III-1.

ALTERACIONES MICROBIANAS

III.1.1 IMPORTANCIA DE LAS ALTERACIONES MICROBIANAS ENTRE LOS DIVERSOS TIPOS DE ALTERACIONES DE ALIMENTOS

El deterioro de los alimentos puede originarse por diversas causas: ataque de insectos y otros animales, principalmente roedores; acción de enzimas, normalmente presentes en los tejidos vegetales y animales; reacciones puramente químicas, tales como hidrólisis, oxidación, pardeamiento no enzimático; acción de agentes físicos: helada, calor, humedad, sequedad; en fin, proliferación y acción de microorganismos.

Lo usual es que las diversas alteraciones intervengan de forma simultánea o sucesiva; así, por ejemplo, el apelotonamiento de un producto en polvo, debido a su humidificación, muchas veces sólo es la primera etapa hacia otras alteraciones, algunas de ellas de origen microbiano.

Estas últimas tienen, entre los diversos tipos de alteraciones, una importancia particular. En efecto, por un lado representan para una gran parte de los productos alimenticios la alteración más frecuente, pues raro es aquél que no puede servir de sustrato, por lo menos a algunos mohos; por otro lado, hay numeroso microoganismos que no sólo degradan los alimentos, sino que los hacen dañinos para la salud del consumidor.

Es por tanto justificado que se haga un capítulo aparte con las alteraciones microbianas; además, su conocimiento resulta indispensable para poder combatirlas eficazmente.

III.1.2 LOS DIVERSOS ASPECTOS DE LA BACTERIOLOGIA ALIMENTARIA

El estudio de la bacteriología alimentaria puede enfocarse desde puntos de vista muy diversos:

a) el del microbiólogo que trata de identificar cada microorganismo causante y estudiar sus condiciones de cultivo y caracteres;

b) el microbiólogo, que dedica su atención especial a las especies patógenas o productoras de toxinas,
c) el punto de vista del bioquímico se orienta hacia las modificaciones químicas y físico-químicas resultantes de la acción de los microorganismos;
d) el tecnólogo estudia especialmente los métodos y procedimientos para luchar contra los microorganismos;
e) finalmente, podríamos estudiarla según la categoría del alimento.

Este último planteamiento es el escogido por nosotros; pero, hay que recordar que los diversos aspectos de la bacteriología forman una unidad y no se podría olvidar uno sin afectar al conjunto. Además, antes de examinar los diversos grupos de alimentos es conveniente recordar algunos principios generales de la lucha contra los microorganismos y pasar revista a los diversos factores que pueden intervenir.

III.1.3 HIGIENE Y OTROS MEDIOS DE LUCHA (VER CAPITULO IX)

No cabe duda que la higiene, es decir el conjunto de precauciones conducentes a *evitar las contaminaciones*, constituye la primera regla a seguir en todas las fases de manipulación y tratamiento de productos alimenticios. La carga microbiana presente sobre o en un alimento es tan importante cuantitativa como cualitativamente; cuanto más alto sea el *número* de gérmenes, mayor será el riesgo de alteración y la conservación más difícil y con mayores probabilidades de tener especies patógenas; en cuanto a la *naturaleza* de la flora microbiana, su conocimiento permite distinguir las especies particularmente peligrosas para la buena conservación de determinado producto, de aquellas que son indiferentes o incluso favorables, así como identificar las especies patógenas que pudiesen estar presentes; asimismo, esto puede aclarar la procedencia de algunas contaminaciones.

Algunos alimentos poseen, al estado natural, una protección mecánica contra las contaminaciones exteriores: tegumento de las frutas, vaina de ciertas legumbres, cáscara de las almendras o huevos; conviene no dañar estas envolturas protectoras, porque facilita la entrada al interior de los microbios.

La envoltura protectora también puede ser artificial: hoja o bolsa de papel, aluminio, plástico; embalajes diversos más o menos herméticos; capas de parafina aplicada por pulverización, etc.

Lo más esencial es vigilar *constantemente* y no exponer los productos alimenticios a contaminaciones: locales, máquinas e instrumentos limpios; personal limpio. Como ejemplos clásicos de las medidas que hay que tomar, para asegurar la salubridad y buena conservación de los alimentos muy favorables a la proliferación de microorganismos, está la higiene en los mataderos de animales de abasto y en la preparación, transporte y distribución de carnes; higiene en el ordeño de las vacas y en la distribución y tratamiento de la leche.

Otra regla que jamás se puede perder de vista es la de impedir que los gérmenes se multipliquen durante el tratamiento de los productos; con este fin, se debe de evitar en todo lo posible y durante todas las fases de trabajo, dejar en reposo los productos a temperaturas favorables a una rápida proliferación de microorganismos (30 a 55° C según las especies) e igualmente procurar suprimir en canalizaciones, aparatos y fábricas los "puntos muertos" y recodos que puedan escapar a la limpieza y constituir así focos de contaminación. Si las condiciones son favorables, algunas bacterias se duplican en 20 minutos, un solo germen puede dar así origen en 7 h a 2 [illegible] gérmenes [illegible] de 1 [illegible] Jones!

La *eliminación mecánica* de los microorganismos es otro medio que permite reducir la carga microbiana. El lavado con agua de frutas y legumbres, utensilios, máquinas, locales, etc, representa el ejemplo más frecuente. Hay que tener cuidado que el agua utilizada cumpla el mínimo de normas bacteriológicas para agua potable y, a ser posible, estar totalmente exenta de gérmenes (filtración, cloración).

