

Microbiología de los alimentos

**W.C. Frazier
D.C. Westhoff**

Editorial Acribia, S.A.

**MICROBIOLOGIA
DE LOS ALIMENTOS
4.^a edición**

La traducción de la primera edición de este libro fue realizada por los
catedráticos Dr. Bernabé Sanz Pérez y Dr. Justino Burgos González, la
segunda por la Licenciada M^a Victoria Medarde Agustín y la tercera por
el Dr. José Tormo Iguacel.

Microbiología de los alimentos

4.^a Edición española

W. C. Frazier

*Profesor Emérito de Bacteriología
Universidad de Wisconsin - Madison*

D. C. Westhoff

*Director, Departamento de Ciencia Animal
Universidad de Maryland*

Traducido del inglés por

D. Manuel Ramis Vergés

*Dr. en Veterinaria - Profesor Asociado
de Microbiología e Inmunología
Facultad de Veterinaria, Zaragoza*

Editorial ACRIBIA, S.A.
ZARAGOZA (España)

175749

Este libro es traducción de la cuarta edición norteamericana de la obra FOOD MICROBIOLOGY de la que son autores W. C. Frazier y D. C. Westhoff, publicada por la editorial McGraw-Hill Book Company, New York, U.S.A.

-
- © 1988, 1978, 1967, 1958 by McGraw-Hill, Inc.
All rights reserved.
- © 1993 de la edición en lengua española
Editorial Acribia, S.A. Apartado 466
50080 ZARAGOZA (España)
Todos los derechos reservados.
-

I.S.B.N.: 84-200-0734-X

IMPRESO EN ESPAÑA

PRINTED IN SPAIN

Reservados todos los derechos para los países de habla española. Este libro no podrá ser reproducido en forma alguna, total o parcialmente, sin el permiso de los editores.

Depósito legal: Z-184-93

Editorial ACRIBIA, S.A. - Royo, 23 - 50006 Zaragoza

Imprime: Tipo Línea, S.A. - Isla de Mallorca, s/n. - 50014 Zaragoza, 1993

Los autores

WILLIAM C. FRAZIER es Profesor Emérito de Bacteriología de la Universidad de Wisconsin-Madison. A partir de 1919 ocupó una plaza de profesor en la Universidad, permaneciendo en la misma hasta 1924, año en el que obtuvo el grado de doctor en Bacteriología Agrícola. Posteriormente, desempeñó el cargo de microbiólogo al servicio del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos hasta 1934, año en el que se incorporó de nuevo a la Universidad de Madison como profesor de Bacteriología Agrícola. Se le encargó la confección de un nuevo programa de las enseñanzas de Bacteriología de los Alimentos, siendo nombrado director del correspondiente Departamento en 1943. Se retiró de la Universidad de Wisconsin en Madison en 1966. El Dr. Frazier fue responsable de la elaboración de este texto, hoy día en su cuarta edición. Desempeñó el cargo de secretario-tesorero de la American Society of Microbiology (1943-45), siendo elegido miembro honorario de la misma en 1970. Ha escrito numerosos artículos científicos y varias obras, entre las que se incluyen las que llevan por título *Fundamentos de Lactología y Microbiología General y Aplicada*.

DENNIS C. WESTHOFF es Profesor de Bromatología y director del Departamento de Ciencias Animales de la Universidad de Maryland. Ha dado innumerables conferencias sobre el tema de la microbiología de los alimentos en América del Sur, en Oriente Medio y en los Estados Unidos. Imparte los cursos de esta disciplina para postgraduados y graduados en la Universidad de Maryland. Además, el Dr. Westhoff ha desempeñado el cargo de asesor al servicio de la industria privada y del Departamento de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos. Es autor de innumerables artículos en periódicos, artículos de revisión y publicaciones científicas, y de una obra titulada *Todo sobre el yogurt*, dirigida al consumidor. En otra obra, en fase avanzada de publicación, describe los antecedentes del descubrimiento de las primeras combinaciones tiempo/temperatura que se utilizaron en la pasteurización.

Indice de contenido

PROLOGO A LA CUARTA EDICION	XIII
PROLOGO A LA TERCERA EDICION	XV
1ª PARTE: ALIMENTOS Y MICROORGANISMOS	1
1 Los alimentos como sustrato de los microorganismos	3
CONCENTRACION DE IONES HIDROGENO (pH) / NECESIDADES DE HUMEDAD: CONCEPTO DE ACTIVIDAD AGUA / POTENCIAL DE OXIDO-REDUCCION / CANTIDAD DE NUTRIENTES / SUSTANCIAS INHIBIDORAS Y ESTRUCTURA BIOLOGICA / EFECTOS COMBINADOS DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CRECIMIENTO	
2 Microorganismos importantes en microbiología de los alimentos	23
MOHOS / CARACTERES GENERALES DE LOS MOHOS / CLASIFICACION E IDENTIFICACION DE LOS MOHOS/LEVADURAS Y HONGOS LEVADURIFORMES / CARACTERES GENERALES DE LAS LEVADURAS / CLASIFICACION E IDENTIFICACION DE LAS LEVADURAS / LEVADURAS DE IMPORTANCIA INDUSTRIAL / BACTERIAS / CARACTERES MORFOLOGICOS IMPORTANTES EN BACTERIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS / CARACTERES DE LOS CULTIVOS IMPORTANTES EN BACTERIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS / PROPIEDADES FISIOLÓGICAS IMPORTANTES EN BACTERIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS / GENEROS DE BACTERIAS IMPORTANTES EN BACTERIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS / GRUPO DE BACTERIAS IMPORTANTES EN BACTERIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS	
3 Contaminación de los alimentos	75
POR LAS VERDURAS Y POR LAS FRUTAS / POR LOS ANIMALES / POR LAS AGUAS RESIDUALES / POR EL SUELO / POR EL AGUA / POR EL AIRE / DURANTE SU MANIPULACION Y TRATAMIENTO	

000001

- 4 *Principios generales en los que se basa la alteración de los alimentos: modificaciones químicas provocadas por microorganismos* 89

APTITUD O INEPTITUD DE LOS ALIMENTOS PARA EL CONSUMO / CAUSAS DE ALTERACION / CLASIFICACION DE LOS ALIMENTOS POR LA FACILIDAD CON QUE SE ALTERAN / FACTORES QUE INFLUYEN EN EL TIPO Y NUMERO DE MICROORGANISMOS EXISTENTES EN LOS ALIMENTOS / FACTORES QUE INFLUYEN EN LA MULTIPLICACION DE LOS MICROORGANISMOS EN LOS ALIMENTOS / MODIFICACIONES QUIMICAS OCASIONADAS POR MICROORGANISMOS

2ª PARTE: PRINCIPIOS GENERALES DE LA CONSERVACION DE ALIMENTOS 105

- 5 *Principios generales de la conservación de alimentos: asepsia, eliminación de microorganismos y anaerobiosis* 107

PROCEDIMIENTOS UTILIZADOS PARA CONSERVAR LOS ALIMENTOS / FUNDAMENTOS DE LA CONSERVACION DE ALIMENTOS / ASEPSIA / ELIMINACION DE MICROORGANISMOS / MANTENIMIENTO DE ANAEROBIOSIS

- 6 *Conservación mediante el empleo de temperaturas elevadas* 119

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA TERMORRESISTENCIA (TIEMPO DE MUERTE TERMICA) / TERMORRESISTENCIA DE LOS MICROORGANISMOS Y DE SUS ESPORAS / DETERMINACION DE LA TERMORRESISTENCIA (TIEMPO DE MUERTE TERMICA) / GRAFICAS DEL TIEMPO DE MUERTE TERMICA (TDT) / CONCEPTO DE 12D / PENETRACION DEL CALOR / CALCULO DE LOS TRATAMIENTOS TERMICOS / TRATAMIENTOS TERMICOS EMPLEADOS EN LA CONSERVACION DE ALIMENTOS

- 7 *Conservación mediante el empleo de temperaturas bajas* 159

MULTIPLICACION DE LOS MICROORGANISMOS A TEMPERATURAS BAJAS / TEMPERATURAS EMPLEADAS EN EL ALMACENAMIENTO A BAJA TEMPERATURA / EFECTO DE LAS TEMPERATURAS DE CONGELACION E INFERIORES A LA DE CONGELACION SOBRE LOS MICROORGANISMOS

- 8 *Conservación por desecación* 177

PROCEDIMIENTOS DE DESECACION / FACTORES QUE REGULAN LA DESECACION / TRATAMIENTOS A LOS CUALES SE SOMETEN LOS ALIMENTOS ANTES DE SU DESECACION / TRATAMIENTOS DESPUES DE LA DESECACION / MICROBIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS DESECADOS / ALIMENTOS CON UN CONTENIDO DE HUMEDAD INTERMEDIO

- 9 *Conservación de alimentos mediante aditivos* 191

EL CONSERVADOR ANTIMICROBIANO IDEAL / CONSERVADORES QUE SE AÑADEN A LOS ALIMENTOS / CONSERVADORES QUE SE ORIGINAN EN LOS PROPIOS ALIMENTOS

- 10 *Conservación por irradiación* 211

RADIACION ULTRAVIOLETA / RADIACIONES IONIZANTES / RAYOS GAMMA Y RAYOS CATODICOS / TRATAMIENTO CON MICROONDAS

3ª PARTE:	CONTAMINACION, CONSERVACION Y ALTERACION DE DIFERENTES TIPOS DE ALIMENTOS..	227
11	<i>Contaminación, conservación y alteración de los cereales y productos derivados</i>	229
	CONTAMINACION / CONSERVACION / ASEPSIA / EMPLEO DE CALOR / EMPLEO DE TEMPERATURAS BAJAS / EMPLEO DE CONSERVADORES QUIMICOS / EMPLEO DE RADIACIONES / ALTERACION / GRANOS DE CEREALES Y SUS HARINAS / HARINAS / PAN / TORTAS Y PRODUCTOS DE PANADERIA / PASTA, MACARRONES Y TAPIOCA / CEREALES PARA DESAYUNOS Y OTROS TENTEMPIES A BASE DE CEREALES / MASAS PREPARADAS	
12	<i>Contaminación, conservación y alteración de los azúcares y de los productos azucarados</i>	247
	CONTAMINACION / SACAROSA / MIEL DE MEPLA / MIEL / ALIMENTOS DULCES / CONSERVACION / ALTERACION / SACAROSA / SAVIA Y MIEL DE MEPLA / MIEL / ALIMENTOS DULCES	
13	<i>Contaminación, conservación y alteración de las hortalizas y de las frutas</i>	259
	CONTAMINACION / CONSERVACION DE LAS HORTALIZAS / ASEPSIA / ELIMINACION DE MICROORGANISMOS / EMPLEO DE CALOR / EMPLEO DE TEMPERATURAS BAJAS / DESECACION / EMPLEO DE CONSERVADORES / CONSERVACION POR IRRADIACION / CONSERVACION DE LAS FRUTAS Y PRODUCTOS DERIVADOS / ASEPSIA / ELIMINACION DE MICROORGANISMOS / EMPLEO DEL CALOR / EMPLEO DE TEMPERATURAS BAJAS / DESECACION / EMPLEO DE CONSERVADORES / ALTERACION / TIPOS GENERALES DE ALTERACIONES MICROBIANAS / ALTERACION DE LOS JUGOS DE FRUTAS Y DE HORTALIZAS	
14	<i>Contaminación, conservación y alteración de las carnes y productos cárnicos</i>	289
	CONTAMINACION / CONSERVACION / ASEPSIA / EMPLEO DEL CALOR / EMPLEO DE TEMPERATURAS BAJAS / EMPLEO DE RADIACIONES / CONSERVACION POR DESECACION / EMPLEO DE CONSERVADORES / ALTERACION / PRINCIPIOS GENERALES EN LOS QUE SE BASA LA ALTERACION DE LA CARNE / ALTERACION DE LOS DISTINTOS TIPOS DE CARNES	
15	<i>Contaminación, conservación y alteración del pescado y otros alimentos marinos</i>	325
	CONTAMINACION / CONSERVACION / EMPLEO DEL CALOR / EMPLEO DE TEMPERATURAS BAJAS / EMPLEO DE RADIACIONES / CONSERVACION POR DESECACION / EMPLEO DE CONSERVADORES / ALTERACION / FACTORES QUE INFLUYEN EN EL TIPO Y VELOCIDAD DE LA ALTERACION / SIGNOS DE ALTERACION / BACTERIAS QUE ALTERAN EL PESCADO / ALTERACION DE DETERMINADOS TIPOS DE PESCADO Y ALIMENTOS MARINOS	
16	<i>Contaminación, conservación y alteración de los huevos</i>	341
	CONTAMINACION / CONSERVACION / ASEPSIA / ELIMINACION DE MICROORGANISMOS / EMPLEO DEL CALOR / EMPLEO DE TEMPERATURAS BAJAS / CONSERVACION POR DESECACION / EMPLEO DE CONSERVADORES / EMPLEO DE RADIACIONES / ALTERACION / DEFECTOS DE LOS HUEVOS FRESCOS / MODIFICACIONES DURANTE SU ALMACENAMIENTO	

17	<i>Contaminación, conservación y alteración de las aves</i>	359
	CONTAMINACION / CONSERVACION / ASEPSIA / EMPLEO DEL CALOR / EMPLEO DE TEMPERATURAS BAJAS / EMPLEO DE CONSERVADORES / ATMOSFERA DE DIOXIDO DE CARBONO / EMPLEO DE RADIACIONES /ALTERACION	
18	<i>Contaminación, conservación y alteración de la leche y productos lácteos</i>	371
	CONTAMINACION / EN LA GRANJA / DURANTE SU TRANSPORTE Y ELABORACION / CONSERVACION / ASEPSIA / ELIMINACION DE MICROORGANISMOS / EMPLEO DEL CALOR / EMPLEO DE TEMPERATURAS BAJAS / DESECACION / EMPLEO DE CONSERVADORES / ALTERACION / LECHE Y NATA / PRODUCTOS LACTEOS CONDENSADOS Y EN POLVO / POSTRES CONGELADOS / MANTEQUILLA	
19	<i>Alteración de los alimentos enlatados sometidos a tratamiento térmico</i>	403
	CAUSAS DE ALTERACION / ASPECTO DEL RECIPIENTE ANTES DE SU APERTURA / CLASIFICACION DE LOS ALIMENTOS ENLATADOS SEGUN SU ACIDEZ / TIPOS DE ALTERACIONES BIOLOGICAS DE LOS ALIMENTOS ENLATADOS	
20	<i>Alimentos diversos</i>	417
	ALIMENTOS GRASOS / ACEITES ESENCIALES / BEBIDAS EMBOTELLADAS / ESPECIAS Y DEMAS CONDIMENTOS / SAL / NUECES DESPROVISTAS DE CASCARA / OTROS ALIMENTOS	
4ª PARTE: ALIMENTOS Y ENZIMAS PRODUCIDOS POR MICROORGANISMOS		429
21	<i>Producción de cultivos para la fermentación de alimentos</i>	431
	PRINCIPIOS GENERALES DEL MANTENIMIENTO Y PREPARACION DE LOS CULTIVOS / CULTIVOS DE BACTERIAS / CULTIVOS DE LEVADURAS / CULTIVOS DE MOHOS	
22	<i>Fermentaciones de alimentos</i>	443
	PAN / BEBIDAS DE MALTA / VINOS / LICORES DESTILADOS / VINAGRE / HORTALIZAS FERMENTADAS / PRODUCTOS LACTEOS FERMENTADOS / ALTERACIONES Y DEFECTOS DE LOS PRODUCTOS LACTEOS FERMENTADOS / TE, CAFE, CACAO, Y CIDRA / ALIMENTOS ORIENTALES FERMENTADOS	
23	<i>Alimentos y enzimas de origen microbiano</i>	511
	LOS MICROORGANISMOS COMO ALIMENTO: PROTEINA UNICELULAR / GRASAS DE ORIGEN MICROBIANO / PRODUCCION DE AMINOACIDOS / PRODUCCION DE OTRAS SUSTANCIAS QUE SE INCORPORAN A LOS ALIMENTOS / PRODUCCION DE ENZIMAS	
5ª PARTE: LOS ALIMENTOS EN RELACION CON LAS ENFERMEDADES		531

24	<i>Enfermedades alimentarias de etiología bacteriana</i>	533
	ENFERMEDADES ALIMENTARIAS / GASTROENTERITIS POR <i>CLOSTRIDIUM PERFRINGENS</i> / INFECCION POR <i>VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS</i> Y POR OTRAS ESPECIES DEL GENERO <i>VIBRIO</i> / <i>ESCHERICHIA COLI</i> ENTEROPATOGENO / <i>BACILLUS CEREUS</i> / <i>YERSINIA ENTERO-</i> <i>COLITICA</i> / <i>PLESIOMONAS SHIGELLOIDES</i> / <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> / <i>AEROMONAS</i> <i>HYDROPHILA</i>	
25	<i>Envenenamientos, infecciones, e intoxicaciones de origen alimen-</i> <i>tario de etiología no bacteriana</i>	583
	MICOTOXINAS / VIRUS / RICKETTSIAS / PARASITOS TRANSMITIDOS POR LOS ALIMENTOS / TOXICOS DE LOS ALIMENTOS MARINOS / ENVENENAMIENTO POR AGENTES QUIMICOS	
26	<i>Investigación de los brotes de enfermedades alimentarias</i>	609
	ENFERMEDADES ALIMENTARIAS / OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION / PERSONAL QUE PARTICIPA EN LA INVESTIGACION / MATERIAL Y EQUIPO NECESARIOS / LA INVESTIGA- CION SOBRE EL TERRENO / PRUEBAS DE LABORATORIO/ INTERPRETACION Y APLICACION DE LOS RESULTADOS / MEDIDAS PREVENTIVAS	
6ª	PARTE: SANEAMIENTO, CONTROL E INSPECCION DE LOS ALIMENTOS	627
27	<i>Microbiología del saneamiento de alimentos</i>	629
	BACTERIOLOGIA DE LOS ABASTECIMIENTOS DE AGUA / TRATAMIENTO Y ELIMINACION DE AGUAS RESIDUALES Y DESPERDICIOS / MICROBIOLOGIA DE LOS PRODUCTOS ALIMEN- TICIOS / METODOS CORRECTOS DE FABRICACION / ANALISIS DE RIESGOS: PUNTOS CRITI- COS DE CONTROL (HACCP) / ESTADO DE LA SALUD DE LOS EMPLEADOS	
28	<i>Control de los alimentos</i>	649
	ORGANISMOS EJECUTIVOS Y ORGANISMOS ENCARGADOS DEL CONTROL DE LOS ALIMENTOS / ORGANISMOS INTERNACIONALES / ORGANISMOS FEDERALES / ORGANISMOS ESTATALES / ORGANISMOS MERCANTILES / SOCIEDADES DE PROFESIO- NALES / ORGANISMOS PARTICULARES / INDUSTRIAS ALIMENTARIAS / PROGRAMAS DE ORGANISMOS COOPERATIVOS / CRITERIOS MICROBIOLOGICOS PARA LOS ALI- MENTOS	
	APENDICE A	659
	APENDICE B	665
	INDICE ALFABETICO	671

Prólogo a la cuarta edición

La primera edición de esta obra se publicó en el año 1958. Por aquel entonces, W.C. Frazier indicó que el objetivo de su *Microbiología de los Alimentos* era reunir en un volumen de una extensión no desmesurada los principios básicos de la microbiología de los alimentos, junto con ejemplos de los mismos, expuestos de tal forma que la obra pudiera utilizarse como texto para los estudiantes universitarios o como obra de consulta para quienes trabajan en áreas relacionadas con la industria alimentaria. Además, si bien todos y cada uno de los temas tratados en esta obra son merecedores de otros tantos volúmenes, las limitaciones de espacio no permiten incluir todas las materias que los especialistas, en su entusiasmo por sus respectivas áreas de dedicación, pudiesen desear encontrar en él. W.C. Frazier procuró no prestar una atención indebida a ningún aspecto concreto de la microbiología alimentaria, siendo ésta la razón de que en la obra incluyera muy poca tecnología de los alimentos, de forma que el lector adquiriese los conocimientos básicos de los tratamientos a que se someten algunos alimentos.

La segunda edición, que se imprimió en 1967, contenía una cantidad notablemente mayor de los conocimientos que en aquel tiempo se habían adquirido tanto sobre el contenido de microorganismos de los alimentos como sobre su conservación y alteraciones. En aquel entonces, se introdujeron varias modificaciones en el orden de exposición de las materias.

En 1976 se inició la revisión de la segunda edición, publicándose la tercera en 1978. Desde entonces, se han publicado miles de artículos dentro del área de la microbiología alimentaria, y se han ideado nuevas técnicas de tratamiento de los alimentos. Métodos esperanzadores, como por ejemplo la irradiación de alimentos, no estaban permitidos cuando se publicó la tercera edición, y de aquí que en la misma se suprimiera el capítulo correspondiente. En la actualidad, se ha suscitado un renovado interés por el tratamiento de los alimentos mediante

radiaciones, y de aquí que se haya redactado de nuevo el Capítulo 10, «Irradiación de los alimentos», para incluirlo de nuevo en el texto.

La *Microbiología de los Alimentos* ha estado sometida a una prolongada fase de revisión en los años 1957, 1968, 1978 y 1988 y, por consiguiente, cuanto se ha añadido o modificado debe superar la prueba del paso del tiempo. La incorporación de referencias «contemporáneas» se debe hacer con cautela para procurar que la obra no carezca de las opiniones vigentes, sobre todo por lo que se refiere a temas polémicos. Ejemplo de ello lo constituye el concepto que actualmente se tiene acerca de *Listeria monocytogenes* y la conveniencia de pasteurizar la leche. Cuando se estaba realizando la revisión del texto, se tuvo noticia de algunos casos en los que *Listeria monocytogenes* era termorresistente. Naturalmente, no se han aclarado todas las dudas en relación con la termorresistencia de este microorganismo ni tampoco las existentes acerca de la conveniencia de los tiempos y temperaturas fijados para la pasteurización.

Poco antes de salir a la luz pública *Microbiología de los Alimentos*, se publicó el *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (8ª edición). Se habían introducido cambios en la nomenclatura de algunas de las bacterias conocidas por el microbiólogo de alimentos o se habían declarado especies no válidas. En la tercera edición de *Microbiología de los Alimentos* se había incluido un Apéndice en el que figuraba la nomenclatura actualizada de los citados microorganismos. En el texto, los nombres que ya no eran aceptados se señalaron con un asterisco, haciéndose un comentario al respecto en el Apéndice. En la cuarta edición hemos mantenido esta pauta. Recientemente, han sido publicados los volúmenes 1º y 2º del *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. De nuevo se han introducido modificaciones tanto en la nomenclatura como en la taxonomía. Nosotros seguimos citando los microorganismos utilizando la nomenclatura con la cual se les designa preferentemente en la bibliografía. Los asteriscos se utilizan para facilitar al microbiólogo de alimentos la transición a las nuevas denominaciones.

Lamentamos la imposibilidad de expresar nuestro reconocimiento y agradecimiento a todas aquellas personas cuyos trabajos han constituido la base de algunos de los datos y tablas que se ofrecen en esta edición. Hemos procurado utilizar y citar las referencias de las principales publicaciones y artículos de revisión, las cuales pueden proporcionar nuevas referencias acerca de un determinado tema.

