece el crecimiento de la flora láctica, micrococos y estafilococos no patógenos. El crecimiento de estos microorganismos hace descender el Eh que a su vez inhibe a los organismos aeróbicos como los *Pseudomonas* y favorece de nuevo la selección de flora competitiva, fundamentalmente ácido láctico. El crecimiento de la flora láctica hace reducir el pH que actúa también como obstáculo. De esta forma los embutidos madurados son un claro ejemplo de AHI obtenidos por aplicación de factores combinados. También en la preparación del jamón curado participan varios factores obstáculos.

Los obstáculos pueden cambiar de altura a lo largo del almacenamiento de los distintos alimentos y por tanto, cambiar su importancia en la inhibición de crecimiento microbiano. Pero también los obstáculos pueden actuar no sólo con efecto aditivo, sino con efecto sinérgico, con lo que la altura de los obstáculos se va incrementando a mayor nivel que el que representan dichos

obstáculos individualmente. Esto ocurre cuando diferentes factores tienen distintos objetivos dentro de la célula microbiana y de esa manera se altera la homeostasis celular de diferentes formas (Gouls, 1988).

En la preparación de productos cárnicos crudos-cocidos, en cuya tecnología de elaboración está implicada la aplicación de los factores combinados de conservación (Fernández-Salguero, 1995), se puede hacer la siguiente clasificación basada en la conservabilidad:

1. Aquellos que sufren un tratamiento térmico ligero y que pueden conservarse a temperaturas $<5^{\circ}\text{C}$ durante un período de 6 semanas a 6 meses. Se incluyen las salchichas tipo Frankfurt, jamones cocidos y similares que se denominan semiconservas.
2. Los que pueden conservarse a temperaturas $<10^{\circ}\text{C}$ durante períodos de hasta 1 año y sin refrigeración durante 6-8 semanas. Se incluyen las salchichas de Bolonia, salchichas de hígado y mortadela y se denominan conservas tres cuarto. Se incluyen en este grupo los denominados productos cárnicos autoestables.

En el primer grupo, la intensidad del tratamiento, aunque variable, es baja, incapaz de afectar a la flora esporulada. Se dan valores para el obstáculo $F_{70^{\circ}\text{C}}=30-60$. Puesto que estos productos tienen un pH de 6,0 superior y una alta a_w además del tratamiento térmico, los principales obstáculos los constituyen los nitritos, el bajo Eh ya que se envasan al vacío y la refrigeración durante su almacenamiento y distribución. De ahí que no se podrían llamar a estos productos AAE propiamente dichos.

En el segundo tipo de productos cárnicos, entrarían los denominados AAE. El tratamiento térmico recibido, en recipientes o en envolturas herméticas y a temperaturas entre $70-110^{\circ}\text{C}$ debe ser suficiente para la destrucción de la totalidad de la flora no esporulada y para ejercer efectos subletales sobre los esporos.

Dependiendo de qué obstáculo sea el más importante de entre los que contribuyen a dar estabilidad al producto se pueden distinguir hoy día: F-AAE, a_w -AAE, pH-AAE y Combi-AAE. Los productos autoestables a_w -AAE y pH-AAE, se han elaborado tradicionalmente desde hace muchos años: los F-AAE son más recientes desde hace unos 12-15 años y los combi-AAE se encuentran en la actualidad en pleno desarrollo.

En los F-AAE, el tratamiento térmico dado constituye el principal factor de estabilidad; se aplica un tratamiento equivalente a un valor F_0 de 0,4 ó 0,6-0,8 que inactiva todos los organismos vegetativos y lesiona subletalmente los esporos (Leistener, 1992). En estos productos, existen también otros tres

la flora competitiva (estárter), el pH, la adición de conservadores y la actividad de agua. Otros productos lácteos como la leche condensada se estabilizan en función del tratamiento térmico y la reducción de la a_w conseguida mediante evaporación del agua y adición de sacarosa. Igualmente, se podría decir de numerosos productos derivados de las frutas y hortalizas como miel, mermeladas, dátiles, higos etc.