La eliminación completa de gérmenes por vía mecánica sólo es posible con líquidos límpidos. Así la *filtración* se utiliza mucho para el agua, vino y, a veces, la cerveza, así como con ciertos zumos de frutas. Un inconveniente es el hecho de que si hay enzimas, no se eliminan, por lo que su acción puede proseguir en detrimento del producto. La *centrifugación*, utilizada sobre todo para eliminar materias extrañas, por ejemplo, para limpiar la leche o clarificar algunos zumos de frutas, también elimina parte de los microorganismos; por tanto, puede contribuir a reducir la carga microbiana.

Los otros medios de lucha contra los microorganismos son los sistemas de conservación: refrigeración y congelación; tratamientos térmicos (pasteurización y esterilización); deshidratación; antisépticos y antibióticos, irradiación. No vamos a estudiarlos ahora, por ser motivo de un capítulo específico.

III.1.4 FACTORES DE LOS QUE DEPENDEN LA FLORA QUE ALTERA LOS ALIMENTOS

La evolución de la flora microbiana, incialmente presente sobre, o en, un producto alimenticio, depende de numerosos factores: 1) los caracteres físicos y químicos del alimento; 2) los tratamientos a los cuales fue sometido; 3) las condiciones ambientales; 4) la naturaleza y características de las especies presentes. Mossel e Ingram, Jay y Mossel (ver bibliografía) hicieron excelentes resúmenes de estos aspectos del problema

Son muy pocas las especies iniciales que participan en el proceso de alteración y se encuentran al final del mismo. En efecto, debido a los diversos factores en juego, se produce con las especies presentes una selección a lo largo de varias etapas. Algunas consiguen cierta ventaja al principio, pero dejan su sitio a otras que encuentran, en el medio ya modificado por las primeras, condiciones más favorables. En la evolución de la flora bacteriana del pescado almacenado en hielo, tenemos un buen ejemplo.

Lo mismo se puede decir de la leche o durante la fermentación láctica de productos vegetales como los pepinillos.

III.1.4.1 CARACTERES DEL ALIMENTO

a) *pH*. Es harto conocido que las frutas ácidas están sujetas a los ataques de mohos y levaduras, mientras que las legumbres, carnes y pescados constituyen medios más favorables para las bacterias.

La diferencia se debe principalmente al pH. Muchos mohos aún se desarrollan a pH próximo a 2,0 o superior a 9,0 y las levaduras, entre pH 2,5 y pH 8,5; por el contrario, son raras las bacterias capaces de proliferar a pH inferiores o próximos a 4,0 (*Lactobacillus*, por ejemplo) y siempre que las otras condiciones sean apropiadas. Los *Clostridium*, y más concretamente el *C. botulinum*, tan peligroso a causa de la toxina que produce y de la resistencia de sus esporas al calor, no tolera medios demasiado ácidos; así, el *C. botulinum* no se desarrolla por debajo de pH 4,5 y esta característica permite

aplicar tratamientos térmicos, relativamente suaves, pa. la mayoría de las frutas en conserva. Lo mismo ocurre con los productos cuyo pH se bajó deliberadamente, ya sea por adición de ácidos (por ejemplo, escabeches) o por fermentación láctica (choucroute, pepinillos). Con relación a esto hay que recordar el poder tampón del alimento, es decir, la inercia que se opone a los cambios del pH; los alimentos pobres en proteínas, tales como las legumbres verdes, tienen menor poder tampón que la carne o el pescado y se dejan acidificar más fácilmente.

b) *Potencial de oxi-reducción.* La capacidad más o menos oxidante o reductora de un medio, cuya medida es el potencial de oxi-reducción, tiene una función muy importante en la proliferación de microorganismos; algunas especies sólo se desarrollan en medios relativamente oxidantes o en presencia del aire, mientras que otras, por el contrario, exigen medios reductores y sólo proliferan en ausencia de aire. Desde Pasteur, se distinguen así gérmenes *aerobios* y *anaerobios* y este carácter es un elemento importante para la clasificación de los microorganismos. Resultan considerables las diferencias de un grupo de especies a otro: al lado de *aerobios estrictos* (por ejemplo la mayor parte de los mohos), que exigen potenciales de + 200 mV, o superiores, y de *anerobios estrictos*, que necesitan potenciales de – 200 mV, se encuentran los anaerobios *facultativos*, que se desarrollan tanto en aerobiosis como anaerobiosis y las especies llamadas *microaerófilas*, que exigen potenciales de oxi-reducción poco inferiores a cero. Los potenciales de oxi-reducción dependen principalmente de los caracteres bioquímicos de los alimentos que, naturalmente, no son inmutables; por otra parte, hay que considerar las posibilidades de acceso del oxígeno del aire, supeditado a la presión parcial del oxígeno, en la atmósfera que rodea el alimento, la estructura física del mismo y la presencia eventual de un embalaje más o menos impermeable a los gases.

c) a_w *(Actividad del agua).* La noción de actividad del agua y su importancia ya fue motivo de un capítulo anterior, en el cual se mencionaron algunos a_w mínimos necesarios al desarrollo de diversos grupos de microorganismos (ver I.13.4). El cuadro III.1-1 da indicaciones más detalladas sobre esto.