Antes de la actual revisión, se invitó a varias personas a hacer comentarios sobre la obra, mientras que, una vez revisada, otras comentaron determinados Capítulos o Partes de la misma. Queremos expresar nuestro agradecimiento a las siguientes personas por el tiempo que nos han dedicado, por sus juicios críticos y por sus sugerencias: Alan Kempton, Thomas J. Montville, Barbara Dill, y Richard Kinsley, Jr.

William C. Frazier

Dennis C. Westhoff

Prólogo a la tercera edición

Desde la publicación de la segunda edición, se han ido adquiriendo nuevos conocimientos sobre la microbiología de los alimentos. Las técnicas que en la actualidad se utilizan en el tratamiento de los alimentos eliminan algunos problemas microbiológicos, a la vez que crean otros nuevos. Se han desechado métodos que en otro tiempo se consideraron prometedores, como por ejemplo la irradiación de alimentos con rayos gamma, que ya no está permitida en los Estados Unidos.

En atención a algunas sugerencias, se han introducido modificaciones en el orden de exposición de algunas de las materias que se tratan en la obra. Los caracteres de los alimentos que influyen en su microbiología, por ejemplo, se han incluido en el capítulo primero. A la luz de los conocimientos que se han adquirido a partir de la aparición de la edición anterior, se han ampliado los capítulos que tratan de las enfermedades transmitidas por alimentos.

Como quiera que la última edición del *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* ha introducido modificaciones en la nomenclatura de algunas bacterias conocidas por los microbiólogos de alimentos y ha invalidado la denominación de otras, se ha incluido un Apéndice que describe brevemente el estado actual de la nomenclatura de los citados microorganismos. En el texto, las denominaciones que ya no se admiten se han señalado con un asterisco, y en el apéndice se hace un comentario sobre las mismas.

Lamentamos la imposibilidad de expresar nuestro reconocimiento y agradecimiento a todas aquellas personas cuyos trabajos han constituido la base de algunos de los datos que se ofrecen en esta edición. Hemos procurado utilizar y citar las referencias de las principales publicaciones y artículos de revisión, las

00000
00000
00000

cuales pueden proporcionar nuevas referencias acerca de un determinado tema. Deseamos expresar nuestro agradecimiento por sus opiniones y consejos a cuantas personas han aportado sugerencias relativas a la revisión de la segunda edición: Dr. E. H. Marth de la Universidad de Wisconsin, Dr. H. W. Walker de la Universidad del estado de Iowa, Dr. D. Y. C. Fung de la Universidad del estado de Pennsylvania, y Dr. R. H. Vaughn de la Universidad de California. Agradecemos asimismo las sugerencias y ayudas del Dr. F. L. Bryan del Centro de Control de Enfermedades, del Dr. D. E. Bigbee de la Universidad de Maryland, del Dr. D. A. Kautter del Departamento de Alimentos y Fármacos, del Dr. R. W. Johnston del Ministerio de Agricultura de los Estados Unidos, del Dr. H. P. Fleming de la Universidad del estado de Carolina del Norte, y de S. Doores y de F. Feldstein de la Universidad de Maryland.

William C. Frazier

Dennis C. Westhoff

Primera parte

Alimentos y microorganismos

Sólo podemos llegar a comprender las interacciones entre los microorganismos y los alimentos si admitimos que la composición de los últimos es el factor que condiciona su flora. El conocimiento de la composición química de los alimentos es un requisito previo para conocer su microbiología. El Capítulo 1 describe los principales parámetros de los alimentos que influyen en su microbiología. El Capítulo 2 estudia los principales grupos de microorganismos transmitidos por los alimentos. La contaminación de los alimentos con microorganismos (Capítulo 3) sólo se revisa sucintamente en esta primera Parte, ya que este tema se trata de nuevo repetidas veces en las Partes siguientes de esta obra. De igual forma, el Capítulo 4 describe los principios generales de la alteración, con una serie de consideraciones acerca de determinadas variables que se estudian en las Partes siguientes.

Los alimentos como sustrato de los microorganismos

Las interacciones mutuas entre los microorganismos por una parte y las plantas y los animales por otra, son naturales y constantes. En la naturaleza, está perfectamente comprobado el papel ecológico de los microorganismos y su importancia en todos los ciclos geoquímicos. Como quiera que los alimentos que consume el hombre proceden básicamente de las plantas y de los animales o de productos derivados de los mismos, resulta comprensible que dichos alimentos puedan contener microorganismos que interactúen con ellos.

En la mayoría de los casos, los microorganismos utilizan nuestros alimentos como fuente de nutrientes para su propio crecimiento, hecho que, naturalmente, puede ocasionar su alteración. Los microorganismos pueden «echar a perder» un alimento porque se multiplican en él, porque utilizan nutrientes, porque producen modificaciones enzimáticas, y porque le comunican sabores desagradables mediante el desdoblamiento de determinadas sustancias o mediante la síntesis de nuevos compuestos. La alteración de los alimentos es consecuencia lógica de la actividad de los microorganismos, ya que, en la naturaleza, una de sus funciones es la reconversión de las formas reducidas de carbono, de nitrógeno y de azufre existentes en las plantas y en los animales muertos, en otras formas oxidadas que necesitan las plantas, las cuales, a su vez, son consumidas por los animales. Por lo tanto, simplemente «desempeñando su función» en la naturaleza, muchas veces pueden convertir en no aptos para el consumo a nuestros alimentos. Con el fin de evitar esto, reducimos al mínimo el contacto entre los microorganismos y nuestros alimentos (prevención de la contaminación) y también eliminamos los microorganismos que contienen, o por lo menos adaptamos las condiciones de su almacenamiento para evitar que en ellos se multipliquen los microorganismos (conservación).

Cuando se trata de microorganismos patógenos, su asociación con nuestros alimentos es peligrosa desde el punto de vista de la salud pública. Algunos de nuestros alimentos tolerarán la multiplicación de los microorganismos patógenos o, por lo menos, actuarán como vectores de los mismos. En este caso, también intentamos evitar que penetren y se multipliquen en nuestros alimentos o los destruimos mediante algún tipo de tratamiento.

A veces, las interacciones entre los microorganismos y nuestros alimentos son beneficiosas, tal como queda patente en algunos productos, los cuales, una vez fermentados, adquieren un sabor más agradable. ¿Cuáles son los factores que regulan estas interacciones? ¿Por qué razón algunas veces esta interacción es beneficiosa, mientras que otras veces no lo es? ¿Por qué algunos alimentos son sumamente resistentes a la alteración microbiana? El alimento es el sustrato y, por ello, es importante tener en cuenta los caracteres del mismo. También tienen importancia tanto el tipo de microorganismos como las condiciones ambientales.

No obstante, el alimento, o sustrato, es el que determina cuáles de ellos son capaces o incapaces de crecer. Si se conocen los caracteres del alimento o sustrato, se puede predecir la flora microbiana que es posible que crezca en él. El conocimiento de los factores que favorecen o inhiben la multiplicación de los microorganismos es esencial para comprender los principios básicos que rigen tanto la alteración como la conservación de los alimentos. Los principales factores de la composición de todo alimento que influyen en la actividad microbiana son: la concentración de iones hidrógeno, la humedad, el potencial de óxido-reducción (O-R), los nutrientes, y la presencia de sustancias inhibitoras o de barreras.

CONCENTRACION DE IONES HIDROGENO (pH)

Cada microorganismo tiene un pH mínimo, un pH óptimo y un pH máximo de crecimiento. A las células microbianas les afecta de forma importante el pH de los alimentos, ya que, al parecer, carecen de un mecanismo que regule su pH interno. En general, las levaduras y los mohos toleran mejor la acidez que las bacterias. El pH intrínseco de los alimentos es diferente en cada uno de ellos, aunque la mayoría tienen un pH neutro o ácido. Los alimentos cuyo pH es bajo (valores inferiores a 4,5) no son alterados fácilmente por las bacterias, siendo más sensibles a la alteración por levaduras y mohos. Todo alimento que tenga un pH intrínsecamente bajo tendería por ello a ser más estable, desde el punto de vista microbiológico, que un alimento neutro. La extraordinaria facilidad con que se conservan los alimentos que a continuación se citan, está relacionada con su bajo pH: las frutas, las bebidas refrescantes, las leches fermentadas, el sauerkraut* y

*N. del T.: El denominado «sauerkraut» de los alemanes o, «choucrouste» de los franceses, es una conserva de col fermentada.

los encurtidos. Mientras que algunos alimentos tienen un pH bajo debido a su acidez intrínseca, otros, como por ejemplo los productos fermentados, tienen un pH bajo debido a la acidez que se desarrolla por la gran cantidad de ácido láctico que se produce durante su fermentación.

Los mohos son capaces de crecer dentro de una escala de valores de pH más amplia que la correspondiente a la mayoría de las levaduras y bacterias, y algunos crecen a valores de pH excesivamente ácidos tanto para las levaduras como para las bacterias. El crecimiento de la mayoría de las levaduras fermentativas es estimulado por un pH de aproximadamente 4,0 a 4,5, cosa que ocurre en los zumos de frutas, mientras que las levaduras formadoras de película crecen bien en alimentos ácidos tales como el sauerkraut y los encurtidos. Por otra parte, la mayoría de las levaduras no crecen bien en sustratos básicos, y de aquí que para crecer en ellos deban adaptarse a este tipo de medios. El crecimiento de la mayoría de las bacterias es estimulado por un pH próximo a la neutralidad, aunque algunas, como por ejemplo las acidificantes, son estimuladas por un grado de acidez medio, mientras que otras, como por ejemplo las bacterias con actividad proteolítica, son capaces de crecer en medios de pH elevado (básico), como las que se encuentran en la clara de los huevos almacenados.

Las sustancias tampón de los alimentos, es decir, los compuestos que contrarrestan las modificaciones del pH, no sólo tienen importancia por su capacidad tamponadora, sino también por su capacidad para ejercer su acción de una forma extraordinariamente eficaz dentro de una determinada escala de valores de pH. Las sustancias tampón permiten que toda fermentación ácida (o básica) continúe durante más tiempo y se produzcan cantidades, tanto de los productos resultantes de la fermentación como de microorganismos, mayores que las que se hubiesen producido sin la presencia de dichas sustancias. Los jugos de las hortalizas tienen escasa capacidad tamponadora, permitiendo un notable descenso del pH y que las bacterias del ácido láctico produzcan únicamente insignificantes cantidades de ácido durante la primera fase de las fermentaciones del sauerkraut y de los encurtidos.

Esta circunstancia permite que las bacterias del ácido láctico eliminen la flora microbiana competitiva indeseable constituida por microorganismos que hidrolizan la pectina y por microorganismos proteolíticos. La escasa capacidad tamponadora contribuye a que durante la fermentación la generación de microorganismos tenga lugar con mayor rapidez que en el caso de que la capacidad tamponadora sea más elevada. La leche, por otra parte, al tener un contenido de proteína bastante elevado, es un tampón eficaz, siendo ésta la razón de que permita un abundante crecimiento de las bacterias del ácido láctico, las cuales, durante el proceso de elaboración de las leches fermentadas producen una gran cantidad de ácido antes de que la multiplicación del cultivo iniciador* se detenga definitivamente.

El pH de un producto se puede determinar fácilmente con un aparato medidor del pH, aunque a veces es posible que la determinación de este valor aislado no

*N. del T.: Cultivo estárter.

sea suficiente para predecir la respuesta de los microorganismos. También es conveniente, por ejemplo, conocer el ácido responsable de un determinado pH, ya que algunos ácidos, sobre todo los orgánicos, tienen un poder inhibitor mayor que otros. A la propiedad inhibitora de algunos ácidos orgánicos, entre lo que se incluyen los ácidos acético, benzoico, cítrico, láctico, propiónico y sórbico, se debe que sean los más utilizados como acidulantes o como conservadores de alimentos. Asimismo, las modificaciones de la acidez titulable no siempre se pueden poner de manifiesto determinando el pH. El pH no sólo influye en la velocidad de la multiplicación de los microorganismos, sino que también influye en la cantidad que de los mismos sobreviven en los alimentos durante su almacenamiento, tratamiento térmico, desecación, o durante cualquier otro tipo de tratamiento. Asimismo, es posible que el pH inicial sea apropiado, pero como consecuencia de la existencia de flora competitiva o como consecuencia de la multiplicación del propio microorganismo, el pH se puede volver desfavorable. Por el contrario, es posible que el pH inicial sea limitante, aunque puede suceder que la multiplicación de un reducido número de microorganismos modifique el pH hasta que alcance un valor más apropiado para que crezcan otros microorganismos.

NECESIDADES DE HUMEDAD: CONCEPTO DE ACTIVIDAD AGUA

Los microorganismos tienen una necesidad perentoria de agua, ya que sin agua no es posible que exista crecimiento. Como cabe suponer, la cantidad exacta de agua necesaria para el crecimiento de los microorganismos es variable. Esta demanda de agua se expresa de forma más apropiada como agua disponible o actividad agua (a_w), que se define como la presión de vapor de la solución (de sustancias disueltas en agua en la mayoría de los alimentos), dividida por la presión de vapor del disolvente (generalmente agua). Para el agua pura, la a_w tendría un valor igual a 1,00, mientras que para una solución 1,0 *m* del soluto ideal el valor de la a_w sería 0,9823. La a_w ($\times 100$) estaría en equilibrio con la humedad relativa (RH) de la atmósfera que rodea al alimento. Expresado en otros términos, $a_w \times 100 = \% \text{ de humedad relativa de equilibrio (ERH)}$, o bien $\text{ERH}:100 = a_w$. Una humedad relativa en la atmósfera que rodea al alimento correspondiente a una a_w inferior a la del alimento, tendería a desecar la superficie de éste; por el contrario, si la humedad relativa tuviese un valor más elevado que la correspondiente a la a_w del alimento, ésta aumentaría en la superficie del alimento en cuestión. En la Tabla 1.1 se expresa la a_w de algunos grupos de alimentos.

El agua pasa a ser no disponible por varias causas:

- 1 Los solutos y los iones fijan el agua de la solución. Por lo tanto, el aumento de la concentración de sustancias disueltas, como por ejemplo los azúcares y las sales, equivale realmente a una desecación del alimento. El agua no sólo es fijada por los solutos, sino que, si la concentración de éstos en el medio

Tabla 1.1. Principales grupos de alimentos y sus valores de a_w

Valores de a_w	Alimentos
0,98 y superiores	Carne y pescado frescos Frutas y hortalizas frescas Leche y la mayoría de las bebidas Hortalizas enlatadas en salmuera Frutas enlatadas en almíbar poco concentrado
0,93-0,98	Leche evaporada Pasta de tomate Queso sometido a tratamiento industrial Carnes curadas enlatadas Embutidos fermentados (no desecados) Frutas enlatadas en almíbar concentrado Queso de Gouda
0,85-0,93	Embutidos secos o fermentados Cecina de vaca Jamón fresco Queso de Chedar viejo Leche condensada azucarada
0,60-0,85	Frutas desecadas Harina Cereales Compotas y jaleas Nueces Algunos quesos viejos Alimentos de humedad intermedia
Inferiores a 0,60	Chocolate Pastelería Miel Bizcochos Galletas crackers Patatas a la inglesa Huevos y hortalizas deshidratados y leche en polvo

Fuente: Adaptada de Christian, 1980.

extracelular es superior a la concentración que de los mismos existe en el interior de las células, por ósmosis, el agua tiende a salir de las células microbianas.

- 2 Los coloides hidrófilos (geles) convierten el agua en no disponible. Una cantidad de agar tan insignificante en el medio como es un porcentaje comprendido entre el 3 y el 4 por cien, puede impedir el crecimiento de las bacterias por dejar en el medio una cantidad de agua disponible excesivamente escasa.
- 3 El agua de cristalización o de hidratación no suele estar disponible para los microorganismos. El agua libre, cuando cristaliza para formar hielo, ya no

puede ser utilizada por las células microbianas. La a_w de las mezclas de agua-hielo (presión de vapor del hielo dividida por presión de vapor del agua) disminuye cuando la temperatura desciende por debajo de 0°C . Los valores de la a_w del agua pura son: 1,00 a 0°C , 0,953 a -5°C , 0,907 a -10°C , 0,846 a -15°C , 0,823 a -20°C , etc. En los alimentos, cuanto más hielo se forma, tanto más aumenta la concentración de solutos en el agua que permanece sin congelar, disminuyendo su a_w .

La disminución de la a_w debida a los solutos depende principalmente de la concentración total de las moléculas y de los iones disueltos, encontrándose cada uno de estos dos tipos de partículas rodeado por moléculas de agua ligadas a las mismas mediante uniones más o menos estables. Por esta razón, las soluciones tienen un punto de congelación y una presión de vapor de valor inferior a los valores correspondientes al agua pura. Los microorganismos tienen que competir por las moléculas de agua con las citadas partículas. Para un disolvente ideal, la disminución de la presión de vapor se ajusta a la ley de Raoult: La presión de vapor de la solución, con relación a la del disolvente puro, es igual a la fracción molar del disolvente; es decir, $p/p_0 = n_2/n_1 + n_2$, ecuación en la que p y p_0 son las presiones de vapor de la solución y del disolvente, mientras que n_1 y n_2 son el número de moles del soluto y del disolvente, respectivamente. Si bien la a_w varía con la temperatura, dentro de la escala de temperaturas que permiten el crecimiento de los microorganismos, sus oscilaciones sólo son ligeras. No obstante, conforme aumenta la concentración de solutos, las oscilaciones de la temperatura son más importantes con relación a la a_w debido a su mayor influencia sobre la ionización.

Cada microorganismo tiene una a_w máxima, una a_w óptima y una a_w mínima de crecimiento. Esta escala de valores depende de los factores que estudiamos a continuación. Cuando la a_w desciende por debajo del valor óptimo, se produce un alargamiento de la fase lag* de crecimiento, una disminución de la velocidad de crecimiento, y una disminución de la cantidad de sustancia celular sintetizada-modificaciones que varían para cada microorganismo y de acuerdo con el soluto utilizado para disminuir la a_w .

Los factores que es posible que influyan sobre las necesidades de a_w de los microorganismos son los siguientes:

- 1 *Tipo de soluto utilizado para reducir la a_w .* Para algunos microorganismos, sobre todo para los mohos, la a_w mínima de crecimiento es prácticamente independiente del tipo de soluto utilizado. Otros microorganismos, sin embargo, cuando se utilizan determinados solutos, tienen valores de a_w limitante del crecimiento que son más bajos que cuando se utilizan otros. El cloruro potásico, por ejemplo, suele ser menos tóxico que el cloruro sódico y, éste, a su vez, tiene menor poder inhibitor que el sulfato sódico.

*N. del T.: Fase de latencia.

- 2 *Valor nutritivo del medio de cultivo.* En general, cuanto más apropiado es el medio de cultivo para el crecimiento de los microorganismos, tanto menor es la a_w limitante del crecimiento¹.
- 3 *Temperatura.* A temperaturas próximas a su temperatura óptima de crecimiento, la mayoría de los microorganismos tienen una tolerancia máxima a los valores bajos de la a_w .
- 4 *Aporte de oxígeno.* Cuando en el medio existe aire, la multiplicación de los microorganismos aerobios tiene lugar a valores de la a_w más bajos que cuando en el mismo no existe aire, ocurriendo lo contrario cuando se trata de microorganismos anaerobios.
- 5 *pH.* A valores de pH próximos a la neutralidad, la mayoría de los microorganismos son más tolerantes a la escasa a_w que cuando se encuentran en medios ácidos o básicos.
- 6 *Inhibidores.* La presencia de inhibidores reduce el intervalo de valores de a_w que permite la multiplicación de los microorganismos.

Los métodos utilizados para regular la a_w son los siguientes: (1) estabilización con soluciones reguladoras, (2) determinación de la isoterma de adsorción² del agua de los alimentos (Iglesias y Chirife, 1976), y (3) adición de solutos.

Las técnicas utilizadas para medir o determinar el valor de la a_w de los alimentos incluyen la determinación del punto de congelación, técnicas manométricas, y el empleo de aparatos eléctricos. La determinación del punto de congelación sólo se puede realizar cuando se trata de alimentos líquidos con valores de a_w elevados. Esta determinación se basa en la ecuación de Clausius-Clapeyron para soluciones diluidas (Strong y otros, 1970). La técnica manométrica que determina directamente la presión de vapor en la atmósfera que rodea al alimento se considera muy exacta. Esta técnica y el aparato utilizado en la misma los describe con detalle Labuza (1974). Para la determinación indirecta de la a_w se han

¹N. del T.: a_w mínima de crecimiento.

²N. del T.: La actividad agua (a_w) se puede modificar por la adsorción o por la interacción con un soluto. El efecto de la adsorción sobre la actividad agua se denomina *efecto mátrico*; en realidad, la responsable de la reducción del agua disponible de los alimentos es la matriz de las sustancias o compuestos que lo integran. El efecto de la interacción de los solutos sobre la actividad agua se denomina *efecto osmótico*. Los alimentos, lo mismo que toda materia sólida, adsorben agua; la avidéz de un alimento por adsorber agua está determinada por las propiedades físico-químicas del mismo. Si al alimento se le permite que su a_w se equilibre con la de una atmósfera que tenga una humedad relativa conocida, cuando se alcanza el equilibrio, la a_w adsorbida tendrá el mismo valor que la de la atmósfera. Si, un vez alcanzado el equilibrio, crece un microorganismo sobre el alimento, quedará sometido a la misma a_w a la que estaría sometido si estuviese creciendo en una solución cuya a_w estuviese regulada por un soluto. En ambos casos, el microorganismo debe obtener el agua del medio en que se encuentra; en uno de los casos, el agua utilizada por el microorganismo se encontraría adsorbida en la superficie del alimento (actividad mátrica del agua), mientras que en el otro utilizaría el agua ligada a las moléculas del soluto (actividad osmótica del agua).

empleado distintos aparatos eléctricos. Los más corrientes utilizan sensores que miden la humedad relativa de la atmósfera que rodea al alimento mediante una resistencia eléctrica. La fotografía de la Figura 1.1 corresponde a uno de estos aparatos. Las sondas provistas de sensores tienen distinta sensibilidad a las oscilaciones de la humedad relativa, debiéndose seleccionar la más apropiada teniendo en cuenta los resultados que se desean obtener. El alimento se introduce en un frasco, consiguiéndose que, transcurridas de una a varias horas, se alcance el equilibrio entre el contenido de agua del alimento y la atmósfera del interior del frasco. Cuando la corriente atraviesa el filamento recubierto de cloruro sódico de la sonda se determina la resistencia, pudiéndose hacer la lectura de su valor en la escala del aparato. Para expresar como a_w o como humedad relativa los valores leídos en la escala, se utilizan las curvas de calibración.

En una prueba realizada en colaboración para comparar las distintas técnicas utilizadas para determinar la a_w (Labuza y otros, 1976), se puso de manifiesto que las determinaciones manométricas de la presión de vapor eran las más exactas.