Un ejemplo de preparación de alimentos nuevos basados en la “Tecnología de obstáculos” es la preparación de alimentos para animales de compañía y que incluso ha resultado eficaz esta filosofía ya que antes se preparaban alimentos con una a_w en el producto final de 0,85 con lo que se requería adicionar bastante propilenglicol. Otro ejemplo de producto cárnico de humedad intermedia nuevo es el mini-salami. Este producto se consume como “snack” y se produce en grandes cantidades en Alemania y EE.UU. Este producto se prepara como un embutido fermentado o como embutido desecado tipo Bolonia. En el envasado del mini-salami se utiliza una atmósfera modificada (CO_2) para retardar el enranciamiento y evitar el crecimiento de mohos.

Como conclusión se puede decir que los procesos combinados de conservación de alimentos o los alimentos obtenidos por la denominada Tecnología de obstáculos no es un proceso nuevo, pero el uso inteligente de su fundamento presenta una enorme potencialidad de I+D para mejorar el suministro, almacenamiento y distribución de los alimentos a nivel mundial y más concretamente en los países en vías de desarrollo.

BIBLIOGRAFÍA

- Ballesteros, S.A., Chirife, J. & Bozzini, J.P. (1993). Specific solute effects on *staphylococcus aureus* cells subjected to reduced water activity. **Int. J. Food Microb.**, aceptado.
- Benmergui, E.A., Ferro Fontán, C. & Chirife, J. (1979). The prediction of a_w in aqueous solutions in connection with IMF. 1. Prediction in single aqueous electrolyte solutions. **J. Food Techn.**, **14**, 625
- Chirife, J., Ferro Fontán, C. & Benmergui, E.A. (1980). The prediction of a_w in aqueous solutions in connection with IMF. 4 a_w prediction in aqueous non-electrolyte solutions. **J. Food Techn.**, **15**, 59
- Chirife, J. & Favetto, G.J. (1992). Some Physico-chemical basis of food preservation by combined methods. **Fd. Res. Int.** **25**, 389
- Chirife, J., Favetto, G., Ballesteros, S. & Kitic, D., (1991). Mummification in ancient Egypt: an old example of tissue preservation by hurdle technology. **Lebensm. Wiss. u. Technol.** **24**, 9

- Commonautés Economiques Européennes (1976). Doc. R/604/74: "Meat products", 77/99, AGRI 209
- Fernández-Salguero, J. & Llinares, M. (1985) Water activity (a_w) in cooked Spanish meat products as a function of moisture and salt contents. **Fleischwirtsch.**, **65**, 477
- Fernández-Salguero, J., Gómez, R. & Carmona, M.A. (1994). Water activity of Spanish intermediate moisture meat products. **Meat Sci.**, **38**, 341-346
- Fernández-Salguero, J. (1995) Conservación de productos cárnicos por aplicación de factores combinados: Productos españoles de humedad intermedia y alta. **Rev. Esp. Cien. Y Tec. Alim.**, **53**, 233
- Forrest, J.C., Aberle, E.D., Hedrick, H.B., Judge, M.D. & Merkel, R.A. (1975) *In Principles of Meat Science*. W.H. Freeman & Co. San Francisco, p. 234
- Gould, G.W. (1988) *In Homeostatic Mechanisms in Micro-organisms*. R. Whittenbury n°. 44, p. 220
- Leistener, L. & Rödel, W. (1976) The stability of intermediate moisture foods with respect to micro-organisms. *In intermediate Moisture Food*. Davies, R., Birch., G.G. & Parker, K.J. (Ed.). Applied Science Publishers, London, p. 120
- Leistener L. (1978) Hurdle effect and energy saving. *In Food Quality and Nutrition*. Downey, W.K. (Ed.) Applied Science Publishers, London, P. 553
- Leistener, L. (1987). Shelf-Stable Products and Intermediate Moisture Foods Based on Meat. *In Water Activity: Theory and Application to Food* (L.B. Rockland & L.R. Beuchat Eds.). Marcel Dekker, Inc. New York and Basel, p. 304
- Leistener, L. (1992). Food preservation by combined methods. **Fd. Res. Int.**, **25**, 151
- Tood, E.C.D. (1989). Preliminary estimates of costs of foodborne disease in the United States. **J. Food. Prot.**, **52**, 595
- Troller, J.A. "Adaptation and Growth of Microorganisms in Enveroments with Reduced Water Activity". *In Water Activity: Theoy and Applicions to Food* (L.B. Rockland & L.R. Beuchat Eds.), 1978, 106
- Troller, J.A. (1986) Water relations of foodborne bacterial pathogens. An updated review. **J. Food Prot.**, **49**(8), 656