Como se ve, los mohos son menos exigentes que las bacterias, confirmando así lo que ya se dijo a propósito del pH; a a_w muy altas, hay preferentemente bacterias, porque proliferan más rápido que las levaduras y los mohos (excepto a pH ácidos).

Para una especie determinada, el intervalo de a_w que permite su desarrollo es tanto más amplio cuando más apropiadas sean las otras condiciones del medio, incluida la temperatura.

d) *Nutrientes.* Además de un mínimo de agua, los microorganismos tienen que disponer para su crecimiento de diversos nutrientes: suministro de energía, aporte de nitrógeno, factores de crecimiento, sales aportando diversos elementos químicos indispensables, etc. En esto también se observan notables diferencias entre un grupo de especies y otro: los mohos son – una vez más – los menos exigentes; por el contrario, las bacterias gram-positivas se presentan como más difíciles.

En general, la mayoría de los gérmenes que intervienen en la alteración de alimentos encuentran en ellos todos los nutrientes necesarios; pero, si bien es cierto que la mayor parte de las especies tienden a utilizar los compuestos más simples, por ejemplo hexosas y aminoácidos, son muy pocas las que disponen de la organización enzimática que les permita atacar otras moléculas más complejas: amilasas para hidrolizar el almidón, enzimas pectinolíticas para deshacer la estructura péctica de los vegetales, celulasas, enzimas lipolíticas y proteolíticas. Frecuentemente las especies así dotadas lo que hacen es preparar el terreno para otros gérmenes.

Cuadro I. -1

Actividad del agua, contenido en agua y alteración microbiana de algunos alimentos (según D.A.A. Mossel in: R. Duckworth, ed. "Water Relations of Foods", © Academic P., London, 1975)

Valores de a_w	Gérmenes inhibidos en el límite inferior de cada intervalo	Ejemplos de alimentos que se sitúan en el correspondiente intervalo de a_w
1,00-0,95	Bacilos gram –; esporas bacterianas; algunas levaduras	Alimentos conteniendo 40 % (en peso) de sacarosa; ó 7 % de sal, por ejemplo algunas salchichas cocidas; migas de pan
0,95-0,91	La mayoría de los cocos; lactobacilos; formas vegetativas de *Bacillaceae*; algunos mohos	Alimentos con 55 % de sacarosa; o con 12 % de NaCl, por ejemplo jamón crudo seco; queso tipo Holanda, semi-duro
0,91-0,87	La mayoría de las levaduras	Alimentos con 65 % de sacarosa (a saturación) o un 15 % de NaCl, por ejemplo salchichón seco; queso tipo Holanda, duro
0,87-0,80	La mayoría de los mohos; *Staph. aureus*	Harina, arroz, legumbres secas, etc, conteniendo 15 a 17 % de humedad; "cakes"; leche condensada azucarada (a_w = 0,83 aprox.)
0,80-0,75	La mayoría de las bacterias halófilas	Alimentos con 26 % de NaCl (a saturación); pasta de almendras, conteniendo 15 a 17 % de humedad; confituras y mermeladas
0,75-0,65	Mohos xerófilos	Copos de avena, conteniendo aprox. 10 % de humedad
0,65-0,60	Levaduras osmófilas	Frutas deshidratadas conteniendo 15 a 20 % de humedad; caramelos blandos y corrientes, con un 8 % de humedad
0,50		Pastas alimenticias con un 12 % de humedad; especies con un 10 % de humedad
0,40		Huevos enteros en polvo, con un 5 % de agua
0,30		Bizcochos, pan rallado, corteza de pan, etc, con 3 a 5 % de humedad
0,20		Leche completa en polvo 2-3 % agua. Legumbres deshidratadas, con un 5 % de agua; copos de maíz con un 5 % de agua

No sólo intervienen las grandes moléculas; el empleo de diversas hexosas y disacáridos para distinguir e identificar especies de microbios, dentro de un mismo género, es un ejemplo de esta especificidad.

Tanto los glúcidos como los lípidos y proteínas pueden servir como fuente de energía; frecuentemente en los alimentos ricos en glúcidos, las alteraciones se inician por una fermentación y el descenso del pH, que resulta por la formación de ácidos, inhibe los microorganismos proteolíticos e impide o retarda la putrefacción (Mossel e Ingram, ver bibliografía).

Entre los factores indispensables del crecimiento, están sobre todo las vitaminas del grupo B y los aminoácidos, que algunas especies son incapaces de sintetizar. En el caso de alimentos naturales, es rara la carencia de factores de crecimiento; también por lo general, contienen cantidades suficientes de los diversos elementos químicos que necesitan.

e) *Compuestos anti-microbianos naturales*

Algunos alimentos contienen de forma natural compuestos anti-microbianos: por ejemplo, el ácido benzoico de ciertas bayas, lisozimas en la clara del huevo, ciertos ácidos grasos o ciertos aldehidos; por otro lado, las alteraciones químicas, tales como la rancidez de las grasas o el pardeamiento no enzimático, dan origen a compuestos dotados de propiedades antimicrobianas. No obstante, se trata de sustancias de espectro bacteriostático muy limitado, incluso muy lábiles, por tanto poco eficaces, de tal forma que su importancia práctica es secundaria, por no decir insignificante.