La mayoría de las bacterias crecen bien en un medio cuya actividad agua (a_w) tenga un valor próximo a 1,00 (un valor comprendido entre 0,995 y 0,998, por ejemplo); es decir, crecen mejor en medios con concentraciones bajas de cloruro sódico o de azúcar, aunque existen notables excepciones que se citarán más adelante. Los medios en los que se cultivan la mayoría de las bacterias no contienen ni más del 1 por cien de azúcar ni más del 0,85 por cien de cloruro sódico («solución salina fisiológica»); es posible que concentraciones tan bajas como son



Figura 1.1. Aparato para determinar los valores de a_w en los alimentos. Varios sensores (en primer término) correspondientes a diversos intervalos de a_w se equilibran con la del alimento en el interior de frascos cerrados herméticamente (*American Instrument Company, Silver -Spring, Md.*).

los porcentajes del 3 al 4 por cien de azúcar y del 1 al 2 por cien de sal inhiban a algunas bacterias. En las bacterias, la a_w óptima y su límite inferior para que puedan crecer, son distintos para cada especie, variando también en función del tipo de alimento, de la temperatura, del pH, y de la presencia de oxígeno, de dióxido de carbono y de inhibidores; sus valores son menores para las bacterias capaces de crecer en medios con elevadas concentraciones de azúcar y de cloruro sódico. Constituyen ejemplos de los límites más bajos de a_w para el crecimiento de algunas bacterias de los alimentos los valores de 0,97 para *Pseudomonas*, 0,96 para *Escherichia coli*, 0,95 para *Bacillus subtilis*, 0,945 para *Enterobacter aerogenes*, 0,86 para *Staphylococcus aureus* y 0,93 para *Clostridium botulinum*. Otras bacterias crecerán a valores de a_w inferiores a 0,90. Estas cifras serían diferentes si las bacterias hubiesen crecido en condiciones distintas a las utilizadas para obtener los citados valores. Algunos valores de a_w óptima que se señalan para bacterias de los alimentos son los siguientes: de 0,99 a 0,995 para *Staph. aureus* y para las especies de *Salmonella*, 0,995 para *E. coli* y 0,982 para *Streptococcus faecalis*. Los mohos presentan importantes diferencias en cuanto a su a_w óptima y en cuanto al intervalo de a_w dentro del cual germinan las esporas asexuales. El intervalo de a_w dentro del cual germinan las esporas es más amplio a temperaturas próximas a la óptima para la germinación y en el medio de cultivo más apropiado. En algunos mohos se ha comprobado que la a_w mínima para la germinación de las esporas tiene valores bajos del orden de 0,62, mientras que en otros (por ej., *Mucor*, *Rhizopus* y *Botrytis*) alcanza valores elevados del orden de 0,93. Asimismo, cada moho tiene una a_w óptima de crecimiento y un intervalo de a_w dentro del cual es capaz de crecer. Son ejemplos de a_w óptima, los valores de 0,98 para las especies de *Aspergillus*, de 0,98 a 0,99 para las especies de *Rhizopus*, y de 0,99 para las especies de *Penicillium*. Para que no existiese ninguna posibilidad de crecimiento para los mohos, la a_w debería ser inferior a 0,62, aunque una a_w inferior a 0,70 inhibe a la mayoría de los mohos que alteran los alimentos, mientras que una a_w inferior a 0,94 inhibe a mohos como *Rhizopus*, y los valores inferiores a 0,85 inhiben las especies de *Aspergillus*. La reducción de la a_w a valores inferiores al óptimo retrasa la germinación de las esporas de los mohos y reduce su velocidad de crecimiento, siendo por lo tanto un factor importante a tener en cuenta en la conservación de alimentos. Algunos mohos son capaces de crecer en medios con una a_w próxima a 1,00 (agua pura).

El examen de las necesidades de humedad de los microorganismos permite llegar a algunas conclusiones de tipo general:

- 1 Cada microorganismo tiene su propia y peculiar a_w óptima de crecimiento y su propio intervalo de valores de a_w dentro del cual es capaz de crecer bajo una serie de determinadas condiciones del medio. Los factores que influyen en las necesidades de humedad de los microorganismos son: (a) las propiedades nutritivas del sustrato, (b) su pH, (c) su contenido en sustancias inhibitoras, (d) la existencia de oxígeno libre, y (e) la temperatura. El intervalo de a_w que permite el crecimiento de los microorganismos se reduce si

- alguno de estos factores del medio no es el óptimo, reduciéndose todavía más si dos o más de estos factores no son favorables.
- 2 Una a_w desfavorable no sólo ocasionará una disminución de la velocidad de crecimiento, sino que también dará lugar a una disminución de la producción máxima de células.
 - 3 Cuanto más desfavorable es la a_w del sustrato, tanto mayor es el retraso (fase lag) con que se inicia el crecimiento de los microorganismos o la germinación de las esporas. Cuando se trata de conservar alimentos, este hecho suele tener tanta importancia como la disminución de la velocidad de crecimiento del microorganismo.
 - 4 En general, como se puede deducir del examen de la Tabla 1.2 en la que figuran los límites mínimos de a_w para las bacterias, para las levaduras y para los mohos, las bacterias necesitan más humedad que las levaduras, y las levaduras necesitan más que los mohos. No obstante, existen bastantes excepciones a esta regla general, ya que la a_w mínima de crecimiento de algunos mohos (y para que sus esporas germinen) tiene un valor superior a la de muchas levaduras y de algunas bacterias.
 - 5 Los microorganismos que son capaces de crecer en presencia de concentraciones elevadas de solutos, por ejemplo, de azúcar y de cloruro sódico, tienen valores de a_w mínima de crecimiento bajos. Para que las bacterias halófilas crezcan, necesitan concentraciones mínimas de cloruro disuelto. Las levaduras osmófilas crecen mejor en medios que contienen azúcar en concentración elevada. (Véase el Capítulo 2).

POTENCIAL DE OXIDO-REDUCCION

Tanto la tensión de oxígeno o presión parcial de oxígeno en torno a un alimento como el potencial de óxido-reducción (O-R), o poder oxidante y reductor del

Tabla 1.2. Valores mínimos de a_w que permiten la multiplicación de microorganismos que alteran los alimentos.

<i>Grupo de microorganismos</i>	<i>Valor mínimo de a_w</i>
Muchas bacterias	0,91
Muchas levaduras	0,88
Muchos mohos	0,80
Bacterias halófilas	0,75
Hongos xerófilos	0,65
Levaduras osmófilas	0,60

Fuente: Según Mossel e Ingrams, 1955.

propio alimento, influyen en el tipo de microorganismos que crecerán en él y, por tanto, en las modificaciones que tendrán lugar en el mismo. El potencial de O-R de un alimento está definido (1) por el potencial de O-R típico del alimento originario, (2) por la capacidad de compensación del alimento, es decir, por su resistencia a modificar su potencial, (3) por la presión de oxígeno de la atmósfera existente en torno al alimento, y (4) por la comunicación que la atmósfera tiene con el alimento. El aire tiene una elevada tensión de oxígeno, pero el espacio de cabeza de una lata de un alimento que se ha conservado sometiéndola al vacío tendría una tensión de oxígeno baja.

Desde el punto de vista de su capacidad para utilizar el oxígeno libre, los microorganismos se han clasificado en *aerobios* cuando necesitan oxígeno libre, *anaerobios* cuando crecen mejor en ausencia de oxígeno libre, y *facultativos* cuando crecen bien tanto en aerobiosis como en anaerobiosis. Los mohos son aerobios, la mayoría de las levaduras crecen mejor en aerobiosis, mientras que las bacterias de las diferentes especies pueden ser aerobias, anaerobias o facultativas. Desde el punto de vista del potencial de O-R, un potencial elevado (oxidante) favorece el crecimiento de los microorganismos aerobios, aunque permitirá el crecimiento de los facultativos, mientras que un potencial bajo (reductor) favorece el crecimiento tanto de los microorganismos anaerobios como el de los facultativos. No obstante, algunos microorganismos que se consideran aerobios son capaces de crecer (aunque no crecen bien) a potenciales de O-R sorprendentemente bajos. El crecimiento de un determinado microorganismo puede modificar el potencial de O-R de un alimento lo suficiente como para impedir que crezcan otros. Es posible que los anaerobios, por ejemplo, reduzcan el potencial de O-R hasta un valor que inhiba el crecimiento de los aerobios.

Como notación escrita del potencial de O-R de un sistema se suele utilizar Eh , midiéndose y expresándose en milivoltios (mV). Un sustrato muy oxidado tendría un Eh positivo, mientras que el Eh de un sustrato reducido sería negativo. Los microorganismos aerobios, entre los que se incluyen los bacilos, los micrococos, las pseudomonas¹ y los acinetobacters,² necesitan valores de Eh positivos, o, lo que es lo mismo, potenciales de O-R positivos, expresados en mV. Por el contrario, los anaerobios, entre los que se incluyen los clostridios y los bacteroides³ necesitan valores de Eh negativos, o potenciales de O-R negativos, expresados en mV.

La mayoría de los alimentos frescos, tanto los de origen vegetal como los de origen animal, tienen en su interior un potencial de O-R bajo y bien equilibrado: los de origen vegetal porque contienen sustancias reductoras, como por ejemplo ácido ascórbico y azúcares reductores, y los tejidos animales porque contienen

¹N. del T.: Especies del género *Pseudomonas*.

²N. del T.: Especies del género *Acinetobacter*.

³N. del T.: Especies del género *Bacteroides*.

radicales sulfhidrilo ($-SH$) y otros grupos reductores. Mientras las células de las plantas o las de los animales respiran y mantienen su actividad, tienden a equilibrar su sistema de O-R a un nivel bajo, contrarrestando la acción del oxígeno que difunde desde el exterior. Por consiguiente, en un trozo de carne fresca o en una fruta fresca entera, solamente existirían condiciones aerobias en la superficie y en sus proximidades. Podría suceder que en la superficie del trozo de carne creciesen en aerobiosis bacterias productoras de viscosidad o bacterias acidificantes, a la vez que en su interior estuviese teniendo lugar la putrefacción anaerobia. Los distintos tipos de tratamientos industriales pueden modificar esta situación. Los tratamientos térmicos, al destruir o modificar las sustancias reductoras y las oxidantes, pueden reducir la capacidad de equilibrio redox del alimento, permitiendo también una difusión más rápida del oxígeno hacia el interior del alimento, debido a la destrucción de las sustancias equilibradoras o debido a las modificaciones que experimenta la estructura física del mismo. Los tratamientos industriales pueden asimismo eliminar las sustancias reductoras y las oxidantes; de aquí que los zumos de frutas exentos de pulpa hayan perdido las sustancias reductoras por ser eliminadas durante su extracción y filtración y, por consiguiente, constituyen un medio de crecimiento para las levaduras que resulta más apropiado que el zumo original que contenía la pulpa.

Si bien cuando la concentración de oxígeno es baja los mismos microorganismos aerobios o facultativos pueden dar lugar a compuestos parcialmente oxidados, por ejemplo, ácidos orgánicos originados a partir de carbohidratos, cuando existe abundante oxígeno disponible pueden oxidarlos totalmente a dióxido de carbono y agua.

CANTIDAD DE NUTRIENTES

Tanto la clase como la cantidad de nutrientes existentes en el alimento tienen una gran importancia para determinar qué microorganismo es más probable que crezca en el mismo. Se deben tener en cuenta (1) los alimentos energéticos, (2) los alimentos plásticos, y (3) las sustancias accesorias de los alimentos, o vitaminas, las cuales pueden ser indispensables como energéticas o como plásticas.

Alimentos energéticos

Los hidratos de carbono, sobre todo los azúcares, son los nutrientes más comúnmente utilizados como fuente de energía, aunque pueden ser útiles como tales otros compuestos de carbono, por ejemplo, los ésteres, los alcoholes, los péptidos, los aminoácidos, y los ácidos orgánicos y sus sales. Los hidratos de carbono complejos, por ejemplo, la celulosa, pueden ser utilizados por relativa-

mente pocos microorganismos, mientras que el almidón sólo puede ser hidrolizado por un reducido número de microorganismos. Los microorganismos también se diferencian por su distinta capacidad para utilizar algunos de los azúcares solubles más sencillos. Algunos microorganismos no son capaces de utilizar el disacárido lactosa (azúcar de la leche) y, por lo tanto, no crecen bien en la leche. Algunas levaduras no utilizan la maltosa. Las bacterias se suelen identificar y clasificar de acuerdo con su capacidad o incapacidad para utilizar azúcares y alcoholes diferentes. La mayoría de los microorganismos que no utilizan los azúcares, son capaces de utilizar la glucosa.

La capacidad de los microorganismos para utilizar la pectina, que es típica de algunas especies de bacterias y de muchos mohos, sin duda tiene importancia tanto en el ablandamiento como en la putrefacción de las frutas y de las hortalizas o de los productos que de las mismas se obtienen.

Un reducido número de especies de microorganismos son capaces de obtener su energía a partir de las grasas, aunque únicamente las utilizan con esta finalidad en el caso de que no dispongan de un alimento energético más fácilmente utilizable, como por ejemplo un azúcar. Primeramente, con el concurso de una lipasa, la grasa tiene que ser hidrolizada para dar glicerol y ácidos grasos, los cuales pueden posteriormente ser utilizados como fuente de energía, tanto por los microorganismos lipolíticos como por otros microorganismos. En general, en la descomposición de las grasas, los microorganismos aerobios intervienen con mayor frecuencia que los anaerobios, razón por la cual los microorganismos lipolíticos también suelen ser proteolíticos. La oxidación directa de las grasas que contienen ácidos grasos insaturados suele ser una oxidación de tipo químico.

Los productos de la hidrólisis de las proteínas, de los péptidos y de los aminoácidos, por ejemplo, son utilizados como fuente de energía por algunos microorganismos proteolíticos cuando no disponen de otra fuente más apropiada, y como nutrientes energéticos por otros microorganismos que no son proteolíticos. Las carnes, por ejemplo, es posible que contengan una escasa cantidad de hidratos de carbono y de aquí que sean descompuestas por microorganismos proteolíticos, por ejemplo, por especies de *Pseudomonas*, creciendo en las mismas, a continuación, especies con una débil actividad proteolítica o especies no proteolíticas que son capaces de utilizar los productos resultantes de la hidrólisis de las proteínas. Los microorganismos se diferencian por su capacidad para utilizar como fuente de energía determinados aminoácidos. Esto se debe a que es el número de moléculas (o moles) de azúcar el que influye en la a_w , cuyo porcentaje se suele expresar en peso por unidad de volumen.

No sólo tiene importancia el tipo de alimento energético, sino también la cantidad que del mismo se encuentra disuelto y, por consiguiente su actividad osmótica, y la cantidad de humedad disponible. Para un determinado porcentaje de azúcar disuelto, la presión osmótica variará en función del peso molecular del azúcar. Por consiguiente, una solución al 10% de glucosa tiene una presión osmótica aproximadamente doble que la de una solución al 10% de sacarosa o de maltosa; es decir, retiene el doble de humedad. En general, los mohos son los

microorganismos que crecen en medios con las concentraciones de azúcares más elevadas, mientras que las levaduras crecen en concentraciones de azúcares medianamente elevadas, y la mayoría de las bacterias crecen mejor en concentraciones de azúcares medianamente bajas. Naturalmente, existen notables excepciones a esta regla general: las levaduras osmófilas crecen en concentraciones de azúcar tan elevadas como las concentraciones a las que crecen los mohos.

Sin duda, un aporte apropiado de alimentos plásticos favorecerá la utilización de los alimentos energéticos. Si se halla presente en cantidad suficiente un alimento nitrogenado de buena calidad, se utilizará una cantidad de hidratos de carbono mayor que si el nitrógeno del alimento es de mala calidad o se encuentra en él en escasa cantidad. Los microorganismos que necesitan determinadas sustancias accesorias estimulantes del crecimiento, podrían no crecer si les faltase una o más de estas «vitaminas», razón por la cual es posible que todo el proceso de descomposición se modificase.

Alimentos plásticos

Los microorganismos se diferencian por su distinta capacidad para utilizar los diferentes compuestos nitrogenados como fuente de nitrógeno para satisfacer sus necesidades de crecimiento. Algunos microorganismos son incapaces de hidrolizar las proteínas, y de aquí que no sean capaces de obtener nitrógeno de las mismas sin el concurso de un microorganismo proteolítico. Es posible que una determinada proteína sea una fuente de nitrógeno más apropiada que otra debido a los productos que se forman durante su hidrólisis, sobre todo por lo que se refiere a los péptidos y a los aminoácidos. Los péptidos, los aminoácidos, la urea, el amoníaco y otros compuestos nitrogenados más sencillos, pueden ser utilizados por determinados microorganismos, aunque no por otros, o bien los utilizan cuando en el medio concurren determinadas condiciones, dejando de utilizarlos cuando éstas varían. Algunas bacterias productoras de ácido láctico crecen mejor en medios que contienen polipéptidos, los cuales utilizan como fuente de nitrógeno, son incapaces de hidrolizar la caseína, y no crecen bien cuando en el medio sólo existe un reducido número de tipos de aminoácidos. Cuando en un sustrato existen hidratos de carbono fermentescibles, en él suele tener lugar una fermentación ácida que impide el crecimiento de las bacterias proteolíticas, originándose de esta forma el denominado efecto «de ahorro» de los compuestos nitrogenados. Asimismo, se impide o se inhibe la producción de compuestos nitrogenados perjudiciales.

Muchas especies de mohos son proteolíticas, si bien existen pocos géneros y pocas especies de bacterias y muy pocas levaduras con potente actividad proteolítica. En general, las bacterias proteolíticas crecen mejor a valores de pH próximos a la neutralidad y de aquí que sean inhibidas por la acidez, aunque existen excepciones, como ocurre en la proteólisis que realizan las bacterias ácido-proteolíticas que, a la vez que hidrolizan la proteína, producen ácido.

Parte del carbono que utilizan los microorganismos para su crecimiento puede proceder del dióxido de carbono, aunque con mayor frecuencia utilizan el de los compuestos orgánicos.

Las sales minerales que necesitan los microorganismos casi siempre se encuentran en el medio en las bajas concentraciones que las necesitan, aunque a veces es posible que un determinado nutriente inorgánico esté combinado de forma que no pueda ser utilizado, que no exista en el medio o que se encuentre en él en cantidad insuficiente. Un ejemplo de ello es la leche, la cual no contiene la suficiente cantidad de hierro para la pigmentación de las esporas de *Penicillium roqueforti*. Las especies de bacterias que producen septicemia suelen ser capaces de fijar cierta cantidad de hierro de la sangre. Sólo crecen bien en la sangre humana las cepas que son capaces de competir por el hierro de la transferrina.

Sustancias accesorias de los alimentos, o vitaminas

Algunos microorganismos son incapaces de sintetizar algunas o todas las vitaminas que necesitan, y de aquí que se les deban suministrar. Muchos alimentos, tanto de origen vegetal como de origen animal, contienen una serie de vitaminas, aunque es posible que algunas se encuentren en los mismos en escasa cantidad o que falten. A este respecto, las carnes tienen un elevado contenido de vitaminas del grupo B, mientras que su contenido en las frutas es bajo, si bien estas últimas contienen gran cantidad de ácido ascórbico. La clara de huevo contiene biotina, pero también contiene avidina, la cual fija la biotina, convirtiéndola en no disponible para los microorganismos y con ello inhibe, como posibles microorganismos productores de alteraciones de los huevos, a aquéllos que para crecer necesitan biotina. Los distintos tratamientos a los cuales se someten los alimentos suelen reducir su contenido vitamínico. La tiamina, el ácido pantoténico, las vitaminas del grupo del ácido fólico y el ácido ascórbico (en presencia de aire) son termolábiles, mientras que la desecación produce la pérdida de vitaminas tales como la tiamina y el ácido ascórbico. Incluso el almacenamiento de los alimentos durante un tiempo prolongado, sobre todo si la temperatura de almacenamiento es elevada, puede tener como consecuencia la disminución de la concentración de algunos de los factores accesorios de crecimiento.

Cada una de las especies bacterianas (o de cualquier otro microorganismo) tiene una escala definida de necesidades nutritivas. Para algunas especies esta escala es amplia, y de aquí que crezcan en sustratos muy distintos, característica que es típica de las bacterias coliformes; no obstante, para otras especies bacterianas, por ejemplo para muchas patógenas, la escala de necesidades es reducida y de aquí que los microorganismos sólo sean capaces de crecer en un corto número de tipos de sustratos. Por lo tanto, la bacterias se diferencian en cuanto a los nutrientes que son capaces de utilizar para obtener energía: Algunas son capaces de utilizar diversos hidratos de carbono, como por ejemplo las bacterias coliformes y las especies de *Clostridium*, y otras sólo son capaces de

utilizar uno o dos, mientras que algunas son capaces de utilizar otros compuestos de carbono, como por ejemplo ácidos orgánicos y sus sales, alcoholes y ésteres (especies de *Pseudomonas*). Algunas son capaces de hidrolizar hidratos de carbono complejos, mientras que otras son incapaces de ello. De igual forma, las necesidades de nitrógeno de bacterias tales como las especies de *Pseudomonas* pueden ser satisfechas por compuestos sencillos como son el amoníaco o los nitratos; o bien es posible que incluso utilicen o necesiten compuestos más complejos como son los aminoácidos, los péptidos o las proteínas, característica típica de las bacterias lácticas. Las bacterias también tienen distintas necesidades de vitaminas o factores accesorios de crecimiento; algunas (*Staph. aureus*) sintetizan parte de estos factores de crecimiento, mientras que otras (*Pseudomonas* o *E. coli*) sintetizan todos los que necesitan, e incluso hay un tercer grupo de bacterias a las que es preciso suministrárselos (las bacterias lácticas y muchas bacterias patógenas). Se debe insistir en que, en general, cuanto más apropiado es el medio para un determinado microorganismo, tanto más amplios son los intervalos de temperatura, de pH, y de a_w dentro de los cuales es capaz de crecer.

SUSTANCIAS INHIBIDORAS Y ESTRUCTURA BIOLÓGICA

Las *sustancias inhibidoras* existentes en el alimento original, añadidas al mismo de forma deliberada o accidental, o producidas en él por el crecimiento de microorganismos o por los distintos sistemas de tratamiento, pueden impedir el crecimiento de todos los microorganismos o, cosa que ocurre con mayor frecuencia, pueden impedir el crecimiento de determinadas especies. Constituyen ejemplos de inhibidores naturales las lacteninas y el factor anticolidiforme de la leche recién ordeñada, la lisozima de la clara de huevo y el ácido benzoico de los arándanos encarnados. Todo microorganismo que crece en un alimento puede producir una o más sustancias inhibidoras de otros microorganismos, pudiendo tratarse de ácidos, alcoholes, peróxidos, e incluso antibióticos. El ácido propiónico producido por las bacterias propiónicas en el queso suizo, inhibe a los mohos; el alcohol, producido en gran cantidad por las levaduras de la fermentación vínica, inhibe a los microorganismos competidores; y la nisina, producida por determinadas cepas de *Streptococcus lactis*, lo mismo puede ser útil para inhibir los clostridios productores de gas que fermentan los lactatos durante la maduración del queso, como indeseable por retardar el crecimiento de algunos estreptococos productores de ácido láctico que son indispensables durante su elaboración. También existe la posibilidad de que las sustancias inhibidoras que contienen los alimentos sean destruidas por microorganismos. Determinados mohos y determinadas bacterias son capaces de destruir algunos de los compuestos fenólicos que se añaden a la carne o al pescado mediante el ahumado, o el ácido benzoico que se añade a los alimentos; el dióxido de azufre es destruido por levaduras

resistentes al mismo; y los lactobacilos son capaces de inactivar la nisina. El calentamiento de los alimentos puede ser el responsable de que se formen sustancias inhibitoras: El calentamiento de los lípidos puede acelerar su oxidación convirtiéndolos en inhibidores, mientras que la caramelización de los jarabes azucarados concentrados puede dar lugar a que se produzcan furfural e hidroximetilfurfural, los cuales inhiben a los microorganismos fermentadores. El almacenamiento de alimentos a temperaturas elevadas durante mucho tiempo puede producir resultados parecidos.