III.1.4.2 TRATAMIENTOS

a) *Modificación de los caracteres físicos o químicos*

Según lo que acabamos de indicar, todo tratamiento que modifique los caracteres químicos o físicos de un alimento va a influir sobre la flora microbiana, susceptible de provocar alteraciones.

Así ocurre con los cambios de a_w, que resultan de una desecación, adición de sal o azúcar o de una humidificación, lo mismo que las variaciones de pH por adición de un ácido o fermentación.

La cocción, independientemente de la acción directa del calor sobre los microorganismos, determina modificaciones químicas; por ejemplo, origina hidrólisis de polisacáridos como el almidón, extracción después de hidrólisis de proteínas como la gelatina, coagulación de proteínas como la ovoalbúmina, que influyen sobre el desarrollo de los gérmenes presentes. De esta forma, el calentamiento puede representar modificaciones poco aparentes y además imperfectamente conocidas, que confieren al medio propiedades inhibidoras frente a los gérmenes (Amaha; Perigo y al., ver bibliografía).

El ahumado de carnes y pescados une los efectos del calor, al de secado y compuestos antisépticos presentes en el humo de la madera.

Algunos procesos como el corte, pelado de frutas y legumbres, triturado, prensado, la adición de agentes emulsionantes o estabilizantes, etc, presuponen cambios de estructura física, que no cabe duda que afectan a la flora microbiana.

b) *Tratamientos térmicos*

Si los microorganismos se someten a una temperatura suficientemente elevada, durante un tiempo suficientemente largo, mueren, pero su resistencia al calor varía considerablemente de una especie a otra y aun de una cepa a otra e incluso dentro de la misma cepa, según las condiciones y edad del cultivo (Hinshelwood, ver bibliografía). El factor más importante en la resistencia al calor es la presencia o ausencia de esporas; éstas resisten mucho más que las formas vegetativas y es conveniente resaltar que las especies termo-resistentes se encuentran entre las capaces de formar esporas.

Con relación a los mohos, cuyas esporas son moforlógica y fisiológicamente muy

diferentes de las formas resistentes llamadas "esporas" de bacterias, hay que resaltar que presentan mínima resistencia al calor. Las mayores resistencias (del orden de 10 mn a 95°C a pH 4,0 para 10^6 esporas ml) se observaron con *Byssochlamys sp.* y *Paecilomyces sp.*

La resistencia al calor no depende solamente de la temperatura y de su tiempo de actuación, sino también del número de microbios presentes; su mejor expresión es la reducción decimal D, que indica el tiempo necesario para destruir, a una temperatura dada, el 90 % de los gérmenes (ver "Esterilización", VII.1.3.1); sin embargo, esta expresión implica que la curva de destrucción térmica sea logarítmica, lo que no siempre ocurre.

El tratamiento térmico afecta a las células de las bacterias, aun cuando no sea suficiente para destruirlas; quedan entonces más sensibles a los agentes inhibidores presentes en el medio. Por otra parte, según la intensidad del calentamiento hay una selección entre las especies presentes; así, un tratamiento térmico moderado elimina la mayor parte de los gérmenes no esporulados, dejando sobrevivir sólo los más resistentes, entre ellos algunos tales como *Micrococcus* y *Streptococcus*; por el contrario, después de un calentamiento intenso, sólo quedan esporas de especies muy termorresistentes tales como *Clostridium sporogenes* y *C. thermosaccharolyticum*. Esto indica que la alteración bacteriana varía según que el producto se haya calentado más o menos. Un ejemplo típico es el de la leche: la pasteurización habitual (30 mn a 62°C ó 15 segundos a 72°C) deja vivos los *Streptococcus* y los *Lactobacillus* productores de ácido láctico a expensas de la lactosa; así la alteración normal de la leche pasteurizada se traduce en una acidificación progresiva que conduce a la coagulación de la caseína, alteración no peligrosa y muy llamativa; por el contrario, la leche esterilizada, en la que se eliminaron las especies acidificantes, está expuesta a la proliferación de especies termorresistentes putreficantes, tales como los *Clostridium*.

El pH tiene una gran influencia sobre la resistencia al calor, con un máximo que se sitúa en torno a pH 7; por lo tanto, desde el punto de vista bacteriológico, los productos de pH más bajo son los más fáciles de conservar tanto en razón a la menor resistencia de los microorganismos al calor, como por el hecho de que a pH bajo, ya no proliferan muchas especies de bacterias. No deben confundirse estos dos efectos del pH.

Igualmente la a_w influye sobre la resistencia al calor, pero el efecto varía mucho, aun con una misma a_w, según el carácter químico de los compuestos que la determinan. Así, a las grasas se le atribuyó algunas veces un efecto envolvente protector, pero parece que su influencia se debe fundamentalmente a la ausencia de agua y de un modo secundario a la acción bacteriostática de algunos ácidos grasos.

c) *Otros tratamientos*

Resulta conveniente recordar otros tratamientos tales como la irradiación U.V., las radiaciones ionizantes (ver VII.1.4), las vibraciones ultrasónicas, etc, que pueden, al igual que el calor (aunque de una manera cualitativa y cuantitativa distinta), modificar selectivamente la flora microbiana; sólo se utilizan en determinados casos y para productos específicos.