Se ha observado la influencia que ejerce la *estructura biológica* de los alimentos en la protección de los mismos frente a las alteraciones. Las partes internas de los tejidos íntegros y sanos de las plantas y de los animales vivos son estériles o contienen una escasa carga microbiana. Por consiguiente, a no ser que se les haya dado la oportunidad para que penetren, los microorganismos productores de alteraciones, es posible que en su interior se encuentren en escasa cantidad o que no existan. Los alimentos suelen estar provistos de una envoltura protectora que les rodea, como es la cáscara de los huevos, la piel de las canales de las aves, la cáscara de las nueces, y la corteza o piel de las frutas y hortalizas, o es posible que hayamos envuelto el alimento con una envoltura artificial, por ejemplo, plástico o cera. Esta protección física del alimento no sólo puede contribuir a conservarlo, sino que también puede determinar el tipo, la velocidad y el curso de la alteración. Las capas de grasa existentes en la superficie de la carne pueden proteger esta parte de la misma, y las escamas pueden proteger la parte externa del pescado. Por otra parte, el aumento de la superficie expuesta del alimento, como consecuencia de las operaciones de pelado, desuello, troceado o trituración, es posible que sirva no sólo para diseminar los microorganismos que producen alteraciones, sino también para liberar los jugos que contienen sustancias nutritivas para los microorganismos invasores. La disgregación de los tejidos por la congelación puede tener consecuencias parecidas.

En la carne, el crecimiento de las bacterias que la alteran tiene lugar principalmente en el líquido existente entre las finas fibras musculares y únicamente después de la fase rigidez cadavérica es cuando es liberado de las fibras gran cantidad de este líquido nutritivo el cual puede ser utilizado por los microorganismos productores de alteraciones.

EFFECTOS COMBINADOS DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CRECIMIENTO

Cada uno de los factores propios de la composición de los alimentos a_w , pH, potencial de óxido-reducción y contenido de nutrientes-, pueden influir de forma importante en el tipo de flora microbiana resultante. Algunos de estos factores interaccionan entre sí, y de aquí que se deban valorar teniendo en cuenta la

ecología global del alimento. Por ejemplo, un microorganismo que crece a un pH próximo a su valor óptimo tolerará mejor los cambios de a_w que uno que crezca a un pH próximo a sus valores mínimo o máximo. Por lo tanto, se puede observar un efecto inhibitor combinado debido a los valores desfavorables del pH y de la a_w . Con el fin de impedir o retardar el crecimiento de los microorganismos, se pueden manipular varios de estos factores en vez de ajustar uno solo de los mismos a un valor inhibitor.

El estudio de los factores que influyen en la germinación de las esporas de *Clostridium botulinum* ha puesto de manifiesto que existen interacciones o efectos combinados debidos a la a_w , al pH, a la temperatura, al potencial de O-R, y a las concentraciones de cloruro sódico y de nitrato sódico del alimento. La dificultad de recopilar numerosos valores exactos correspondientes a una gran cantidad de variables, puede hacer necesaria la construcción de modelos matemáticos para predecir el sistema de conservación apropiado. Para predecir el nivel del posible riesgo debido al crecimiento de *Staphylococcus aureus* y de *Salmonella typhimurium* (Broughall y Brown, 1984) se han utilizado técnicas para definir el efecto de dos factores (pH y a_w) que influyen en el crecimiento de los microorganismos junto con el efecto de la temperatura.

BIBLIOGRAFIA

- Brock, T. D. 1970. Biology of microorganisms. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J.
- Broughall, J. M., and C. Brown. 1984. Hazard analysis applied to microbial growth in foods: development and application of three-dimensional models to predict bacterial growth. *Food Micro.* 1:13-22.
- Brown, M. H., and O. Emberger. 1980. Oxidation-reduction potential. In J. H. Silliker (ed.), *Microbial ecology of foods*, Vol. I, chap. 6. Academic Press, Inc., New York.
- Christian, J. H. B. 1980. Reduced water activity. In J. H. Silliker (ed.), *Microbial ecology of foods*, Vol. I, chap. 4. Academic Press, Inc., New York.
- Corlett, D. A. Jr., and M. H. Brown. 1980. pH and acidity. In J. H. Silliker (ed.), *Microbial ecology of foods*, Vol. I, chap. 5. Academic Press, Inc., New York.
- Dawson, P. S. S. (ed.). 1974. Benchmark papers in microbiology. Volume VIII. Microbial growth. Dowden, Hutchinson and Ross, Inc., Stroudsburg, Pa.
- Heidelbaugh, N. D., and M. Karel. 1975. Intermediate moisture food technology. In S. A. Goldblith (ed.), *Freeze drying and advanced food technology*, chap. 38. Academic Press, Inc., New York.
- Iglesias, H. A., and J. Chirife. 1976. A model for describing the water sorption behavior of foods. *J. Food Sci.* 41:984-992.
- Jay, J. M. 1978. *Modern food microbiology*. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Labuza, T. P. 1974. Sorption phenomena in foods: theoretical and practical aspects. In C. Rha (ed.), *Theory, determination and control of physical properties of food materials*, chap. 10. D. Reidel Publishing Co., Dordrecht, Holland.

- Labuza, T. P., K. Acott, S. R. Tatini, and R. Y. Lee. 1976. Water activity determination: a collaborative study of different methods. *J. Food Sci.* 41:910-917.
- Loncin, M. 1975. Basic principles of moisture equilibria. *In* S. A. Goldblith (ed.), *Freeze drying and advanced food technology*, chap 37. Academic Press, Inc., New York.
- Marth, E. H. 1966. Antibiotics in foods: naturally occurring, developed and added. *Residue Rev.* 12:65-161.
- Mossel, D. A. A., and M. Ingram. 1955. The physiology of the microbial spoilage of foods. *J. Appl. Bacteriol.* 18:233-268.
- Scott, W. J. 1957. Water relations of food spoilage microorganisms. *Adv. Food Res.* 7:83-127.
- Stanier, R. Y., E. A. Adelberg, and J. Ingraham. 1976. *The microbial world*. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J.
- Strong, D. H., E. Foster, and C. Duncan. 1970. Influence of A_w on the growth of *Clostridium perfringens*. *Appl. Microbiol.* 19:980-984.
- Troller, J. A. 1972. The water relations of food-borne bacterial pathogens: a review. *J. Milk Food Technol.* 36:276-288.
- Troller, J. A., and J. H. B. Christian. 1978. *Water activity and food*. Academic Press, Inc., New York.

00017

Microorganismos importantes en microbiología de los alimentos

Los microbiólogos especialistas en alimentos deben familiarizarse con los microorganismos importantes que crecen en los mismos por lo menos hasta un grado que les permita identificar los principales tipos con el fin de hacer uso de cuanto se sabe acerca de sus peculiaridades y comparar los resultados con los de otros autores. La primera parte del presente capítulo describe brevemente la identificación y clasificación de los mohos de los alimentos, ya que estos microorganismos no se estudian con la debida extensión en el curso habitual de iniciación a la Microbiología. Contiene una breve revisión de la clasificación de las levaduras, aunque no se ha intentado abarcar su bacteriología determinativa, materia sobre la cual el estudiante suele recibir la adecuada iniciación durante el primer curso de Microbiología.

MOHOS

De todos es conocido que los mohos crecen en la superficie de los alimentos con su típico aspecto aterciopelado o algodonoso, a veces pigmentado, y que generalmente todo alimento enmohecido o «florecido» se considera no apto para el consumo. Si bien es cierto que los mohos intervienen en la alteración de muchos tipos de alimentos, determinadas especies de los mismos son útiles en la elaboración de ciertos alimentos o de componentes de los mismos. Así, algunos tipos de quesos son madurados por mohos, como por ejemplo el queso azul, el de

Roquefort, el de Camembert, el de Brie, el de Gammelost, etc., utilizándose también mohos en la elaboración de alimentos orientales, como son la salsa de soja, el «miso» y el «sonti», y otros que se estudian más adelante. Se han cultivado mohos para ser utilizados como alimento humano o como pienso para los animales y en la actualidad se emplean para elaborar productos utilizados en los alimentos, como por ejemplo la amilasa que se utiliza en la panificación, o el ácido cítrico que se utiliza en las bebidas refrescantes. Algunos mohos producen distintos metabolitos tóxicos (micotoxinas), los cuales se estudian en el Capítulo 25.

CARACTERES GENERALES DE LOS MOHOS

El término *moho* se suele aplicar para designar a ciertos hongos filamentosos multicelulares cuyo crecimiento en la superficie de los alimentos se suele reconocer fácilmente por su aspecto aterciopelado o algodonoso. La parte principal de su crecimiento suele tener un aspecto blanco, aunque puede tener colores distintos, color oscuro o color de humo. Son típicas de los hongos adultos de algunas especies las esporas de colores variados, las cuales pueden comunicar su color a parte o a todo el crecimiento. El talo, o cuerpo vegetativo, que es típico de las talofitas, carece de raíces verdaderas, de tallos, y de hojas.

Caracteres morfológicos

La morfología de los mohos, es decir, su forma y su estructura, conceptuadas mediante sus observaciones macroscópica y microscópica, se utiliza para identificarlos y clasificarlos.

Hifas y micelio. El talo de los mohos está formado por una masa de filamentos ramificados y entrelazados llamados **hifas** (en singular, **hifa**), denominándose **micelio** al conjunto de estas hifas. Las hifas pueden ser **sumergidas**, o hifas que crecen dentro del alimento, o **aéreas**, o hifas que crecen en la atmósfera existente por encima del alimento. Las hifas también se pueden clasificar en **vegetativas**, o hifas que crecen, y de aquí que sean las encargadas principalmente en la nutrición del moho, y **fértiles**, encargadas de producir los órganos reproductores. En la mayoría de los mohos las hifas fértiles son aéreas, aunque en algunos pueden ser sumergidas. Las hifas de algunos mohos son completas y lisas, mientras que las de otros son típicamente delgadas y desordenadas. Un escaso número de especies de mohos produce **esclerocios** (en singular **esclerocio**), los cuales son acúmulos de hifas modificadas, con frecuencia de pared gruesa, existentes en el micelio. En comparación con el resto del micelio, estos esclerocios son bastante más resistentes al calor y a otros factores desfavorables y por

esta razón pueden tener importancia en algunos alimentos que se someten a tratamiento térmico.

La observación microscópica de las hifas de los mohos pone de manifiesto caracteres que son de utilidad para identificar los géneros. Los mohos se dividen en dos grupos: **septados**, es decir, provistos de tabiques transversales que dividen a las hifas en celdas, y **no septados cenocíticos**, cuyas hifas están claramente formadas por cilindros desprovistos de tabiques transversales. Las hifas no septadas poseen núcleos diseminados a lo largo de su longitud, y de aquí que se consideren multicelulares. Las hifas de la mayoría de los mohos son transparentes, aunque algunas son de color oscuro o bien tienen color de humo. Cuando se observan al microscopio, las hifas pueden ser transparentes y estar desprovistas de color, aunque pueden tenerlo cuando se observan a simple vista grandes acúmulos de las mismas.

Las hifas septadas aumentan de longitud mediante la división de la célula del extremo de la hifa (crecimiento apical) o mediante la división de la células intermedias de la hifa (crecimiento intercalar), siendo típico de cada especie de moho el tipo de crecimiento. La división de los núcleos diseminados a lo largo de las hifas no septadas va acompañada de un aumento de la longitud de los filamentos.

Determinadas estructuras del micelio o determinados órganos ayudan a identificar los mohos. Son ejemplos de ello los rizoides o «anclajes»* de los géneros *Rhizopus* y *Absidia*, la célula basal del género *Aspergillus* y la ramificación dicotómica, o en forma de Y, del género *Geotrichum*, caracteres que, todos ellos, se describen más adelante.

Organos o estructuras reproductores. Los mohos son capaces de crecer a partir de un trozo de micelio trasplantado. Se reproducen principalmente por medio de esporas asexuales. Algunos mohos también producen esporas sexuales. A tales hongos se les denomina «perfectos», los cuales se dividen en *Oomycetes* y *Zygomycetes* si no son septados, o bien en *Ascomycetes* y *Basidiomycetes* si son septados, en contraposición a los mohos «imperfectos», *Fungi Imperfecti*, los cuales sólo poseen esporas asexuales.

Esporas asexuales. Los mohos producen gran cantidad de esporas asexuales, las cuales son de pequeño tamaño, ligeras, y resistentes a la desecación. Se diseminan fácilmente por la atmósfera para sedimentar y originar el talo de un nuevo moho en aquellos lugares en los que encuentran condiciones favorables. Los tres tipos principales de esporas asexuales son: (1) **conidios** (en singular, **conidio**) (Figura 2.1), (2) **artrosporas** u **oidios** (en singular, **oidio**) (Figura 2.2), y (3) **esporangiosporas** (Figura 2.3). Los conidios se separan, o crecen, en

*N. del T.: Los rizoides son prolongaciones del talo vegetativo que fijan el moho al sustrato o medio donde crecen y cuya función principal es la nutrición del microorganismo. Son equivalentes a los discos basales de las algas.

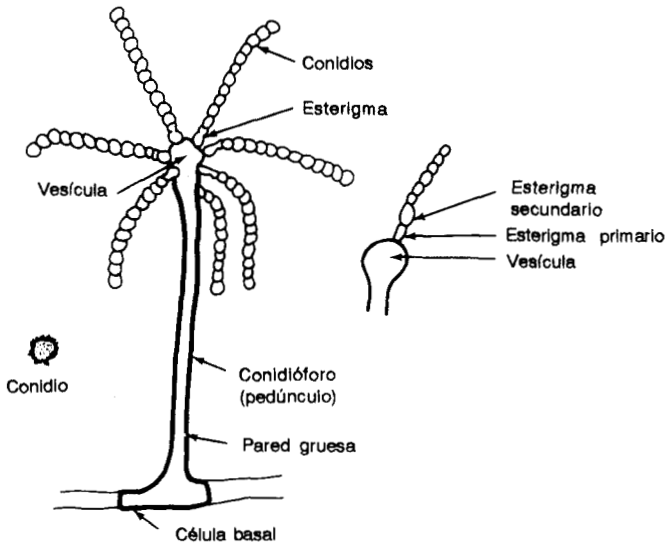


Figura 2.1. Dibujo esquemático de una cabeza conidial simple de *Aspergillus*.

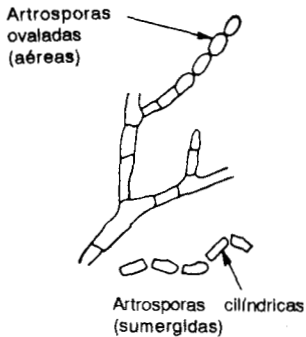


Figura 2.2. *Geotrichum*.

determinadas hifas fértiles denominadas **conidióforos** y generalmente son libres, es decir, no se encuentran dentro de ningún receptáculo, en contraposición a las esporangiosporas, las cuales se encuentran dentro de un **esporangio** (en plural, **esporangios**), o receptáculo, situado en el extremo de una hifa fértil, el **esporangiífero**. Las artrosporas se forman por fragmentación de una hifa, de forma que las células de las hifas se transforman en artrosporas. Se ofrecerán ejemplos de estos tres tipos de esporas al estudiar los géneros importantes de mohos. Algunas especies de mohos producen un cuarto tipo de spora asexual,

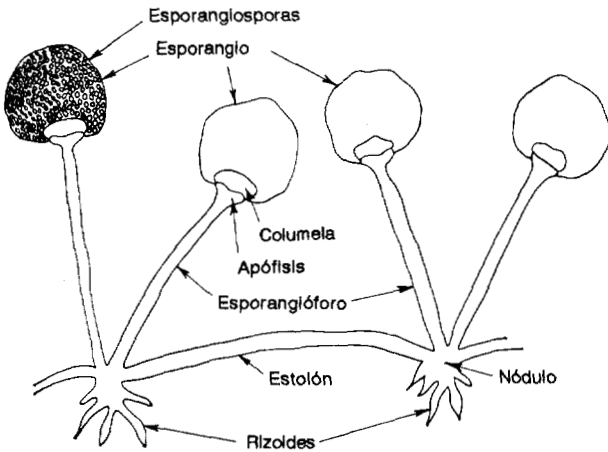


Figura 2.3. *Rhizopus*.

la **clamidospora**, cuando determinadas células distribuidas aquí y acullá en el micelio almacenan alimentos de reserva, aumentan de tamaño y producen una pared de mayor grosor que la que rodea a las células. Esta clamidospora, o célula latente, es capaz de soportar las condiciones desfavorables del medio mejor que el micelio normal del moho y, posteriormente, cuando las condiciones del medio son favorables, es capaz de dar origen a un nuevo moho.

La morfología de las esporas sexuales de los mohos resulta útil para identificar tanto los géneros como las especies de estos microorganismos. Las esporangiosporas se diferencian entre sí por su tamaño, por su forma y por su color. Los conidios no sólo se diferencian por los citados caracteres, sino que al mismo tiempo pueden ser lisos o rugosos y estar formados por una sola célula, por dos células o por varias. Para identificar los mohos también tiene utilidad el aspecto de las hifas fértiles y el de las esporas asexuales existentes en las mismas. Si se forman esporangios, los caracteres que se deben observar son si los esporangios son simples o ramificados, el tipo de ramificación, y el tamaño, la forma, el color y la situación de los esporangios. El extremo engrosado del esporangióforo, la **columela**, que suele sobresalir hacia el interior del esporangio, adopta formas típicas en cada una de las distintas especies de mohos. Los conidios pueden nacer individualmente en los conidióforos, o bien en cabezas esporales de distinta disposición y complejidad. La simple observación del aspecto de la cabeza esporal suele bastar para identificar un determinado género. Algunos mohos poseen conidios comprimidos uno contra otro, dispuestos en cadenas, y que nacen de una célula especializada, el **esterigma** (en plural, **esterigmas**) o **fiálide** situada en el extremo del conidióforo. Otros mohos están provistos de acúmulos irregulares de conidios, que se separan del extremo del conidióforo sin que existan

esterigmas visibles. Los acúmulos de conidios pueden estar débilmente unidos entre sí o, por el contrario, estar fuertemente unidos, e incluso pueden estar recubiertos por un mucflago. Los conidios de algunos mohos nacen del conidióforo por gemación y continúan multiplicándose de esta forma; tienen un aspecto parecido al de las levaduras.

Esporas sexuales. Los mohos capaces de producir esporas sexuales se clasifican según el modo con que se forman y el tipo de espora producido. Los mohos no septados (*Phycomycetes*) que producen oosporas se denominan *Oomyce-tes*. Estos mohos son en su mayoría acuáticos; no obstante, en este grupo se incluyen algunos mohos que son importantes como patógenos para las plantas, es decir, las «royas lanosas» que producen el tizón tardío de las plantas de patata y la roya de las plantas de tomate. Las oosporas se forman mediante la fusión de un gameto masculino de pequeño tamaño y de un gameto femenino de gran tamaño. Los *Zygomycetes* forman sus **zigosporas** mediante la fusión de los extremos de dos hifas, que suelen tener aspecto parecido, y que pueden pertenecer al mismo micelio o a distintos micelios. Tanto las oosporas como las zigosporas están recubiertas por una membrana resistente, siendo ésta la razón de que sean capaces de sobrevivir durante mucho tiempo. Los *Ascomycetes* (septados) forman esporas sexuales, a las que se les conoce con la denominación de **ascosporas**, mediante la fusión de dos células del mismo micelio o de dos micelios distintos. Las esporas, resultantes de la división de la célula formada una vez ha tenido lugar la conjugación, se encuentran en el interior de un **asca**, o receptáculo, que suele contener ocho esporas. Las ascas pueden ser simples o estar agrupadas dentro de una envoltura común denominada **ascocarpo**, el cual se forma por ramificación y entrecruzamiento de hifas contiguas. Los *Basidiomycetes*, que incluyen a la mayoría de los hongos superiores, a las royas y tizones de las plantas, etc., forman un cuarto tipo de espora sexual, la **basidiospora**.

Caracteres de los cultivos

El aspecto macroscópico de todo moho que crece en la superficie de un alimento suele ser suficiente para indicar la clase o el orden a que pertenece. Algunos mohos tienen una textura laxa y un aspecto lanoso, mientras que otros son compactos. Algunos tienen un aspecto aterciopelado en su superficie libre, el aspecto de otros es seco y pulverulento y el de otros es húmedo o gelatinoso. Algunos mohos tienen un tamaño limitado, mientras que el crecimiento de otros sólo parece estar limitado por el alimento o por el recipiente donde crecen. Determinadas estructuras que crecen en el talo diferencian a ciertos mohos, como es el caso de *Aspergillus niger*. El color de los pigmentos del micelio —rojo, morado, amarillo, pardo, gris, negro, etc.— es tan típico como el de los acúmulos de esporas asexuales: verde, verde azulado, amarillo, naranja, rosa, lila, pardo, gris, negro, etc. El aspecto del reverso de un moho que crece en una placa de agar

puede ser muy llamativo, como por ejemplo el color negro azulado opalescente o el color negro verdoso de la cara inferior de *Cladosporium*.

Propiedades fisiológicas

Las propiedades fisiológicas de los mohos sólo se revisarán aquí brevemente ya que más adelante se estudiarán con mayor detalle.

Necesidades de humedad. En general, en comparación con la mayoría de las levaduras y de las bacterias, la mayoría de los mohos necesitan menor cantidad de humedad disponible. Se puede calcular de forma aproximada la cantidad total de humedad de un determinado alimento que limita el crecimiento de los mohos, y de aquí que se haya sostenido que un porcentaje total de humedad por debajo de un 14 a un 15 por cien en la harina o en algunos frutos secos impedirá o retardará mucho el crecimiento de los mohos.

Necesidades de temperatura. La mayoría de los mohos podrían considerarse **mesófilos**, es decir, que son capaces de crecer bien a temperaturas normales. Para la mayoría de los mohos, la temperatura óptima de crecimiento se encuentra alrededor de los 25 a 30°C, aunque algunos crecen bien a temperaturas comprendidas entre los 35 y los 37°C o a temperaturas superiores. Algunos mohos son **psicrótrofos**, es decir, crecen bastante bien a temperaturas de refrigeración, y algunos son capaces de crecer lentamente a temperaturas inferiores a la de congelación. Se han citado casos de mohos que han crecido a temperaturas tan bajas como son las comprendidas entre los -5 y los -10°C. Unos pocos son **termófilos**, es decir, su temperatura óptima de crecimiento es elevada.