III.1.4.3 CONDICIONES AMBIENTALES

a) *Temperatura de almacenamiento*

Cada especie bacteriana prolifera únicamente entre ciertos límites de temperatura y tiene, para su desarrollo, una temperatura óptima. Por eso la temperatura de alma-

cenamiento va a tener una influencia considerable sobre la alteración que pueda padecer un alimento.

En general, teniendo en cuenta la temperatura a la cual proliferan, se distinguen tres grupos de microorganismos que afectan a los alimentos:

Microorganismos	Temperatura de desarrollo °C		
	mínima	óptima	máxima
Psicrófilos	−15	+10	+20 aprox.
Mesófilos	+5 a +10	+30 a +40	+50 aprox.
Termófilos	+40	+50 a +55	+65

En cada grupo se encuentran especies para las cuales el carácter termófilo, mesófilo o psicrófilo es estricto y otras para los que es facultativo; asimismo los límites de temperatura son más o menos amplios; ciertos *Streptococcus* se desarrollan entre 0 y 30 grados.

Estos datos son suficientes para confirmar que las posibles alteraciones bacterianas que pudieran presentarse van a variar según la temperatura de almacenamiento.

En el caso de productos almacenados en frigoríficos, se observa una proliferación de psicrófilos, especialmente de los géneros *Streptococcus*, *Pseudomonas* y *Achromobacter*; igualmente, numerosos mohos se acomodan a temperaturas muy bajas y proliferan rápidamente entre −5 y +5°C. Los termófilos se encuentran sobre todo entre los *Bacillus* y los *Clostridium*, esporulados dotados frecuentemente de una fuerte resistencia al calor; tienen importancia especial para las conservas.

b) *Humedad relativa*

La humedad ambiente interviene sobre todo en la proliferación de microorganismos en la superficie de los productos alimenticios; pero no hay que olvidarse que varía en función de la temperatura y que por otra parte hay tendencia a establecerse un equilibrio entre la humedad relativa del ambiente y la actividad de agua del producto. Es por tanto un factor que no puede considerarse independientemente de los otros.

Los productos que tienen tendencia a cubrirse de mohos o de levaduras que proliferan en su superficie se conservan mejor cuando la humedad relativa es baja, pero al mismo tiempo se desecan. Esta relación es fundamental en la fabricación de salchichones secos, donde las condiciones apropiadas de temperatura y humedad relativa permiten obtener al mismo tiempo que el grado de deshidratación deseado, la conveniente flora superficial.

c) *Atmósfera ambiente*

Además del vapor de agua, también intervienen otros gases de la atmósfera, tales como el oxígeno, nitrógeno y anhídrido carbónico, los cuales afectan a la flora bacteriana susceptible de alterar un alimento.

Según comentamos anteriormente, la presión parcial del oxígeno influye sobre el potencial de oxi-reducción que tiene un alimento; sin embargo, el que más interviene sobre la flora de alteración es el potencial del alimento, porque, por lo general, resulta poco afectado por las variaciones moderadas de la presión de oxígeno. A veces, por ejemplo en los trozos de carne cruda, se observa un desarrollo de flora aerobia (por ejemplo, mohos) en la superficie y una flora anaerobia en profundidad.

mohos y los otros microorganismos aerobios estrictos no se desarrollan en una atmósfera privada de oxígeno; no obstante, con algunas especies se necesita descender a presiones de oxígeno muy bajas para impedir todo crecimiento.

Tanto el nitrógeno como el anhídrido carbónico reemplazan al oxígeno, pero el segundo posee además una acción bacteriostática propia. El anhídrido carbónico se emplea para el acondicionamiento de atmósferas destinadas a la conservación de manzanas y peras; bajo presión elevada contribuye a la conservación de bebidas gaseosas en recipientes pequeños y también se utiliza (procedimiento Böhi) para almacenamiento a granel de algunos zumos de frutas.

III.1.4.4 NATURALEZA Y CARACTERISTICAS DE LAS ESPECIES

a) *Velocidad de crecimiento*. Cuando están presentes diversas especies (lo cual ocurre normalmente), las células que proliferan más rápido aventajan a las especies lentas, incluso en su medio favorable. Así, en los alimentos donde ni el pH ni la a_w u otros caracteres inhiben el crecimiento de bacterias, son éstas las que preceden a las levaduras y mohos.

b) *Simbiosis y antagonismos*. La influencia recíproca, en su sentido favorable o desfavorable, de una especie microbiana sobre otra, resulta de diversos mecanismos; ya hicimos alusión a algunos de ellos.

Así tenemos la preparación del terreno por hidrólisis de glúcidos o de proteínas o la producción de factores de crecimiento, especialmente vitaminas del grupo B; en el sentido opuesto está la competencia ante el uso de nutrientes indispensables. Modificaciones del pH por producción o consumo de ácidos o incluso por proteólisis. Elevación del a_w, por ejemplo, en los productos ricos en azúcar, por levaduras osmófilas que bajan el contenido en residuo seco y abren el camino a especies más exigentes. La eliminación de compuestos bacteriostáticos, cuya presencia impediría el desarrollo de otras especies o se opondría a la producción de sustancias inhibidoras, como el etanol y anhídrido carbónico de la fermentación alcohólica o como los diversos antibióticos. Mossel (ver bibliografía) expone distintos ejemplos a los cuales podrían añadirse otros muchos más, pues son frecuentes los casos de interferencia entre especies bacterianas que se desarrollan a expensas de un mismo sustrato.

III.1.5 CATEGORIAS DE ALIMENTOS

III.1.5.1 CEREALES Y DERIVADOS

Los *granos de cereales* y las *harinas* tienen, en general, una a_w tan baja que impide el desarrollo microbiano. Las malas condiciones de almacenamiento (locales húmedos, alimentos expuestos a fuertes variaciones de temperaturas y por consiguiente a condensaciones de humedad, proximidad a productos que pueden ceder su humedad, etc) pueden, algunas veces, llevar la a_w encima de 0,70 y hacer posible la presencia de mohos; esto motiva el descenso de calidades organolépticas y también el riesgo de producirse micotoxinas (Jarvis, ver bibliografía).

(Aunque no se trata de cereales, se puede recordar aquí que la situación es prácticamente la misma para las "legumbres secas" – granos de leguminosas – y para numerosas semillas oleaginosas.)

Una humidificación todavía más fuerte va a permitir también el desarrollo de leva-

..., pero para esto se necesitan circunstancias excepcionales en el momento de la cosecha, por ejemplo, mal tiempo o inundaciones.

Las harinas y féculas (almidones) llevan a veces, cargas microbianas muy altas (especialmente esporas), que pueden comprometer la estabilidad de los productos donde se usan, concretamente el pan; por esto, en EUA, se llegaron a proponer normas bacteriológicas para las harinas de panificación, así como para las harinas y almidones destinados a la preparación de conservas (ver "Laboratory Manual", National Canners Association). Esto implica, evidentemente, aunque sea de forma parcial, métodos de desinfección de las harinas; no cabe duda que la decoloración por el peróxido de benzoilo o el cloro (operación no autorizada en Francia) contribuye a reducir la carga microbiana, pero son sobre todo la limpieza y el lavado de los granos y el ajustarse a las reglas generales de higiene lo que constituye las medidas más eficaces.

El pan padece fundamentalmente dos alteraciones microbianas; puede enmohecer o bien hacerse "filante". Durante la cocción el pan alcanza en su masa una temperatura que, por lo general, es inferior a 100°C. A la salida del horno está prácticamente exento de esporas de mohos, pero se recontamina rápidamente, por las que están presentes en el aire. Es preciso resaltar que el enmohecimiento es más fuerte para los panes hechos con mucha miga, sobre todo en rodajas, que para los panes de tipo francés, entre otras causas porque éstos últimos se endurecen (pan duro; pan envejecido) y desecan tan rápido que no tienen tiempo de enmohecer. Por esto es preciso colocar inmediatamente los panes de miga al abrigo de contaminaciones, procurar que se enfríen rápido, no envolverlos hasta que estén fríos y no almacenarlos en locales húmedos. Hoy en día se generaliza cada vez más incorporar a la harina propionato de sodio o de calcio, con dosis de 0,1 a 0,3 %, que también tiene la ventaja de evitar el pan filante. Los mohos que se observan más frecuentemente sobre el pan son *Rhizopus nigricans, Aspergillus niger* y diversos *Penicillium.*

La alteración llamada "pan filante" se manifiesta por una viscosidad anormal de la pasta; su causa primaria es la presencia de esporas de *Bacillus mesentericus*, que resisten su pase por el horno y se desarrollan mientras el pan queda, durante algún tiempo, entre 30 y 40°C. La viscosidad sería el resultado de la acción combinada sobre el gluten de las enzimas proteolíticas del microorganismo y amilasas de la harina y del microorganismo sobre el almidón. Una acidez muy baja de la pasta favorece el *Bacillus mesentericus*, pero por el contrario la fermentación y acción de la levadura peligran si el pH es inferior a 5,0.

Las preparaciones tipo pan de especies o tipo "cake", están sujetas al enmohecimiento, igual que el pan corriente, pero, por el contrario, están menos expuestas a alteraciones bacterianas, a causa de que su contenido en azúcar baja la actividad del agua.

Los bizcochos y galletas, al igual que las pastas alimenticias, son productos de baja a_w, sobre los cuales no se desarrollan ni siquiera los mohos menos exigentes. No obstante es preciso almacenarlos al abrigo de la humedad.

Por el contrario la pastelería fresca, sobre todo la que lleva rellenos a base de crema y huevos, constituye un excelente medio de cultivo, especialmente para el *Staphylococcus aureus* y para las *Salmonellas*; en realidad representan el origen más frecuente de intoxicaciones estafilocócciças y son igualmente el motivo de infecciones por Salmonellas.

Recordemos que los cereales, así como otros vegetales (especialmente patatas), se emplean para la preparación de bebidas alcohólicas por fermentación: cerveza, sake, whiskies, gin, wodka.

III.1.5.2 AZUCARES Y PRODUCTOS RICOS EN AZUCAR

Los productos – que incluyen, entre otros, la sacarosa y glucosa cristalizadas comercialmente puras, los "concentrados de glucosa", la "glucosa cristal", los jarabes, diversos tipos de caramelos con azúcar, las frutas confitadas, las pastas de fruta, así como los dulces, jaleas y mermeladas de frutas – están poco sujetos a alteraciones microbianas cuando se preparan, condicionan y almacenan convenientemente; a causa de su contenido en azúcar, tienen actividades de agua muy bajas y por otro lado tienen, frecuentemente, pH relativamente bajo.