Necesidades de oxígeno y de pH. Los mohos son aerobios, es decir, necesitan oxígeno para crecer; esto es cierto por lo menos en los mohos que crecen en la superficie de los alimentos. Casi todos los mohos son capaces de crecer dentro de un amplio intervalo de valores de concentración de iones hidrógeno (pH comprendido entre 2 y 8,5), aunque la mayoría crecen mejor a pH ácido.

Necesidades nutritivas. En general, los mohos son capaces de utilizar muchos tipos de alimentos, que van desde sencillos a complejos. La mayoría de los mohos corrientes poseen diversos enzimas hidrolíticos, y de aquí que algunos se cultiven por las amilasas, pectinasas, proteinasas y lipasas que contienen.

Inhibidores. Algunos mohos producen sustancias que inhiben a otros microorganismos, como por ejemplo la penicilina de *Penicillium chrysogenum* y la clavacina de *Aspergillus clavatus*. Determinados compuestos químicos se comportan como **micostáticos**, por inhibir el crecimiento de los mohos (ejemplos de

estos compuestos son el ácido sórbico, los propionatos y los acetatos), o son específicamente **fungicidas** por destruir a los mohos. El inicio del crecimiento de los mohos es lento si se compara con el de las bacterias y el de las levaduras, de forma que cuando las condiciones del medio son favorables para todos estos microorganismos, los mohos suelen ser los últimos en crecer. No obstante, una vez los mohos han iniciado su crecimiento, éste puede ser muy rápido.

CLASIFICACION E IDENTIFICACION DE LOS MOHOS

Los mohos son vegetales del Reino Myceteae. Carecen de raíces, de tallos y de hojas y no poseen clorofila. Pertenecen a los *Eumycetes*, u hongos verdaderos, y posteriormente se subdividen en subdivisiones, clases, órdenes, familias y géneros.

Los principales criterios utilizados para identificar y clasificar los mohos son los siguientes:

- 1 Hifas septadas o no septadas
- 2 Micelio transparente u oscuro (color de humo)
- 3 Micelio coloreado o incoloro
- 4 Si se producen esporas sexuales y el tipo de las mismas: oosporas, zigosporas o ascosporas
- 5 Tipo de esporas sexuales: esporangiosporas, conidios, o artrosporas (oidios)
- 6 Caracteres de la cabeza esporal
 - a Esporangios: tamaño, color, forma y situación
 - b Cabezas esporales que poseen conidios: conidios simples, cadenas de conidios, conidios gemantes, o acúmulos de conidios; forma y disposición de los esterigmas o fiálides; conidios unidos entre sí por una sustancia gomosa
- 7 Aspecto de los esporangióforos o conidióforos: simples o ramificados y, si son ramificados, tipo de ramificación; tamaño y forma de la columela existente en el extremo del esporangióforo; conidióforos separados o formando haces
- 8 Aspecto microscópico de las esporas asexuales, sobre todo de los conidios: forma, tamaño, color; lisos o rugosos; monocelulares, bicelulares o pluricelulares
- 9 Existencia de estructuras especializadas (o esporas): estolones, rizoides, células basales, apófisis, clamidosporas, esclerocios, etc.

Samson y otros (1984) han preparado una excelente iniciación a los hongos transmitidos por los alimentos. En el texto se incluyen figuras de un gran número de mohos transmitidos por los alimentos, microfotografías reales de mo-

hos, fotografías de mohos crecidos en superficies de agar y una clave para su identificación.

Mohos de importancia industrial

Se describe el género de varios mohos que tienen importancia industrial, representándose las estructuras morfológicas típicas en las figuras que acompañan al texto.

Mucor. Los mohos del género *Mucor* (Figuras 2.4 y 2.5) intervienen en la alteración de algunos alimentos y se utilizan en la fabricación de otros. Una especie muy abundante es *M. racemosus*. La especie *M. rouxii* se utiliza en el proceso industrial denominado «Amylo» para la sacarificación del almidón, siendo especies de este género las que contribuyen a madurar algunos quesos (por ej., el queso de Gammelost) y las que se utilizan para fabricar ciertos alimentos orientales.

Zygorrhynchus. Estos mohos del suelo son parecidos a los del género *Mucor*, diferenciándose de estos últimos por el hecho de que los suspensores de las zigosporas tienen un tamaño muy desigual (Figura 2.6).

Rhizopus. La especie *Rhizopus stolonifer*, el denominado moho del pan, es muy corriente e interviene en la alteración de algunos alimentos: bayas, frutas, hortalizas, pan, etc. (Figuras 2.7 y 2.3).

Absidia. Parecido a *Rhizopus* del que se diferencia por sus esporangios pequeños y piriformes (Figura 2.8).

Thamnidium. *Thamnidium elegans* se encuentra en carne que se mantiene almacenada a temperaturas de refrigeración en la que produce las denominadas «barbas» (Figura 2.9).

Aspergillus. (Figuras 2.1 y 2.10). Los aspergilos son mohos muy abundantes. Algunas especies intervienen en las alteraciones que experimentan los alimentos,

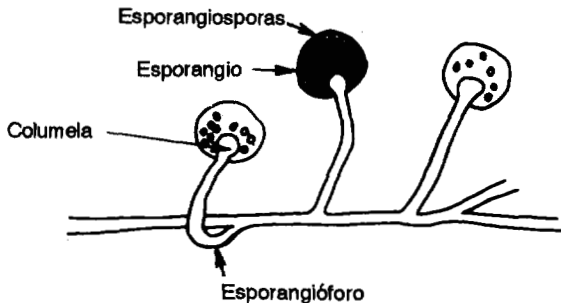


Figura 2.4. *Mucor*.

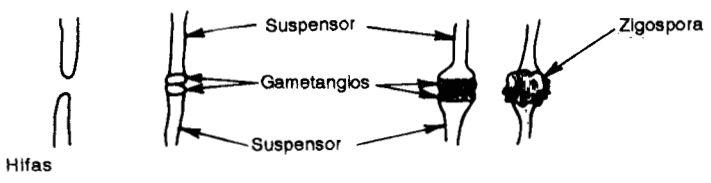


Figura 2.5. Formación de zigosporas en *Mucor*.

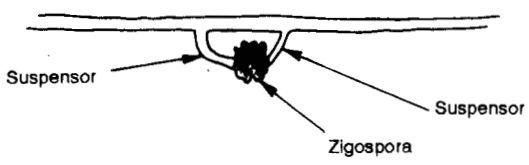


Figura 2.6. Formación de zigosporas en *Zygorrhynchus*.

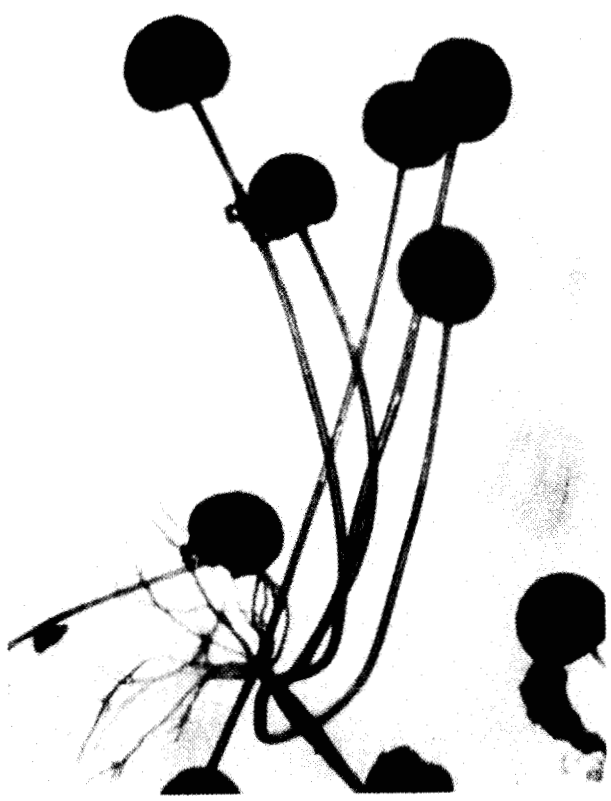


Figura 2.7. Microfotografía de *Rhizopus nigricans*. Obsérvense los rizoides y los esporangióforos que se forman a partir de un nódulo, y los esporangios situados en la terminación de los esporangióforos (X200) (Gentileza de Harper & Row, Publishers, Incorporated. Tomada de W. B. Sarles y otros, *Microbiology: General and Applied*, 2.ª (ed.) Copyright 1956, New York.).

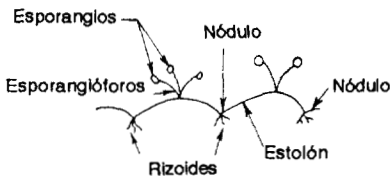


Figura 2.8. Dibujo esquemático de *Absidia* que muestra la localización de los esporangióforos y de los rizoides.

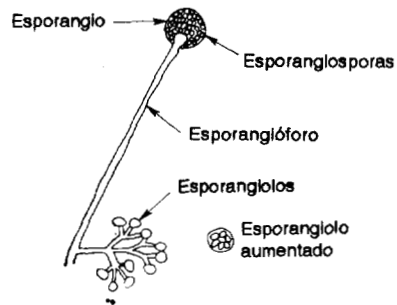


Figura 2.9. *Thamnidium*.

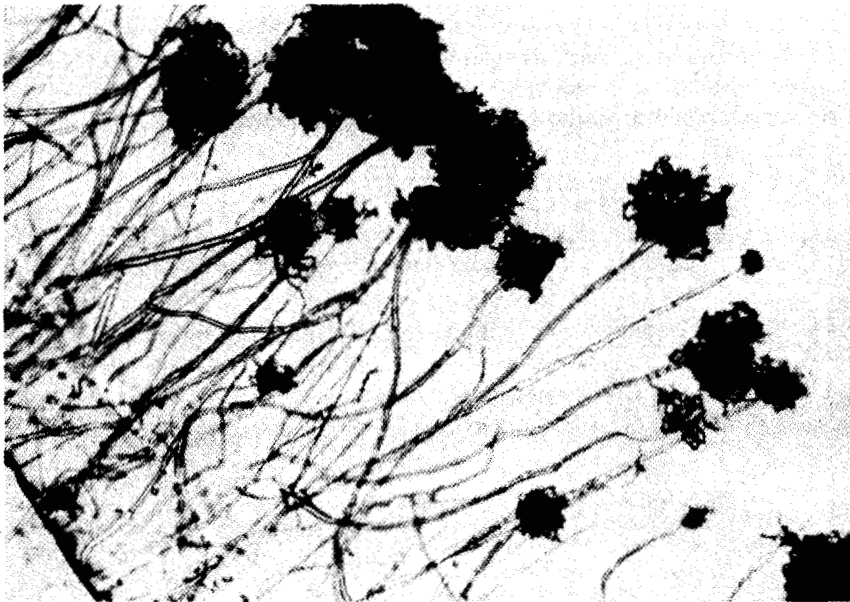


Figura 2.10. Microfotografía de *Aspergillus niger* en la que se pueden observar las cabezas fructíferas que sustentan cadenas de conidios (X200) (Gentileza de Harper & Row, Publishers, Incorporated. Tomada de W. B. Sarles y otros, *Microbiology: General and Applied*, 2.^a (ed.) Copyright © 1956, New York).

mientras que otros son de utilidad para preparar determinados alimentos. Raper y Fennell (1965) distinguen dieciocho grupos de aspergilos y admiten 132 especies, si bien aquí sólo se mencionan algunas. El grupo de *A. glaucus*, con *A. repens* como especie importante, interviene con frecuencia en la alteración de alimentos. Los mohos de esta especie crecen bien en concentraciones elevadas de azúcar y de sal y, por tanto, en muchos alimentos con escaso contenido de humedad. Los

conidios de las especies de mohos de este grupo tienen un cierto tinte verde, y sus ascosporas se encuentran dentro de ascas cuyos peritecios tienen un color que varía desde el amarillo al rojizo. Algunos autores incluyen a estos mohos en el género *Eurotium* de los *Ascomycetes*, denominación reservada para designar a los representantes que tienen una fase perfecta (sexual).

El grupo de *A. niger*, con *A. niger* como especie principal, es ubicuitario y puede tener importancia en los alimentos. Las cabezas esporales son grandes, muy próximas unas a otras, y de forma esférica, pudiendo tener color negro, negro parduzco o pardo morado. Los conidios son rugosos con bandas de pigmento. Algunas cepas poseen esclerocios de un color variable desde el color ante al gris y al negruzco. Determinadas cepas se utilizan en la fabricación industrial de los ácidos cítrico y glucónico y también en la producción de diversos preparados de enzimas.

El grupo de *A. flavus-oryzae* incluye mohos que tienen importancia en la fabricación de algunos alimentos orientales y en la producción de enzimas, si bien los mohos de este grupo suelen intervenir en la alteración de alimentos. Los conidios confieren a las cabezas esporales distintas tonalidades que varían del verde al amarillo, pudiendo formarse esclerocios de color oscuro.

Penicillium. (Figuras 2.11 y 2.12). Es otro género de mohos de frecuente incidencia y de importancia en los alimentos. El género se divide en grupos y subgrupos, que incluyen un gran número de especies.

El género se divide en grandes grupos de acuerdo con el tipo de ramificación de las cabezas que sostienen las esporas, o penicilios (pequeños pinceles). Estas cabezas esporales, o cabezas verticiladas, constituyen un verticilo o columna que consta de tres o más elementos: esterigmas, metulas (subramas), y ramas (Figura 2.12). *P. expansum*, moho cuyas esporas tienen un color verde-azulado, produce la podredumbre blanda de las frutas. Otras especies importantes son: *P. digita-*

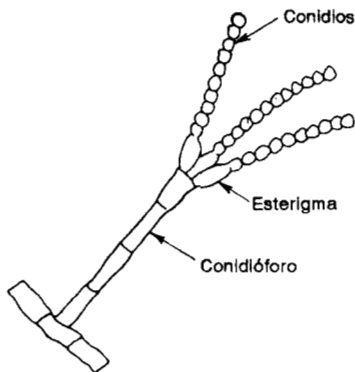


Figura 2.11. Dibujo esquemático de un *Penicillium* sencillo.

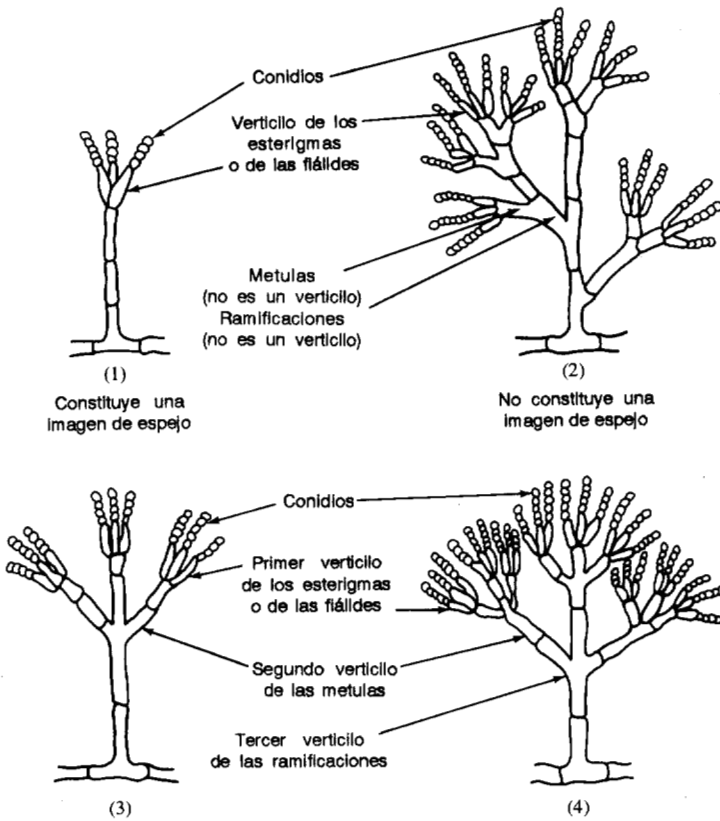


Figura 2.12. Dibujos esquemáticos correspondientes a diferentes tipos de mohos del género *Penicillium*: (1) simétricos monoverticilados, (2) asimétricos monoverticilados, (3) simétricos diverticilados, y (4) simétricos poliverticilados.

tum, con conidios de color verde oliva o verde amarillento, que produce la podredumbre blanda de las frutas cítricas; *P. italicum*, al que se le conoce con la denominación de «hongo azul de contacto», provisto de conidios verde azulados, que también produce la podredumbre de las frutas cítricas; *P. camemberti*, con conidios grisáceos, que se utiliza en la maduración del queso de Camembert; y *P. roqueforti* (Figura 2.13), provisto de conidios de color verde con tinte azulado, que coadyuva en la maduración de los quesos azules, como por ejemplo en la del queso de Roquefort. Unas pocas especies producen ascas cuyas esporas se hallan en el interior de cleistotecios, mientras que otras pocas producen esclerocios y por esta razón han originado alteraciones en alimentos ácidos enlatados.

Trichothecium. La especie habitual, *T. roseum* (Figura 2.14) es un moho de color rosa que crece en la madera, en el papel, en frutas como las manzanas y los

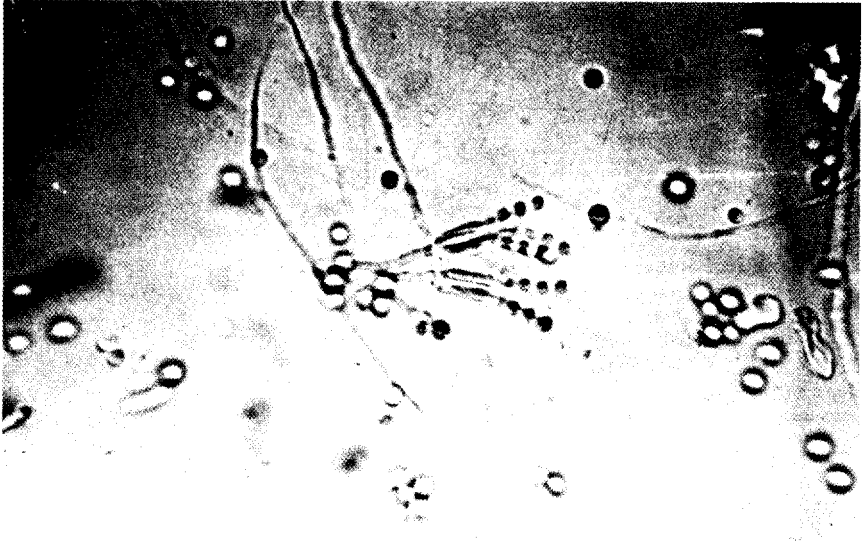


Figura 2.13. Microfotografía en la que se observan las cabezas fructíferas de *Penicillium roqueforti* (X200). (Gentileza de K. B. Raper).

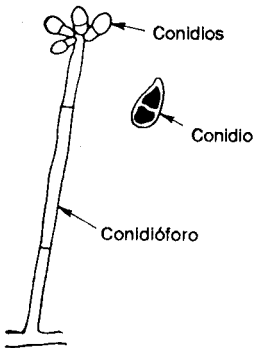


Figura 2.14. *Trichothecium*.

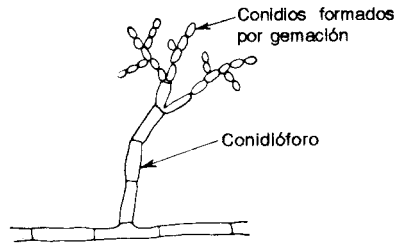


Figura 2.15. *Neurospora* (*Monilia*).

melocotones, en hortalizas como los pepinos y los cantalupos*. Este moho se identifica fácilmente por los grupos de conidios bicelulares situados en el extremo de conidióforos cortos y erectos. Los conidios poseen una prolongación apezonada en el punto de inserción, encontrándose en este extremo la menor de las dos células del conidio.

*N. del T.: Se trata de una variedad de melones.

***Geotrichum* (*Oospora* u *Oidium*).** Algunos autores incluyen este género en los hongos levaduriformes, mientras que otros lo incluyen en los mohos. Las especies de este género, cuyo crecimiento primeramente tiene aspecto de una masa compacta parecida a fieltro que después se vuelve blanda y cremosa, pueden tener un color blanco, grisáceo, naranja o rojo. La especie *Geotrichum candidum* (*Oospora lactis*) a la que se le suele conocer con la denominación de «hongo de las lecherías», da un crecimiento de aspecto cremoso de color variable entre el blanco y el rojo. Las hifas de los mohos de este género son septadas y, en las especies habituales, poseen ramificaciones dicotómicas. Las esporas asexuales son artrosporas (oidios), las cuales pueden tener forma rectangular cuando son producidas en hifas sumergidas, y forma ovalada si las producen las hifas aéreas.

***Neurospora* (*Monilia*).** (Figura 2.15). Este género ha sido descrito bajo distintas denominaciones debido a la confusión existente acerca de su clasificación, aunque la mayoría de los microbiólogos opinan que se le debe incluir en los hongos perfectos (que producen esporas sexuales) y debe ser denominado género *Neurospora*. A la especie *Neurospora* (*Monilia*) *sitophila*, la más importante de las que crecen en los alimentos, se le suele conocer con la denominación de «moho rojo del pan» porque su crecimiento rosado de textura laxa se suele encontrar en la superficie del pan. También crece en la superficie del bagazo de caña de azúcar y en la de distintos alimentos. Rara vez se observa su fase perfecta, o fase en la que se producen ascosporas.

***Sporotrichum*.** Entre las especies saprófitas de este género se encuentra *S. carnis* (Figura 2.16), cuyo crecimiento ha sido hallado en la superficie de carnes refrigeradas, en las que produce un «moteado blanco».

***Botrytis*.** La única especie que tiene importancia en los alimentos es *B. cinerea* (Figura 2.17). Produce una enfermedad de las uvas, aunque puede crecer como saprófita en la superficie de algunos alimentos.

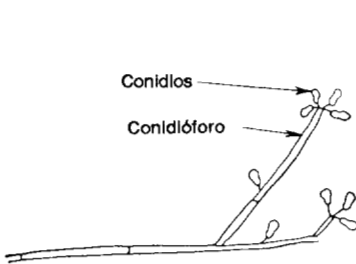


Figura 2.16. *Sporotrichum*.

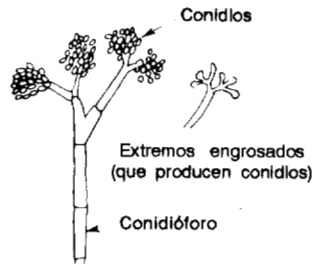


Figura 2.17. *Botrytis cinerea*.

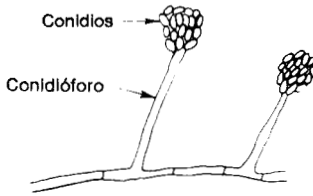


Figura 2.18. *Cephalosporium*.

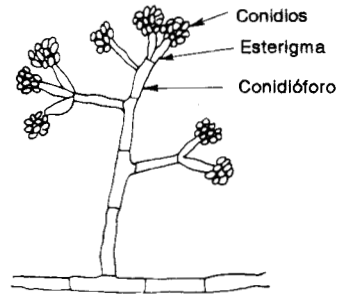


Figura 2.19. *Trichoderma*.