Con relación a la sacarosa cristalizada o refinada, así como la glucosa en polvo, es conveniente recordar que algunas veces – al igual que las harinas y los almidones – son ricas en esporas de bacterias termófilas o termotolerantes, especialmente peligrosas para las conservas. A causa de esto, se establecieron normas bacteriológicas (ver el "Laboratory Manual", ya citado), así como para la carga en bacterias, levaduras y mohos del azúcar destinado a la preparación de bebidas gaseosas o de leche concentrada azucarada (ver la obra de Frazier). Es conveniente resaltar que la carga bacteriana de un azúcar seco, protegido contra el polvo y la humedad, disminuye espontáneamente con el tiempo.

Todos los diversos productos líquidos de elevado contenido en azúcar – tales como melazas, "azúcar líquido", azúcar invertido, glucosa, jarabes, miel, etc – están expuestos, aun cuando alcancen más del 70 % (P/P), al ataque de levaduras osmófilas y a la proliferación de mohos en la superficie (Onishi, ver bibliografía). Frecuentemente la alteración comienza por una dilución de la capa superficial, a causa de la condensación de la humedad atmosférica y prosigue muy lentamente, pero de forma inexorable. Muchas veces va acompañada de pardeamiento no enzimático.

Cuando se realiza la pasteurización – lo que no siempre es fácil con los productos de viscosidad elevada – se eliminan levaduras y mohos; después hay que evitar la condensación de humedad en la superficie (nada de cambios bruscos de temperatura) y las contaminaciones aportadas por el aire.

Este caso también se presenta con las confituras, jaleas y mermeladas de frutas; como quiera que durante la fabricación estas preparaciones alcanzan normalmente la ebullición (104-105°C) y después se vierten, a 80°C, en los recipientes donde se conservan y distribuyen, lo esencial es proteger la superficie libre de condensación de humedad y contaminaciones. Este problema hasta ahora era difícil, pero hoy se resuelve con el cierre estanco de los recipientes durante el llenado y la pasteurización de la tapa y del aire incluido en el envase (cierre bajo chorro de vapor o autopasteurización).

Hay que señalar una alteración microbiana muy específica del jarabe de caña, remolacha y melazas: la proliferación de *Leuconostoc mesenteroides*, con producción de dextrano, un polímero de la glucosa, compuesto viscoso, de consistencia gomosa, que a veces atasca las tuberías.

III.1.5.3 LEGUMBRES Y FRUTAS FRESCAS

La alteración microbiana de las legumbres y frutas, se debe, por un lado, a los microorganismos fitopatógenos que atacan la planta antes de la cosecha y por otro, a los gérmenes (no patógenos para la planta) que suceden a los patógenos y atacan legumbres y frutas sanas. Entre estos gérmenes algunos son saprofitos, es decir están ya presentes antes de la cosecha en los tejidos vegetales sanos. Estos diversos grupos de microorganismos, son responsables de pérdidas muy importantes de productos durante el crecimiento o el almacenamiento refrigerado.

Frente al desarrollo de microorganismos la dif cia más importante entre legumbres y frutas – denominación que es preciso considerar en el sentido gastronómico y no botánico – reside en el pH, que muy pocas veces es superior al 4,5 en las frutas suculentas (o pulposas), pero está comprendido, generalmente, entre 5,5 y 6,5 en las legumbres. Es por esto que el ataque a las frutas se debe normalmente a levaduras y sobretodo a mohos, por lo menos en sus primeras fases, mientras que la alteración de las legumbres se debe, frecuentemente, también a la acción de las bacterias.

Pero además del pH intervienen otros numerosos factores, de tal forma que cada familia o categoría de legumbres y frutas está sujeta a un tipo de alteración, que sin ser exclusivo es específico. Frazier (ver bibliografía) dedicó varias páginas a un resumen de estas alteraciones específicas, que a menudo son tan características que permiten reconocer inmediatamente el microorganismo responsable.

Una particularidad de las especies microbianas que atacan a las legumbres y a las frutas es la aptitud para producir enzimas pectinolíticos o celulolíticos, que destruyen el tejido vegetal, lo que explica el ablandamiento hasta reducirse a papilla de estos productos. A propósito de esto, se encontrarán detalles y numerosas referencias bibliográficas en las dos memorias de Codner y de Lund (ver bibliografía).

Entre las *bacterias* responsables de la alteración de las legumbres ocupan claramente el primer lugar varias especies del género *Erwinia* y, más especialmente, *E. carotivara*. Algunas *Pseudomonas* son patógenas de diversas legumbres y también intervienen. Las otras bacterias sólo representan un papel secundario.

En realidad, además de las *Erwinia*, son principalmente los *mohos* los que atacan tanto a las legumbres como a las frutas. El moho gris *Botrytis cinerea* afecta a numerosas legumbres, pero también a un gran número de frutas; su desarrollo se favorece por el calor y la humedad. El *Rhizopus stoloniferus* y otras especies de *Rhizopus* también atacan a las legumbres y frutas y las hacen blandas y muchas veces delicuescentes, al mismo tiempo que el micelio, con las manchas negras de los esporangios, recubre todo el vegetal. Son esparcidos especialmente por las moscas, que depositan sus huevos en las legumbres y frutas. La antracnosa es una afección típica de legumbres, tales como las habichuelas y otras leguminosas, pepinillos, pimientos, etc, debida a diversas especies de *Colletotrichum*, que se manifiesta por manchas pequeñas, especialmente sobre las vainas y los granos de leguminosas. Los *Oidium* (o *Geotrichum*) y otros mohos blancos también son muy frecuentes sobre las legumbres y las frutas; mientras que los *Aspergillus* y los *Penicillium* constituyen los mohos negros y azules de numerosas frutas.