***Cephalosporium*.** (Figura 2.18). *C. acremonium* es una especie corriente de este género.

***Trichoderma*.** *T. viride* (Figura 2.19) es una especie corriente. El micelio del moho adulto tiene un color verde intenso debido a que las esferas de los conidios verdes están pegadas entre sí, y a que los manojos de hifas blancas (estériles) están muy separadas de los conidióforos.

***Scopulariopsis*.** *S. brevicaulis* (Figura 2.20) es una especie corriente. Los mohos pertenecientes a este género se pueden confundir con los del género *Penicillium*, ya que las especies de ambos poseen penicilios con aspecto de pinceles y cadenas de esporas separadas de los esterigmas, si bien los conidios de *Scopulariopsis* nunca son verdes. En el género *Scopulariopsis* los conidióforos pueden ser ramificados o carecer de ramificaciones y, a la vez, pueden ser simples o complejos, siendo generalmente irregular su ramificación. Las cabezas que sostienen las esporas pueden variar desde complejos sistemas que se ramifican con penicilios, hasta esterigmas simples que nacen de ramas cortas de la hifas aéreas.

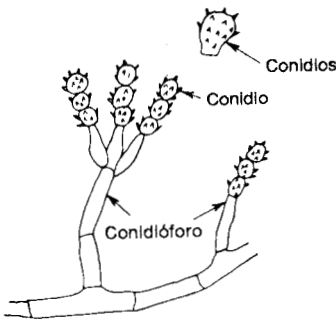


Figura 2.20. *Scopulariopsis*.

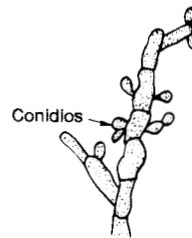


Figura 2.21. *Pullularia*.

Vistas al microscopio, las esporas son características y no son verdes, sino que suelen ser de color pardo-amarillento; tienen forma de limón, de pared gruesa, espinosas, con uno de los polos aguzado, y provistas de un grueso anillo en el otro polo. Las colonias son parduzcas y tienen un aspecto algodonoso.

Pullularia. (Figura 2.21). Conidios hialinos ovoides (blastosporas o yemas de células preexistentes) que nacen por gemación lateral en todas las partes del micelio. Las colonias son pálidas y viscosas, pareciéndose a las de las levaduras cuando se trata de colonias jóvenes y, conforme transcurre el tiempo, se vuelven miceliarias y oscuras y adquieren un aspecto espumoso. *Pullularia pullulans* es una especie corriente.

Cladosporium. La especie principal es *C. herbarum* (Figura 2.22). Estos mohos de color oscuro producen el «moteado negro» de algunos alimentos, de las paredes de sótanos, etc. Las colonias de *C. herbarum* tienen un crecimiento limitado y son tupidas, aterciopeladas y de color verde oliva a verde grisáceo; el reverso del micelio tiene un llamativo color opalescente que varía desde negro-azulado a negro-verdoso.

Helminthosporium. (Figura 2.23). La mayoría de las especies de este género son patógenas para las plantas, aunque pueden crecer como saprófitas en la superficie de los productos vegetales.

Alternaria. Los mohos de este género son con frecuencia causa de alteración de los alimentos. *A. citri* (podredumbre de los frutos cítricos), *A. tenuis*, y *A. brassicae* son especies corrientes. La masa miceliar suele tener un aspecto seco y un color verde-grisáceo, aunque las hifas, vistas al microscopio, muchas veces parecen casi incoloras. Los conidios (Figura 2.24), de color pardo y multicelulares, se disponen en cadena en el conidióforo.

Stemphylium. (Figura 2.25). Este género también es corriente. Sus conidios son de color oscuro y multicelulares, aunque tienen menor número de tabiques transversales que los de *Alternaria*, y sus dos polos son redondeados.

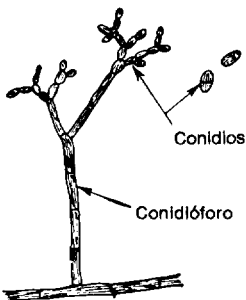


Figura 2.22. *Cladosporium*.

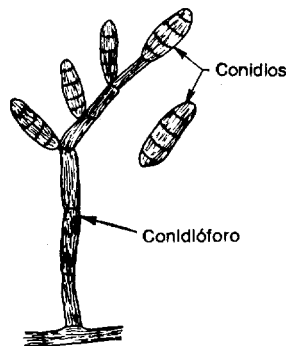
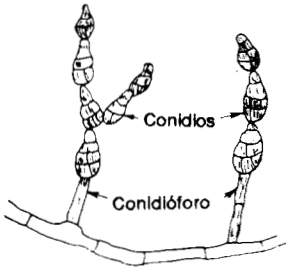
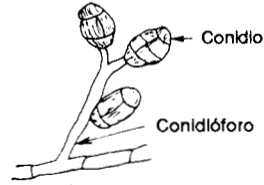
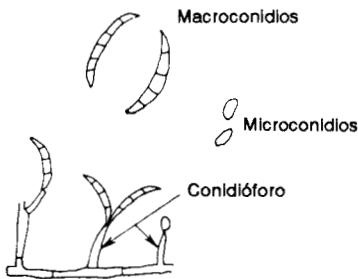


Figura 2.23. *Helminthosporium*.

Figura 2.24. *Alternaria*.Figura 2.25. *Stemphylium*.

***Fusarium*.** Los mohos pertenecientes a este género crecen con frecuencia en la superficie de los alimentos. La identificación de sus especies resulta muy difícil, y el aspecto de su crecimiento es variable (Figura 2.26).

Figura 2.26. *Fusarium*.

***Endomyces*.** Hongos levaduriformes, que producen micelio y artrosporas. Algunas especies pudren las frutas.

***Monascus*.** Las colonias de *M. purpureus* son delgadas e invasoras, y de color rojizo o morado. Se encuentran creciendo en la superficie de los productos lácteos y del arroz chino rojo (ang-khak).

***Sclerotinia*.** Algunas especies producen la podredumbre de las hortalizas y frutas, en las que se encuentran en la fase de conidios. Los conidios, que tienen forma de limón, están dispuestos formando cadenas, con un «taco» que los separa unos de otros.

En el precedente estudio de los hongos que tienen importancia en los alimentos, han sido omitidos aquellos géneros que sólo crecen en determinados

alimentos de forma accidental. Se mencionarán cuando se estudien los alimentos en los que crecen. Por lo que se refiere a la descripción de estos géneros, debemos remitir al lector a las obras de texto y a la bibliografía que se cita al final de este Capítulo.

LEVADURAS Y HONGOS LEVADURIFORMES

Lo mismo que ocurre con el término moho, el término «levadura» se emplea de forma habitual, si bien su definición resulta difícil. En el sentido que aquí se emplea, se refiere a aquellos hongos que generalmente no son filamentosos, sino unicelulares y de forma ovoide o esferoide, y que se reproducen por gemación o por fisión.

Las levaduras que se encuentran en los alimentos pueden ser beneficiosas o perjudiciales. Las fermentaciones producidas por levaduras intervienen en la elaboración de alimentos como el pan, la cerveza, los distintos tipos de vino, el vinagre y los quesos de maduración externa, cultivándose también para obtener enzimas y alimentos. Las levaduras son perjudiciales cuando producen la alteración del sauerkraut, de los zumos de frutas, de los jarabes, de la melaza, de la miel, de las carnes, del vino, de la cerveza y de otros alimentos.

CARACTERES GENERALES DE LAS LEVADURAS

Las levaduras se clasifican principalmente en base a sus caracteres morfológicos, aunque, para el microbiólogo de alimentos, sus propiedades fisiológicas tienen mayor importancia.

Caracteres morfológicos

Los caracteres morfológicos de las levaduras se determinan mediante su observación microscópica.

Forma y estructura. La forma de las levaduras puede ser desde esférica a ovoide, almonada, piriforme, cilíndrica (Figura 2.27), triangular, e incluso alargada, constituyendo un verdadero micelio o un falso micelio. También se diferencian en cuanto a su tamaño. Son partes observables de su estructura, la pared celular, el citoplasma, las vacuolas de agua, los glóbulos de grasa, y los gránulos, los cuales pueden ser metacromáticos, de albúmina o de almidón. Para poder observar el núcleo es preciso utilizar tinciones especiales.

Reproducción

La mayoría de las levaduras se reproducen asexualmente por gemación multicelular o por gemación polar (Figura 2.27), mecanismo de reproducción mediante el cual una porción de protoplasma sobresale de la pared de la célula de la levadura y forma una protuberancia; esta protuberancia, o yema, aumenta de tamaño y finalmente se desprende como célula de levadura neoformada. En algunas levaduras, y de forma especial en las que forman película, parece ser que la yema crece a partir de una prolongación tubuliforme de la célula madre. El material nuclear replicado se reparte entre la célula madre y la célula hija. Unas pocas especies de levaduras se reproducen por fisión, y una sola se reproduce mediante una combinación de los mecanismos de fisión y de gemación.

La reproducción sexual de las levaduras «verdaderas» (*Ascomycotina*) da lugar a la producción de ascosporas, desempeñando la función de asca la propia célula de levadura. En la mayoría de las especies de levaduras verdaderas, la formación de ascosporas tiene lugar tras la conjugación de dos células, aunque algunas pueden producir ascosporas sin que exista conjugación previa, teniendo lugar después la conjugación de las ascosporas o células hijas de pequeño tamaño. Tanto el número habitual de esporas por asca, como el aspecto de las

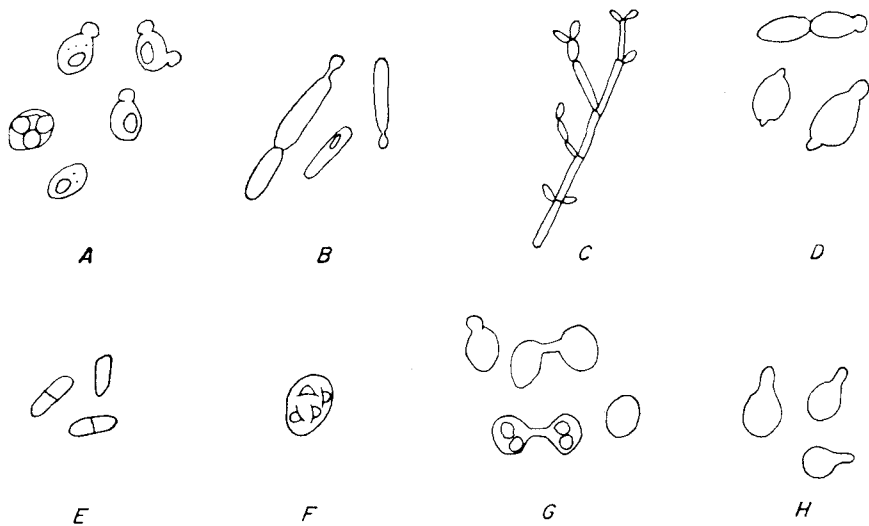


Figura 2.27. Levaduras de distinta morfología: (A) *Saccharomyces cerevisiae* con células en gemación y un asca con cuatro ascosporas, (B) levadura del género *Candida* de células alargadas, (C) *Candida* que presentaseudomicelio, (D) levadura apiculada (en forma de limón), (E) *Schizosaccharomyces* multiplicándose por escisión, (F) *Hansenula*, con ascosporas de forma parecida a un sombrero de hongo, (G) células de *Zygosaccharomyces* en conjugación y un asca con cuatro ascosporas, (H) levaduras en forma de matraz.

ascosporas, son típicos de cada especie de levadura. Las ascosporas se pueden diferenciar por su color, por la rugosidad o lisura de su pared, y por su forma (redondeada, ovalada, arriñonada, forma de habichuela o falciforme, forma de Saturno o de sombrero, hemisférica, angular, fusiforme, y aciculada).

Las levaduras «falsas», las cuales no producen ascosporas ni otro tipo de esporas, pertenecen a los *Fungi Imperfecti*. La células de algunas levaduras se transforman en clamidosporas mediante la formación de una gruesa pared alrededor de la célula, tal como ocurre, por ejemplo, en las especies de los géneros *Candida*, *Rhodotorula* y *Cryptococcus*.

Caracteres de los cultivos

En la mayoría de los casos, el crecimiento en masa de las levaduras no resulta apropiado para identificar estos microorganismos, si bien el crecimiento en forma de velo en la superficie de los medios líquidos indica que se trata de una levadura oxidativa o formadora de velo, y la producción de un pigmento carotenóide confirma que la levadura que ha crecido pertenece al género *Rhodotorula*. No obstante, el aspecto del crecimiento de los microorganismos tiene importancia cuando éstos producen un moteado pigmentado en la superficie de los alimentos. En los cultivos en placas de agar, es difícil diferenciar las colonias de levaduras de las colonias bacterianas; la observación microscópica de los microorganismos es la única forma segura que existe para poderlas diferenciar. La mayoría de las colonias jóvenes de levaduras son húmedas y algo mucosas, aunque es posible que tengan aspecto harinoso; la mayoría de las colonias son blancuzcas, aunque algunas tienen un color crema o rosado. Algunas colonias cambian poco de aspecto cuando envejecen, aunque otras se secan y se arrugan.

Las levaduras son oxidativas, fermentativas, o bien su actividad metabólica es a la vez de ambos tipos. En la superficie de un líquido, las levaduras oxidativas pueden crecer en forma de película, de velo, o de espuma, y por ello se denominan *levaduras formadoras de película*. Las levaduras fermentativas suelen crecer en toda la masa del líquido y producen dióxido de carbono.

Propiedades fisiológicas

A pesar de que las distintas especies de levaduras pueden ser muy diferentes en cuanto a su fisiologismo, las que tienen importancia en la industria comparten un número suficiente de actividades fisiológicas como para poder estudiarlas desde un punto de vista general, con tal de que se tenga en cuenta que se encontrarán excepciones a cualquier afirmación que sobre las mismas se haga. La mayoría de las levaduras corrientes crecen mejor con un copioso aporte de humedad disponible. No obstante, como quiera que muchas levaduras crecen mejor que la mayoría de las bacterias en sustratos que contienen elevadas concentracio-

nes de solutos (de azúcar y de sal, por ejemplo), de ello se puede deducir que esta clase de levaduras necesitan menos humedad que la mayoría de la bacterias. La mayoría de las levaduras, sin embargo, necesitan más humedad que los mohos. Si se tiene en cuenta la actividad agua o a_w , (véase el Capítulo 1), las levaduras se pueden clasificar en ordinarias si no crecen en concentraciones elevadas de solutos, es decir en medios con valores bajos de a_w , y osmófilas si son capaces de crecer en los citados medios. Para las levaduras normales estudiadas hasta ahora, la a_w mínima de crecimiento oscila entre 0,88 y 0,94. Constituyen ejemplos concretos de a_w mínima de crecimiento los valores siguientes: 0,94 para una levadura de cerveza, 0,90 para una levadura procedente de leche condensada, y 0,905 para una levadura de las utilizadas por los panaderos. Por el contrario, se han encontrado levaduras que crecen lentamente en medios con una a_w tan baja como la de los jarabes, en los cuales, los valores de a_w se hallan comprendidos entre 0,62 y 0,65, aunque, tanto en la salmuera como en los jarabes azucarados, algunas levaduras osmófilas dejan de crecer a una valor de a_w próximo a 0,78. Para una determinada combinación de factores del medio en que se encuentra, cada levadura tiene su propia a_w óptima de crecimiento que la caracteriza y su propio intervalo de valores de a_w dentro del cual es capaz de crecer. Estos valores de la a_w variarán según sean las propiedades nutritivas del sustrato, el pH, la temperatura, la cantidad de oxígeno disponible, y la existencia o ausencia de sustancias inhibitoras.

El intervalo de temperaturas de crecimiento de la mayoría de las levaduras es, en general, parecido al de los mohos, con una temperatura óptima en torno a los 25 a 30°C y una temperatura máxima en torno a los 35 a 47°C. Algunas especies son capaces de crecer a temperaturas de 0°C o inferiores. Una reacción ácida del medio próxima a un pH de 4 a 4,5 estimula el crecimiento de la mayoría de las levaduras, mientras que en medios básicos no crecen bien a no ser que se hayan adaptado a los mismos. Las levaduras crecen mejor en aerobiosis, aunque las especies de tipo fermentativo son capaces de crecer, aunque lentamente, en anaerobiosis.

En general, los azúcares son la fuente energética más apropiada para las levaduras, aunque las oxidativas, por ejemplo las formadoras de película, oxidan los ácidos orgánicos y el alcohol. El dióxido de carbono que producen las levaduras que se utilizan en la panificación, completa la fermentación del pan, mientras que el alcohol producido por las levaduras fermentativas es el principal producto en la fabricación de vinos, cerveza, alcohol industrial, y otros productos. Las levaduras también contribuyen en la producción de los sabores o «bouquet» de los vinos. Los nutrientes utilizados por las levaduras varían desde compuestos sencillos, como son el amoníaco y la urea, a aminoácidos y polipéptidos. Además, las levaduras necesitan factores accesorios de crecimiento.

Las levaduras pueden modificar sus propiedades fisiológicas, de modo especial las verdaderas o productoras de ascosporas, dotadas de una forma de reproducción sexual. Es posible seleccionar estas levaduras en base a determinadas propiedades fisiológicas, y es posible que muten a formas nuevas. A la mayoría de

las levaduras se les puede adaptar a crecer en condiciones bajo las cuales no hubiesen crecido bien antes de haber conseguido la adaptación. A este respecto, constituye un claro ejemplo de las distintas propiedades fisiológicas que se dan dentro de una misma especie el gran número de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* adaptadas a usos diferentes, como son las cepas utilizadas en la elaboración del pan, las utilizadas en la elaboración de la cerveza, las utilizadas en la elaboración del vino, y las cepas o variedades que producen alcohol en elevadas concentraciones.

CLASIFICACION E IDENTIFICACION DE LAS LEVADURAS

Las levaduras verdaderas se incluyen en la subdivisión *Ascomycotina*, incluyéndose las falsas en la subdivisión *Fungi Imperfecti* o *Deuteromycotina*. En la obra de Barnett y otros (1983) se pueden encontrar más datos acerca de la clasificación e identificación de las levaduras.

Ciertas levaduras figuran en realidad en dos géneros diferentes teniendo en cuenta que se reproducen sexualmente. En la Tabla 2.1 se citan varios ejemplos de estas levaduras, con sus denominaciones equivalentes.

Tabla 2.1. Denominaciones equivalentes de algunas levaduras.

<i>Fase diploide perfecta (sexual)</i>	<i>Fase haploide imperfecta (asexual)</i>
<i>Kluyveromyces marxianus</i> (sin. <i>K. fragilis</i> y <i>Saccharomyces fragilis</i>)	<i>Candida kefyri</i> (sin. <i>C. pseudotropicalis</i>)
<i>Kluyveromyces marxianus var. lactis</i> (sin. <i>Saccharomyces lactis</i>)	<i>Candida sphaerica</i> (sin. <i>Torulopsis candida</i>)
<i>Debaryomyces hansenii</i>	<i>Candida famata</i> (sin. <i>Torulopsis candida</i>)
<i>Pichia burtonii</i>	<i>Candida variabilis</i> (sin. <i>Candida fibrae</i>)

Fuente: Basada en Lodder, 1984.

Los principales criterios utilizados para la clasificación e identificación de las levaduras son los siguientes:

- 1 Si producen, o no, ascosporas
- 2 Si son esporógenas:

- a La forma de producción de las ascosporas:
 - (1) Producidas sin conjugación de las células de la levadura (mediante partenogénesis). Una vez producidas las esporas puede tener lugar: (a) la conjugación de las ascoporas, o (b) la conjugación de las células hijas de escaso tamaño.
 - (2) Producidas por conjugación isogámica (las células que se conjugan parecen semejantes).
 - (3) Producidas por conjugación heterogámica (las células que se conjugan tienen distinto aspecto).
- b Aspecto de las ascosporas: forma, tamaño y color. La mayoría de las esporas son esferoidales u ovoides, si bien algunas tienen formas peculiares, como las de la mayoría de las especies de *Hansenula* que se parecen a sombreros de hongo (Figura 2.27F).
- c Número habitual de ascosporas por asca: una, dos, cuatro, u ocho.
- 3 Aspecto de las células vegetativas: forma, tamaño, color, inclusiones.
- 4 Forma de reproducción asexual:
 - a Gemación.
 - b Fisión.
 - c Gemación y fisión combinadas.
 - d Artrosporas (oidios).
- 5 Producción de micelio, de un pseudomicelio, o no producción de micelio.
- 6 Crecimiento en forma de película en la superficie de los líquidos (levaduras formadoras de película), o crecimiento en toda la masa de los medios líquidos.
- 7 Color del crecimiento macroscópico.
- 8 Propiedades fisiológicas (utilizadas principalmente para identificar las especies, o las cepas de una determinada especie):
 - a Fuentes de nitrógeno y de carbono.
 - b Necesidades de vitaminas.
 - c Oxidativas o fermentativas: las levaduras formadoras de película son oxidativas; las demás levaduras pueden ser fermentativas, o fermentativas y oxidativas al mismo tiempo.
 - d Lipólisis, actividad ureásica, producción de ácido, y producción de compuestos amiláceos.

LEVADURAS DE IMPORTANCIA INDUSTRIAL

La mayoría de las levaduras que se utilizan en la industria pertenecen al género *Saccharomyces*. El término «levadura silvestre» se aplica a cualquier levadura que no sea la que se está utilizando o aquella cuyo crecimiento se está estimulando. Por consiguiente, una levadura que se emplea para llevar a cabo un determinado tratamiento podría ser una levadura silvestre para otro tipo de

tratamiento. La mayoría de las levaduras silvestres indeseables son asporógenas o falsas levaduras.

Género *Schizosaccharomyces*. Las levaduras pertenecientes a este género, que tienen una forma de reproducción asexual por fisión y producen cuatro u ocho esporas por asca mediante conjugación isogámica, se han encontrado en frutas tropicales, en la melaza, en el suelo, en la miel, y en otras partes. Una especie corriente es *S. pombe*.

Género *Saccharomyces*. Las células de estas levaduras pueden ser redondeadas, ovaladas o alargadas y pueden producir un pseudomicelio. Se reproducen por gemación multipolar o mediante la producción de ascosporas, las cuales se pueden formar tras la conjugación de dos células, o pueden derivar de células diploides cuando éstas representan la fase vegetativa. Las ascosporas, en número de una a cuatro por asca, suelen ser redondeadas u ovaladas. La especie tipo, *S. cerevisiae*, se emplea en muchas industrias alimentarias, utilizándose cepas específicas en la fermentación del pan, como levaduras de superficie en la fermentación de la cerveza inglesa, en la fermentación de los vinos, y en la producción de alcohol, glicerol e invertasa. Las levaduras de superficie son fermentadoras muy activas y crecen muy rápidamente a 20°C. La formación de agregados celulares y la rápida producción de CO₂ ocasionan el desplazamiento de las células de levadura a la superficie de la masa líquida, y de aquí que a las levaduras responsables de la fermentación se les conozca con la denominación de levaduras de superficie. Las levaduras del fondo del tanque de fermentación no forman agregados de células, crecen más lentamente, y tienen mayor actividad fermentativa a temperaturas más bajas (10 a 15°C). El hecho de que no se formen agregados de células junto con la mayor lentitud, tanto de su crecimiento como de la producción de CO₂, permiten que las levaduras sedimenten en el fondo, y de aquí el término levaduras de fondo. Las citadas propiedades de las levaduras corresponden a observaciones que no explican por qué algunas forman agregados, mientras que otras floculan. En la obra de Rose y Harrison (1970) se puede encontrar un estudio detallado de las teorías relativas a la floculación de las levaduras de la cerveza.