Desde un punto de vista práctico es preciso resaltar en primer lugar que muchos microorganismos atacan más fácilmente a las legumbres y frutas dañadas mecánicamente que a las legumbres y frutas intactas; de aquí la necesidad de tomar precauciones durante la recogida, transporte y manipulación de estos alimentos; por eso los golpes, incluso suaves, pueden ser, para algunas frutas, el punto inicial del ataque por microorganismos. En segundo lugar, el desarrollo de levaduras y de mohos en el caso de algunas frutas delicadas, como por ejemplo las fresas y frambuesas, es muy rápido, sobre todo durante tiempo caliente y húmedo; la recogida y transporte deben organizarse teniéndolo siempre en cuenta.

III.1.5.4 LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS

La leche es un buen medio de cultivo para numerosos gérmenes y su pH de aproximadamente 6,5 permite el desarrollo de bacterias así como de levaduras y mohos. A causa de esto constituye un producto muy perecedero, que a su vez puede ser el vehículo gérmenes patógenos para el hombre, tales como *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella*, *Brucella*; una breve revisión del tema se encuentra en un artículo de Mocquot (ver bibliografía).

Hoy en día, con el fin de destruir los gérmenes patógenos, en los países industrializados, la leche de consumo se somete, generalmente, a la pasteurización, es decir se calienta a 62°C durante 30 mn (pasteurización baja) o bien a 72°C durante 15 segundos (pasteurización alta); en Francia, cuando no se pasteuriza tiene que proceder de establos controlados (autorizados con una "patente sanitaria" o por una "patente veterinaria y médica") (Ley del 2 de julio de 1935; Decreto-Ley del 30 septiembre de 1953; Decretos del 21 de mayo de 1955 y 19 de marzo de 1963).

La leche cruda siempre contiene gran variedad de microorganismos, que están en función del estado sanitario de los animales de donde proviene, así como de los cuidados técnicos durante el ordeño, limpieza de los aparatos y recipientes, rapidez de la refrigeración, etc. Sin embargo, conviene resaltar que la refrigeración que cada día se practica más en las granjas para almacenar durante 24-48 horas la leche, no reemplaza las medidas de higiene; una leche refrigerada rápidamente y guardada fría puede aparecer, aun después de la prueba de reducción del azul de metileno, como de mejor calidad que lo que realmente es.

La conservación de la leche cruda a temperaturas inferiores a 10°C y más concretamente las comprendidas entre 4 y 5°C, presenta entre otros el inconveniente de impedir el desarrollo de bacterias lácticas, permitiendo en cambio las psicrótrofas; éstas incluyen especies proteolíticas y lipolíticas, que tienen una acción desfavorable sobre la calidad de los quesos; por consiguiente lo aconsejable no es sólo enfriar rápidamente la leche después del ordeño, sino también llevarla y guardarla, a 0°C, mejor que a 4°C, especialmente si se destina a quesería. No obstante, hay el peligro de favorecer la lipólisis, por acción de la lipasa natural de la leche, de tal forma que las condiciones óptimas de enfriamiento no son las mismas para una leche de buena calidad bacteriológica que para otra fuertemente contaminada.

La leche, sea pasteurizada o no, se altera principalmente por la proliferación de bacterias productoras de ácido láctico, a expensas de la lactosa: *Streptococcus lactis* y *thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *thermophilus* y otros. Estas originan un descenso de pH hasta 4,5 ó 4,0, lo que motiva el cuajado. Sería preciso que la temperatura a la cual la leche se guarda fuese bastante elevada (> 10°C) para permitir que una acidificación suficientemente rápida impida o retarde la proliferación de otras especies.

Según se dijo, a temperaturas más bajas se presentan las especies psicrótrofas, frecuentemente proteolíticas. Las que fermentan la lactosa con producción de ácido láctico comienzan por cuajar la leche, pero disuelven más o menos rápido el cuajo (por ejemplo, diversos *Micrococcus*, *Str. faecalis*, *var. liquefaciens*, *B. cereus*). Por el contrario, las especies psicrótrofas proteolíticas, no acidificantes, atacan directamente a la caseína, provocando a veces un ligero cuajado enzimático; algunas especies elevan un poco el pH. Concretamente se pueden mencionar los géneros *Alcaligenes*, *Achromabacter* y *Pseudomonas*. En general, la proteólisis produce un amargor más o menos pronunciado que se atribuye a ciertos péptidos.

En las alteraciones se observa una gran variedad, según la naturaleza de la carga bacteriana inicial de la leche, el tratamiento térmico a que fue sometida, las contaminaciones posteriores que pudo haber sufrido y, naturalmente, la temperatura a la cual se guardó. Por ejemplo, se manifiesta una alteración microbiológica específica, con un aumento de la viscosidad, lo que hace a la leche "filante". Frecuentemente esta modificación la realizan *Alcaligenes viscolactis* o *Micrococcus freudenreichii*; pero también