La variedad *ellipsoideus* de *S. cerevisiae* es una levadura que produce elevadas concentraciones de alcohol que se utiliza en la fabricación industrial de alcohol, en la elaboración de vinos y de licores de destilación. *S. uvarum*, una levadura de fondo, se utiliza en la fabricación de la cerveza. *S. fragilis* y *S. lactis*, por su capacidad para fermentar la lactosa, pueden tener importancia en el tratamiento de la leche y en la elaboración de productos lácteos. *S. rouxii* y *S. mellis* son especies osmófilas.

Según Lodder (1984), algunas especies del género *Saccharomyces* han sido reclasificadas. Así por ejemplo, *S. uvarum* es considerada actualmente una variedad de *S. cerevisiae*, *S. fragilis* es actualmente *Kluyveromyces marxianus*, y *S. lactis* es en la actualidad *K. marxianus* var. *lactis*. *S. rouxii*, *S. mellis* y *S. nussbaumeri* constituyen hoy día la especie *Zygosaccharomyces rouxii*. *Debaromyces kloeckeri* es hoy día *D. hansenii*.

Género *Kluyveromyces*. Las levaduras de este género se reproducen por gemación multilateral, liberándose las esporas al llegar a su madurez. Véase *S. fragilis* y *S. lactis* en el epígrafe anterior.

Género *Zygosaccharomyces*. Algunos autores (Ludder, 1984) lo consideran un subgénero de *Saccharomyces*. Las levaduras de este género son importantes por su capacidad para crecer en medios con elevadas concentraciones de azúcar (de aquí que se les conozca con el calificativo de **osmófilas**), interviniendo en la alteración de la miel, jarabes y melaza, y también en la fermentación de la salsa de soja y de algunos vinos. *Z. nussbaumeri* es una especie que crece en la miel.

Género *Pichia*. Estas levaduras, de forma ovalada a cilíndrica, pueden producir pseudomicelio. Las ascosporas son redondeadas o tienen forma de sombrero, existiendo de una a cuatro en cada ascospora. Crecen en la superficie de los líquidos en forma de película; *P. membranaefaciens*, por ejemplo, produce un crecimiento en película en la superficie de las cervezas y de los vinos.

Género *Hansenula*. Las levaduras de este género recuerdan a las del género *Pichia* por su aspecto, aunque suelen ser más fermentativas a pesar de que algunas crezcan produciendo una película. Las ascosporas tienen forma de sombrero o de Saturno.

Género *Debaryomyces*. Estas levaduras, de forma redondeada u ovalada, forman película en la superficie de las salmueras. Sus ascosporas tienen una superficie verrugosa. *S. kloeckeri* crece en la superficie de los quesos y de los embutidos.

Género *Hanseniaspora*. Estas levaduras, que tienen forma de limón (apiculadas), crecen en los zumos de frutas. Las levaduras del género *Nadsonia* son de gran tamaño y tienen forma de limón.

Falsas levaduras (*Fungi Imperfecti*)

Género *Torulopsis*. Estas levaduras fermentativas, de forma redondeada a ovalada, que se reproducen por gemación multilateral, originan problemas en las fábricas de cerveza y alteran alimentos diversos. *T. sphaerica* fermenta la lactosa, razón por la cual es capaz de alterar los productos lácteos. Otras especies son capaces de alterar la leche condensada azucarada, los concentrados de zumos de frutas y los alimentos ácidos.

Género *Candida*. Estas levaduras producen pseudohifas e hifas verdaderas, con abundantes células gemantes o blastosporas, pudiendo también producir clamidosporas. Algunas crecen en película y son capaces de alterar los alimentos con acidez y concentración de sal elevadas. La especie *C. utilis* se cultiva para incorporarla tanto a alimentos destinados al consumo humano como a piensos. La

especie *C. krusei* se ha cultivado incorporada a los cultivos estarter que se utilizan en la industria de productos lácteos para mantener la actividad y aumentar la longevidad de las bacterias lácticas. *C. lipolytica* es una especie lipolítica capaz de alterar la mantequilla y la oleomargarina.

Género *Brettanomyces*. Estas levaduras, que tienen forma de ojiva o de arco, producen grandes cantidades de ácido e intervienen en la fermentación de la cerveza belga de tipo «lambic» y de las cervezas inglesas. También se encuentran en los vinos franceses. *B. bruxellansis* y *B. lambicus* son dos especies típicas de este género.

Género *Kloeckera*. Las levaduras de este género son levaduras imperfectas, apiculadas o con forma de limón. *K. apiculata* es una especie corriente en la superficie de las frutas y de las flores, y en el suelo.

Género *Trichosporon*. Son levaduras que geman y producen artrosporas. Crecen mejor a temperaturas bajas, encontrándose en las fábricas de cerveza y en la superficie de la carne de vacuno refrigerada. *T. pullulans* es una especie corriente.

Género *Rhodotorula*. Estas levaduras, de color rojo, rosa, o amarillo, pueden producir manchas en la superficie de los alimentos, como, por ejemplo, manchas de distintos colores en la superficie de las carnes, o zonas de color rosado en el sauerkraut.

Grupos de levaduras

Las levaduras formadoras de película pertenecientes a los géneros *Pichia*, *Hansenula*, *Debaryomyces*, *Candida*, y *Trichosporon*, crecen en la superficie de alimentos ácidos, como son el sauerkraut y los encurtidos, oxidan los ácidos orgánicos, y permiten que otros microorganismos menos tolerantes de la acidez los sigan alterando. Las levaduras de los géneros *Pichia* y *Hansenula* toleran elevadas concentraciones de alcohol y lo pueden oxidar en las bebidas alcohólicas. Se estimula el crecimiento de las especies del género *Pichia* en los vinos de Jerez y de Arbois, suponiéndose que les comunica sabores característicos y les incorpora ésteres. Las levaduras del género *Debaryomyces* toleran elevadas concentraciones de sal, siendo capaces de crecer en la superficie de las salmueras de los quesos con concentraciones de sal del orden del 24 por cien. Las levaduras que crecen en medios líquidos produciendo una película en la superficie, o producen una escasa cantidad de alcohol a partir de los azúcares, o no lo producen.

Las levaduras apiculadas, o levaduras en forma de limón, de los géneros *Saccharomyces*, *Hanseniaspora*, *Nadsonia* y *Kloeckera* se consideran perjudiciales en la fermentación del vino porque le comunican sabores desagradables, producen una escasa cantidad de alcohol, y una gran cantidad de ácidos volátiles. Las levaduras osmófilas (*Saccharomyces rouxii* y *S. mellis*) crecen bien en medios

de elevada presión osmótica, es decir, en medios con elevadas concentraciones de azúcares, de sales, o de otros solutos, produciendo la alteración de los frutos secos, de los zumos concentrados de frutas, de la miel, de la miel de meple, y de otras soluciones que contienen una elevada concentración de azúcar.

Las levaduras halotolerantes crecen en las salmueras utilizadas para conservar alimentos, en las salazones de carne y de pescado, en la salsa de soja, en la pasta de «miso» y en la salsa de «tamari». La mayoría de las levaduras halotolerantes formadoras de película son especies del género *Debaryomyces*, las cuales crecen en la superficie de las salmueras conservantes, y en la superficie de las carnes y pepinos conservados en salmuera, lo mismo que la especie *Saccharomyces rouxii*, capaz de crecer formando película en la superficie de las salmueras. Levaduras pertenecientes a otros géneros (*Torulopsis*, *Brettanomyces* y otros) también crecen en las salmueras. En la salsa de soja, con su elevada concentración de sal (aproximadamente el 18 por cien), crecen levaduras. Se considera que la especie *Saccharomyces rouxii* tiene una gran importancia, tanto en la producción de alcohol como en la producción de sabor en la salsa de soja, aunque en ella también pueden crecer especies de los géneros *Torulopsis*, *Pichia*, *Candida* y *Trichosporon*. En la alteración de la salsa de soja a veces intervienen levaduras formadoras de película pertenecientes a la especie *S. rouxii* y al género *Pichia*. En la elaboración del miso intervienen levaduras parecidas, aunque las especies serán distintas ya que su concentración de sal oscila entre el 7 y el 20 por cien.

BACTERIAS

Si bien la bacteriología determinativa (clasificación e identificación de las bacterias) queda fuera del alcance de esta obra y, por tanto, deberá ser estudiada en otros libros de texto, se tratarán aquí algunos caracteres morfológicos de los cultivos, y fisiológicos de las bacterias, por estar relacionados tanto con la conservación de los alimentos como con las alteraciones que éstos experimentan.

CARACTERES MORFOLOGICOS IMPORTANTES EN BACTERIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS

Uno de los primeros pasos de la identificación de las bacterias de un determinado alimento es su observación al microscopio con el fin de determinar la forma, tamaño, agrupación, estructura y reacciones de tinción de las existentes en el mismo. Pueden tener especial importancia los caracteres morfológicos que a continuación se describen.

Producción de cápsulas

La existencia de bacterias provistas de cápsula (Figura 2.28) o rodeadas de mucílago, puede explicar la mucosidad o viscosidad de un determinado alimento. Además, las cápsulas sirven para aumentar la resistencia de las bacterias a las condiciones desfavorables del medio, como, por ejemplo, su resistencia a las temperaturas elevadas y a los agentes químicos. Para el propio microorganismo pueden ser útiles como fuente de nutrientes de reserva. La mayoría de las cápsulas bacterianas están constituidas por polisacáridos de dextrina, de dextrano o de levano.

Producción de endosporas

Las bacterias de los géneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Desulfotomaculum*, *Sporolactobacillus* (bacilos) y *Sporosarcina* (cocos) comparten la capacidad de produ-

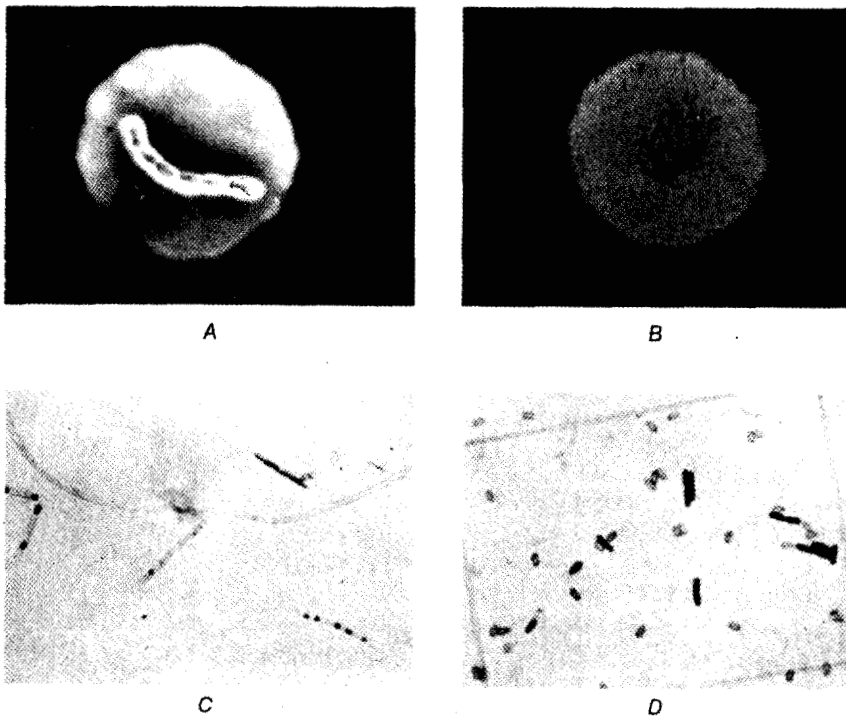


Figura 2.28. Estructuras bacterianas: (A) cápsulas, (B) flagelos, y (C) gránulos de *Lactobacillus bulgaricus*; (D) esporas de *Bacillus subtilis*. (Gentileza de P. R. Elliker).

cir endosporas (Figura 2.29). Para el microbiólogo de alimentos son de capital interés las especies esporógenas de los géneros *Bacillus* (aerobias y algunas anaerobias facultativas) y *Clostridium* (anaerobias). Las endosporas se forman en un determinado sitio del interior de la célula, son muy refringentes, y resistentes al calor, a la luz ultravioleta, y a la desecación. La lisis de la célula vegetativa deja en libertad a la endospora, la cual puede permanecer en estado de latencia durante años sin que se pueda descubrir en ella signo alguno de actividad metabólica. El ciclo completo de la célula vegetativa desde su esporulación hasta la fase de espora libre, la posible existencia de una fase de latencia de larga duración, así como la ulterior germinación de la espora y la aparición de un crecimiento desmesurado, a partir del cual se origina una nueva célula vegetativa, es extraordinariamente complejo.

La esporulación suele tener lugar al final de la fase de crecimiento logarítmico, posiblemente como consecuencia del agotamiento de los nutrientes del medio, o de la acumulación en el mismo de productos resultantes del metabolismo de las células bacterianas. Durante su transición desde célula vegetativa a espora, ésta se vuelve refringente, capta una gran cantidad de iones de Ca^{2+} y en ella tiene lugar la síntesis de ácido dipicolínico (DPA), compuesto del cual carecen las células vegetativas. La adquisición de termorresistencia por parte de la espora que se está formando, está íntimamente relacionada tanto con la síntesis de DPA, como con la captación de iones de Ca^{2+} . En general, la germinación de la espora es estimulada por las condiciones que favorecen el crecimiento de las células vegetativas, aunque puede tener lugar bajo condiciones que no permiten el citado crecimiento, por ejemplo, a bajas temperaturas. Desencadenan la germinación de

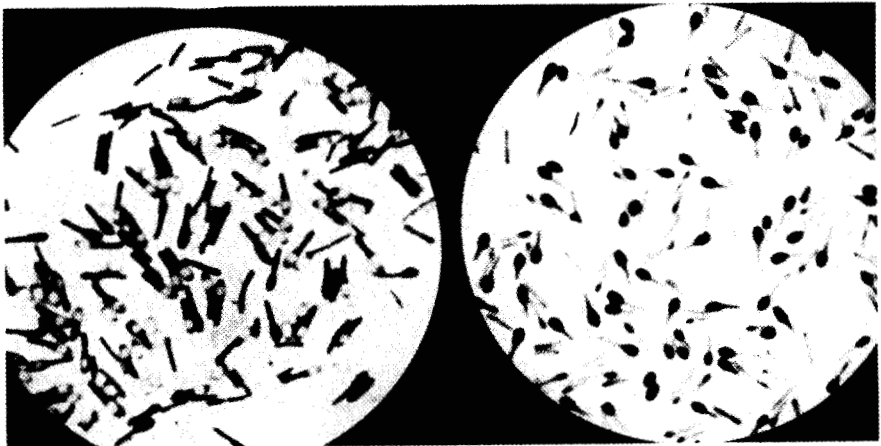


Figura 2.29. Microfotografía en la que aparecen las esporas terminales de un bacilo. En el campo microscópico de la izquierda las esporas no están teñidas, mientras que en el de la derecha están teñidas (X1.300). (Gentileza de J. Nowak).

las esporas, las mezclas de aminoácidos, los iones de Mg^{2+} y de Mn^{2+} , la glucosa, el ácido pícólfónico con el concurso de los iones de Ca^{2+} , y el choque térmico o radiación calorífica que activa enzimas latentes. Los valores correspondientes tanto a la temperatura como a la duración del choque térmico, óptimos para desencadenar la germinación de la spora, dependen del tipo de ésta, teniendo el tratamiento térmico para destruir las esporas de las bacterias termófilas, por ejemplo, mayor duración que el que se utiliza para destruir las esporas de las bacterias mesófilas. El ácido sórbico a pH ácido, algunos cationes divalentes, el almidón, y los ácidos oleico y linoleico, inhiben la germinación de las esporas.

El «letargo» de las esporas ha sido descrito como una germinación retardada (y un crecimiento desmesurado) bajo condiciones claramente favorables para ello. No obstante, las esporas no germinan probablemente porque las condiciones del medio son desfavorables, cosa que ocurre cuando en el mismo existen sustancias inhibitoras o faltan nutrientes esenciales, por ejemplo aminoácidos. Algunas esporas es posible que germinen, pero no crecen, mientras que otras pueden haber sido dañadas por el calor, por las radiaciones, o por otros agentes, de forma que, para crecer, necesitan un medio más complejo o más especializado que aquél en el cual crecieron las bacterias que las originaron. Se han descrito casos de esporas que han tardado en germinar desde algunos días a varios meses; por ejemplo, se ha citado un estado de latencia en esporas de *Bacillus megaterium* que duró desde unos días a 3 ó 4 meses y de 15 a 72 días en esporas de *Clostridium botulinum*.

Formación de agregados de células bacterianas

Es típica de determinadas bacterias la formación de largas cadenas de células, mientras que otras se caracterizan porque, bajo determinadas condiciones, forman agregados celulares. Resulta más difícil destruir la totalidad de las bacterias que forman parte de cadenas entrecruzadas o de agregados de tamaño considerable, que destruir células bacterianas aisladas.

CARACTERES DE LOS CULTIVOS, IMPORTANTES EN BACTERIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS

El crecimiento de las bacterias, tanto en el interior de los alimentos como en la superficie de los mismos, suele ser lo suficientemente abundante como para proporcionarles un aspecto desagradable o para convertirlos en perjudiciales. Las bacterias que producen pigmentos modifican el color de la superficie de los alimentos; la superficie de los líquidos puede estar recubierta por una película debida al crecimiento de bacterias; el crecimiento bacteriano puede comunicar viscosi-

dad a la superficie de los alimentos; y el crecimiento de bacterias en toda la masa de los líquidos puede producir una turbiedad o un sedimento no deseables.

PROPIEDADES FISIOLÓGICAS IMPORTANTES EN BACTERIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS

Al bacteriólogo le preocupan tanto el crecimiento y la actividad de las bacterias (y de los demás microorganismos) existentes en los alimentos, como las reacciones químicas concomitantes. Estas reacciones incluyen el desdoblamiento hidrolítico de los hidratos de carbono complejos en otros más sencillos; el desdoblamiento hidrolítico de las proteínas en polipéptidos, aminoácidos, y amoníaco o aminas; y el desdoblamiento hidrolítico de las grasas en glicerol y ácidos grasos. Las reacciones de O-R utilizadas por las bacterias para obtener energía de los alimentos (hidratos de carbono, otros compuestos de carbono, compuestos sencillos de carbono y de nitrógeno, etc.) originan, como productos resultantes de las mismas, ácidos orgánicos, alcoholes, aldehídos, cetonas y gases. Para comprender los fundamentos tanto de la conservación de alimentos como de las alteraciones que éstos experimentan, es indispensable conocer los factores que estimulan o inhiben la actividad y el crecimiento de las bacterias. Estas modificaciones experimentadas por los alimentos se estudiarán con mayor detalle en los Capítulos siguientes.

GENEROS DE BACTERIAS IMPORTANTES EN BACTERIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS

La revisión que sigue a continuación, pone de relieve los caracteres de los géneros de bacterias que los hacen importantes en los alimentos, prestando menor atención a los caracteres que se utilizan para clasificarlas e identificarlas. Se seguirá la clasificación ofrecida en los volúmenes I y II, correspondientes a los años 1984 y 1986 respectivamente, del *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Los nombres que por una u otra razón ya no se aceptan, están señalados con un asterisco y se hace un comentario sobre los mismos en el Apéndice.

Género *Acetobacter*. Estas bacterias oxidan el alcohol etílico a ácido acético. Tienen forma bacilar, son inmóviles y se encuentran en las frutas, en las hortalizas, en las frutas ácidas y en las bebidas alcohólicas. Su presencia en las bebidas alcohólicas constituye una causa concreta de alteración.

Género *Aeromonas*. Las especies de este género son bacilos gramnegativos cuya temperatura óptima de crecimiento está comprendida entre 22 y

28°C. Son anaerobios facultativos y pueden ser psicrófilos. Se aíslan con frecuencia en medios acuáticos. *A. hydrophila* puede ser patógena para el hombre; también puede ser patógena para otros mamíferos, así como para los peces y para las ranas.

Género *Alcaligenes*. Como indica su nombre, en el medio donde crece se suele originar un pH básico. *A. viscolactis** produce viscosidad en la leche, y *A. metalcaligenes** produce un crecimiento mucoso en la superficie del requesón. Estos microorganismos proceden del estiércol, de los piensos, del suelo, del agua, y del polvo. Este género también incluye a microorganismos que antaño se incluían en el género *Achromobacter*.

Género *Alteromonas*. Algunas de las antiguas especies de *Pseudomonas*, se incluyen actualmente en el género *Alteromonas*. Se trata de microorganismos marinos que pueden tener importancia en los alimentos marinos.

Género *Arthrobacter*. Es un microorganismo muy abundante en el suelo que carece de actividad en la mayoría de los alimentos. No obstante, algunas especies son capaces de crecer a 5°C y por esta razón podrían ser consideradas psicrótrofas.

Género *Bacillus*. Las endosporas de las especies de este género, que puede ser desde aerobio a facultativo, no suelen deformar el cuerpo de los bacilos en los cuales se originan. Las diferentes especies pueden ser mesófilas o termófilas, proteolíticas potentes, débilmente proteolíticas o carecer de esta actividad, pueden producir gas o no producirlo, y ser lipolíticas o carecer de esta actividad. En general, las esporas de las especies mesófilas, por ejemplo, las de *B. subtilis*, son menos termorresistentes que las de las especies termófilas. Las esporas de las especies termófilas estrictas, como por ejemplo, *B. stearothermophilus*, son más resistentes que las de las especies termófilas facultativas, como por ejemplo *B. coagulans*. Las especies que son proteolíticas potentes también pueden coagular la leche azucarada; *B. cereus* es una de estas especies. A las dos principales especies productoras de gas, *B. polymyxa* y *B. macerans*, a veces se les denomina «aerobacilos». Muchas de las especies mesófilas son capaces de producir gas a partir de la glucosa o a partir de otros azúcares, aunque habitualmente sólo producen una escasa cantidad que con frecuencia es neutralizada por el amoníaco que se produce a partir de los alimentos nitrogenados. Las bacterias termófilas acidificantes productoras de acidez de bajo nivel que alteran las conservas vegetales enlatadas, son capaces de producir importantes cantidades de ácido láctico a partir del azúcar, siendo ésta la razón de que un cultivo bacteriano que tenga esta propiedad, como por ejemplo un cultivo de *B. coagulans*, pueda ser utilizado para fabricar ácido láctico. El suelo es un importante origen de especies del género *Bacillus*.

Algunas cepas, que se identifican mediante una cifra numérica que les asigna la American Type Culture Collection (ATCC), son importantes como microorganismos testigo en las pruebas de control de la esterilidad. *Bacillus pumilus* (cepa

27142 de la ATCC) se utiliza para determinar la eficacia de la esterilización mediante rayos gamma. Se recomienda utilizar *B. stearothermophilus* (cepa 7953 de la ATCC) en las técnicas de control de la esterilización mediante vapor. *B. subtilis* (cepa 6633 de la ATCC) también se utiliza en las técnicas de control de la esterilización mediante vapor, y como microorganismo testigo en la prueba para detectar la presencia de penicilina en la leche. Se recomienda utilizar *B. subtilis* var. *niger* (cepa 9372 de la ATCC) para controlar la esterilización mediante óxido de etileno.

Género *Brevibacterium*. La especie *B. linens* está emparentada con la especie *Arthrobacter globiformis* y es posible que estas dos denominaciones correspondan al mismo microorganismo. *B. linens* puede tener importancia en la producción de manchas en la superficie de determinados quesos, como por ejemplo en la del queso de barra o de Limburger en el que el crecimiento de esta especie produce una coloración rojo-anaranjada y contribuye a madurarlo.

Género *Brochotrix*. Las especies de este género son bacilos grampositivos capaces de producir cadenas de gran longitud que parecen filamentos, los cuales se pueden plegar para formar acúmulos intrincados de cadenas de bacilos. Su temperatura óptima de crecimiento está comprendida entre 20 y 25°C, aunque, dependiendo de la cepa de que se trate, son capaces de crecer dentro de un intervalo de temperaturas comprendido entre 0 y 45°C. Puede existir crecimiento de los microorganismos de este género en medios cuyo pH oscila entre 5,0 y 9,0 (pH óptimo de 7,0), así como en medios con una concentración de NaCl comprendida entre el 6,5 y el 10,0%. Los microorganismos no resisten el calentamiento a 63°C durante 5 minutos. Son capaces de alterar muy diversos tipos de carnes y productos cárnicos que se conservan bajo refrigeración, tanto si se almacenan en aerobiosis como si están envasados al vacío. La única especie catalogada es *B. thermosphacta*.

Género *Campylobacter*. Las bacterias de este género fueron clasificadas primeramente como pertenecientes al género *Vibrio*. Son oxidasa positivas, catalasa positivas, gramnegativas, curvadas, y en forma de S o en forma de espiral. Crecen mejor en medios con baja tensión de oxígeno. Se han relacionado varias cepas de *C. fetus* subespecie *jejuni* con la gastroenteritis de las personas (Capítulo 24).

Género *Clostridium*. Las endosporas de las especies de este género de bacterias, que pueden ser desde anaerobias a microaerófilas, suelen deformar uno de los extremos o la parte media de los bacilos en cuyo interior se originan. Todas las especies son catalasa negativas. Algunas especies son potentes fermentadoras de los hidratos de carbono produciendo ácidos (uno de los cuales suele ser el ácido butírico) y gases (generalmente dióxido de carbono e hidrógeno). Las diferentes especies pueden ser mesófilas o termófilas y proteolíticas o no proteolíticas. *C. thermosaccharolyticum* es ejemplo de una especie sacarolítica termófila obligada; este microorganismo produce la alteración, con producción de

gas, de las conservas vegetales enlatadas. La putrefacción de los distintos alimentos se debe con frecuencia al crecimiento de especies mesófilas proteolíticas pertenecientes a este género, como son *C. lentoputrescens* y *C. putrefaciens*. La disgregación violenta de la cuajada de la leche que produce *C. perfringens* da lugar a una «fermentación turbulenta», mientras que la especie *C. butyricum*, capaz de fermentar los lactatos, es responsable de la producción tardía de gas en los quesos curados. El suelo es el principal origen de los microorganismos de las especies de *Clostridium*, aunque también pueden proceder de ensilados en estado de putrefacción, de los piensos y del estiércol.

Género *Corynebacterium*. El microorganismo de la difteria, *C. diphtheriae*, puede ser vehiculado por alimentos. *C. bovis*, cuyos bacilos finos de aspecto barrado*, o en forma de maza, son típicos de este género, es comensal de la ubre de la vaca, se puede encontrar en leche ordeñada asépticamente, y puede producir mastitis bovinas.

Género *Desulfotomaculum*. Especie integrada por bacilos gramnegativos cuyo cuerpo celular es deformado por la endospora. Son huéspedes habituales del suelo, del agua dulce y de la panza de los ruminantes. En el proceso respiratorio de la célula bacteriana, los compuestos de azufre pueden desempeñar la función de aceptores terminales de electrones y por ello ser reducidos a sulfuro de hidrógeno. A la especie *Clostridium nigrificans*, que es el causante del olor hediondo debido a la producción de sulfuro de hidrógeno en las conservas enlatadas, en la actualidad se le denomina *Desulfotomaculum nigrificans*.

Género *Enterobacter*. Algunas especies de este género se incluían antiguamente en el género *Aerobacter*. Estas bacterias son muy abundantes en la naturaleza. El género pertenece al grupo coliforme.

Género *Erwinia*. Las especies de este género son patógenas para las plantas en las que son las causantes de necrosis, agallas, agostamiento y podredumbres blandas, dañando a las plantas y, por tanto, a las hortalizas y frutas que se obtienen de las mismas. Se relaciona a *E. carotovora* con la enfermedad de las hortalizas comerciales denominada «podredumbre blanda bacteriana». *E. carotovora* subespecie *carotovora* es el agente causal de la podredumbre de muchas plantas. *E. carotovora* subespecie *atroseptica* produce la podredumbre negra de los tubérculos de la patata. *E. carotovora* subespecie *betavascularum* produce una podredumbre blanda en la remolacha azucarera.

Género *Escherichia*. Hallado en las heces, es un bacilo gramnegativo que se aísla del tubo intestinal de los animales de sangre caliente y que se encuentra muy difundido en la naturaleza. Es uno de los géneros que integran el «grupo coliforme», dividiéndose en muchos biotipos y serotipos, algunos de los cuales son patógenos potenciales para el hombre (Capítulo 24).

*N. del T.: Cuando se tiñen los bacilos con azul de metileno, es típica su tinción irregular, en franjas, que les confiere un aspecto barrado.

Género *Flavobacterium*. Las especies de este género que producen pigmentos de color variable del amarillo al naranja, pueden producir coloraciones anormales en la superficie de las carnes y es posible que intervengan en la alteración de los mariscos, de las canales de ave, de los huevos y de la mantequilla. Algunas especies son psicrótrofas, habiéndose observado su crecimiento en la superficie de hortalizas que se conservan por congelación, una vez descongeladas.

Género *Gluconobacter*. (Antiguo género *Acetomonas*). Sus especies son capaces de oxidar el etanol a ácido acético. *G. oxydans* produce viscosidad en la cerveza por crecer en la misma, o en el jugo de lúpulo fermentado.

Género *Halobacterium*. Las bacterias de este género son halófilas obligadas y suelen ser cromógenas. Pueden crecer y producir coloraciones anormales en la superficie de los alimentos que contienen elevadas concentraciones de sal, como son las salazones de pescado. En este género se incluyen en la actualidad algunas especies que antiguamente se clasificaban como pertenecientes al género *Flavobacterium*.

Género *Klebsiella*. Muchas bacterias de este género son capsuladas. Se encuentran con frecuencia en las vías respiratorias y en el tubo intestinal del hombre. *K. pneumoniae* es el agente causal de una neumonía de etiología bacteriana en las personas.

Familia *Lactobacillaceae*

Género *Lactobacillus*. Los microorganismos de este género son bacilos, generalmente largos y finos, que forman cadenas en la mayoría de sus especies (Figura 2.30). Son microaerófilos, (se conocen algunos que son anaerobios estrictos), catalasa positivos, gramnegativos, y fermentan los azúcares produciendo ácido láctico como producto principal. Si son homofermentativos, fermentan el azúcar dando, principalmente, ácido láctico e insignificantes cantidades de ácido acético, de dióxido de carbono y de otros productos en cantidades vestigiales; si son heterofermentativos, además de producir ácido láctico, producen una importante cantidad de compuestos volátiles, entre los que se encuentra el alcohol. Los lactobacilos homofermentativos cuya temperatura de crecimiento óptima es de 37°C o más elevada, incluyen las siguientes especies: *L. bulgaricus**, *L. helveticus*, *L. lactis**, *L. acidophilus*, *L. thermophilus**, y *L. delbrueckii*. La especie *L. fermentum* es el principal ejemplo de un lactobacilo heterofermentativo que crece bien a las temperaturas más elevadas. Entre los lactobacilos homofermentativos cuya temperatura óptima de crecimiento es más baja, se incluyen las especies *L. casei*, *L. plantarum*, y *L. leichmannii**; son especies heterofermentativas, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. pastorianus**, *L. hilgardii*, y *L. trichodes**. Todas las especies citadas, excepto *L. delbrueckii*, *L. leichmannii*, *L. hilgardii*, *L. trichodes**, y algunas cepas de *L. brevis*, fermentan la lactosa con producción de ácido láctico

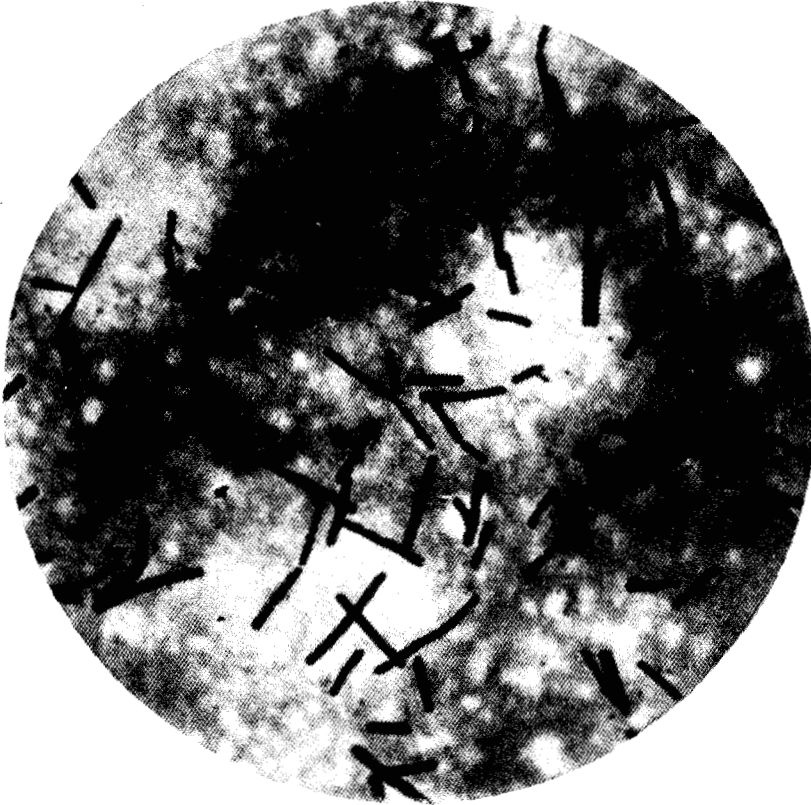


Figura 2.30. Microfotografía de *Lactobacillus bulgaricus** (X1.000).

y de aquí que puedan tener importancia en las industrias de productos lácteos. Las principales fuentes de lactobacilos son la superficie de las plantas, el estiércol y los productos lácteos.

Las propiedades que hacen que los lactobacilos existentes en los alimentos sean importantes son: (1) Su capacidad para fermentar los azúcares produciendo grandes cantidades de ácido láctico, propiedad que hace posible utilizarlos en la fabricación de conservas vegetales y productos lácteos fermentados, o en la fabricación de ácido láctico a escala industrial, si bien alteran algunos alimentos, como, por ejemplo, el vino y la cerveza, (2) la producción de gas y de otros productos volátiles por parte de las especies heterofermentativas, perjudicando a veces la calidad de los alimentos, cosa que ocurre cuando la especie *L. fermentum* crece en el queso suizo, o cuando crecen en los vinos las especies *L. hilgardii* o *L. trichodes*, (3) su incapacidad para sintetizar la mayoría de las vitaminas que necesitan, siendo, por lo tanto, incapaces de crecer bien en aquellos alimentos pobres en vitaminas, aunque tienen utilidad para realizar determinaciones del contenido vitamínico de los mismos, y (4) la termorresistencia, o propie-

dad termodúrica, de los lactobacilos que crecen bien a temperatura elevada, les permite resistir a la pasteurización o a otros tipos de tratamiento térmico, como por ejemplo al tratamiento térmico a que se somete la cuajada en la fabricación del queso suizo y otros quesos parecidos.

Se han encontrado especies de *Lactobacillus*, diferentes de las ya citadas, que crecen en las carnes refrigeradas, aunque para designarlas sólo se han propuesto unas pocas denominaciones, por ejemplo, la de *L. viridescens* para un lactobacilo que produce el enverdecimiento de los embutidos y la de *L. salinmandus** para otro que también crece en los mismos. Por ser capaces de crecer a bajas temperaturas, estos lactobacilos son poco corrientes.

Género *Leuconostoc*. Este género, al que Orla-Jensen denominó *Betacoccus*, incluye los estreptococos lácticos heterofermentativos que fermentan el azúcar produciendo ácido láctico e importantes cantidades de ácido acético, de alcohol etílico y de dióxido de carbono. En el llamado «estárter láctico» de la nata, de la mantequilla y del queso, se han incluido las especies *L. dextranicum** y *L. cremoris**, por ser capaces de estimular el crecimiento de los estreptococos lácticos y de fermentar el ácido cítrico de la leche produciendo una sustancia de sabor agradable, el diacetilo, (también se producen acetoina, que es un producto más reducido, y 2,3-butanodiol).

Algunas de las propiedades de las especies de *Leuconostoc* que hacen que tengan importancia en los alimentos son: (1) La producción de diacetilo y otras sustancias que comunican sabores agradables a los alimentos, (2) su tolerancia a las concentraciones elevadas de sal, como ocurre por ejemplo, en las fermentaciones del sauerkraut y de los encurtidos con eneldo*, permitiendo a *L. mesenteroides* que lleve a cabo la primera fase de la fermentación láctica, (3) su capacidad tanto para iniciar la fermentación en los productos vegetales con mayor rapidez que las demás bacterias lácticas, o que otras bacterias competidoras, como para producir la suficiente cantidad de ácido que inhibe a las bacterias no lácticas, (4) su tolerancia a las elevadas concentraciones de azúcar (incluso de un 55 a un 60 por cien por lo que se refiere a *L. mesenteroides*), lo que permite a este microorganismo crecer en los jarabes, en el caramelo líquido y en las mezclas para helados, etc., (5) la producción de grandes cantidades de dióxido de carbono a partir de los azúcares, que produce el indeseable «resquebrajamiento» de algunos quesos, la alteración de alimentos que contienen una elevada concentración de azúcares (jarabes, mezclas, etc.), y la fermentación de algunos tipos de pan, y (6) la producción de gran cantidad de mucílago en los medios que contienen sacarosa.

*N. del T.: El eneldo, conocido también con las denominaciones de anega e hinojo hediondo, (*Anethum graveolens* L.) es una planta de la familia de las Umbelíferas, de flores amarillas y semillas elipsoidales. Las especies de esta familia suelen contener aceites esenciales, algunos de los cuales son los responsables del olor nauseabundo característico de las mismas; otras en cambio despiden gratos olores aromáticos (perejil, apio, cilantro, zanahoria, anís, hinojo), por lo que estas especies son comestibles, bien sean sus hojas, sus tallos, sus esponjosas raíces, o por sus semillas. Del eneldo se utilizan sus semillas que son carminativas y estimulantes.

Esta última propiedad es favorable para la producción de dextrano, aunque constituye un inconveniente en materias primas ricas en sacarosa, cosa que ocurre en la fabricación de azúcar a partir de la caña azucarera o de la remolacha azucarera.

Género *Listeria*. Las bacterias de este género son bacilos gramnegativos esporógenos, dotados de movilidad desordenada. *L. monocytogenes* es capaz de producir brotes de enfermedades de origen alimentario (Capítulo 24).

Género *Microbacterium*. Las bacterias de este género tienen importancia por su resistencia a las condiciones adversas del medio y por utilizarse para producir vitaminas. Son bacilos de pequeño tamaño, inmóviles, grampositivos, asporógenos, catalasa positivos, aerobios, homofermentativos, producen ácido láctico, y a veces se agrupan en forma de empalizada. *M. lacticum* suele ser la especie que se aísla con mayor frecuencia. A pesar de no producir esporas, las microbacterias son muy termorresistentes, pues resisten fácilmente las temperaturas de pasteurización de la leche e incluso temperaturas de 80 a 85°C durante 10 minutos. De aquí que se incluyan en las bacterias termodúricas que dan elevados recuentos en los productos lácteos pasteurizados, como por ejemplo en la leche que se comercializa y en la leche en polvo. Su intervalo de temperaturas de crecimiento se halla comprendido entre los 15 y los 35°C, siendo la temperatura óptima de aproximadamente 30°C. De aquí que cuando estos microorganismos se siembran en placas, su incubación debe hacerse a temperatura inferior a los 35°C, preferentemente a una temperatura próxima a los 30°C.

Género *Micrococcus**. Los micrococos* son células bacterianas esféricas dispuestas en agrupaciones irregulares, en racimos, en tetradas o en paquetes. La mayoría de las especies que abundan en los alimentos son grampositivas, aerobias y catalasa positivas. Su temperatura óptima de crecimiento se halla próxima a los 25 a 30°C y en el laboratorio crecen bien en los medios de cultivo ordinarios. Por otra parte, resulta difícil generalizar respecto de sus propiedades, las cuales pueden ser muy diferentes en cada una de las especies. La importancia de los distintos grupos de micrococos de los alimentos se debe a las siguientes propiedades: (1) Algunas especies son capaces de utilizar las sales de amonio y otros compuestos nitrogenados sencillos como única fuente de nitrógeno, (2) la mayoría de las especies son capaces de fermentar azúcares produciendo una mediana cantidad de ácido, (3) algunas desdoblan las proteínas con producción de ácidos (*M. freudenreichii**), (4) otras toleran elevadas concentraciones de sal, razón por la cual son capaces de crecer en medios con valores de humedad disponible relativamente bajos; estas especies crecen en las salmueras que se utilizan para conservar carne, en los tanques de salmueras, etc., (5) algunas son termodúricas, es decir, resisten al tratamiento de pasteurización a que se somete la leche comercial (*M. varians*), (6) otras producen pigmentos y producen coloraciones anormales en la superficie de los alimentos en los que crecen; *M. luteus*, por ejemplo, produce un pigmento amarillo, mientras que *M. roseus* produce un pigmento

de color rosado, y (7) algunos micrococos son capaces de crecer bastante bien a temperaturas próximas o inferiores a los 10°C.

Los micrococos* abundan mucho en la naturaleza, aunque se han aislado con mayor frecuencia en el polvo y en el agua. Se encuentran con frecuencia en los utensilios y en el equipo utilizados para manipular los alimentos insuficientemente lavados y desinfectados.

Género *Mycobacterium*. El bacilo que produce la tuberculosis, *M. tuberculosis*, ha sido diseminado por alimentos, sobre todo por leche de vacas infectadas que no ha sido sometida a tratamiento térmico.

Género *Pediococcus*. Los cocos se presentan aislados, en parejas o en cadenas cortas, o en tetradas (división en dos planos), y son grampositivos, catalasa negativos y microaerófilos. Son homofermentativos, fermentando los azúcares para producir una concentración de ácido, principalmente ácido láctico, comprendida entre el 0,5 y el 0,9 por cien, y crecen bastante bien en salmueras con una concentración de sal de hasta el 5,5 por cien, mientras que su crecimiento es escaso en las salmueras con concentraciones de sal de hasta el 10 por cien aproximadamente. El intervalo de sus temperaturas de crecimiento oscila desde los 7°C aproximadamente hasta los 45°C, aunque su temperatura óptima está comprendida entre los 25 y los 32°C. Las propiedades que determinan que este microorganismo tenga importancia en los alimentos, ya han sido citadas: su tolerancia a la sal, la producción de ácido, y el intervalo de temperaturas dentro del cual es capaz de crecer, sobre todo su capacidad para crecer a temperaturas frías. Se han encontrado pediococos que crecen durante la fermentación de hortalizas en salmuera y se ha comprobado que microorganismos de este género han sido los causantes de la alteración de bebidas alcohólicas, por ejemplo, de la cerveza, en las que la producción de diacetilo es perjudicial. La especie *P. damnosus* puede alterar la cerveza. *P. cerevisiae** se ha utilizado como cultivo estárter en embutidos fermentados.

Género *Photobacterium*. Este género incluye cocobacilos, y a veces bacilos, que pueden ser luminiscentes. No abundan mucho; no obstante, se han conocido casos en los que *P. phosphoreum* ha producido fosforescencia en carnes y pescados.

Género *Propionibacterium*. En los alimentos se pueden encontrar representantes de este género. Estas bacterias son bacilos de pequeño tamaño, inmóviles, grampositivos, asporógenos, catalasa positivos y desde anaerobios a aerotolerantes, cuya forma suele ser cocoide y a veces se presentan en cadenas. Fermentan el ácido láctico, los hidratos de carbono y los polialcoholes produciendo ácido propiónico, ácido acético y dióxido de carbono. En el queso suizo, ciertas especies (por ej., *Propionibacterium freudenreichii*) fermentan los lactatos para producir el gas que favorece la formación de las cavidades, ojos, contribuyendo

también a comunicarles sabor. Las propionibacterias productoras de pigmentos pueden producir coloraciones anormales en el queso.

Género *Proteus*. A las bacterias de este género se les ha atribuido la producción de alteraciones en las carnes, en el pescado, en los mariscos y en los huevos. La presencia de un elevado número de bacterias de este género en alimentos no sometidos a refrigeración las ha hecho sospechosas de producir intoxicaciones alimentarias (Capítulo 24).

Género *Pseudomonas*. Algunas especies de *Pseudomonas* pueden alterar los alimentos. Estas bacterias son bacilos gramnegativos, generalmente inmóviles, y asporógenos.

Las propiedades de algunas especies de *Pseudomonas* que las hacen importantes en los alimentos son: (1) Su capacidad para utilizar compuestos de carbono muy distintos que no son hidratos de carbono y su incapacidad para utilizar la mayoría de los hidratos de carbono, (2) su capacidad para producir diversas sustancias que influyen desfavorablemente en el sabor, (3) su capacidad para utilizar alimentos nitrogenados sencillos, (4) su capacidad para sintetizar sus propios factores de crecimiento o vitaminas, (5) la actividad proteolítica y lipolítica de algunas especies, (6) su tendencia aerobia que les permite un crecimiento rápido y producir productos de oxidación y mucosidad en aquellas superficies de los alimentos en las que es más probable que exista una contaminación masiva, (7) su capacidad para crecer a temperaturas bajas (temperaturas de refrigeración), (8) la producción de pigmentos por algunas especies, como por ejemplo la pioverdina que produce *Pseudomonas fluorescens*, que comunica una fluorescencia verdosa a los alimentos, y los pigmentos de color blanco, ocre, rojizo, e incluso negro (*P. nigrificiens**) de otras especies, y (9) su resistencia a algunos desinfectantes y detergentes que se emplean en la industria alimentaria.

Por otra parte, las pseudomonas sólo crecen en medios con una a_w bastante elevada (de 0,97 a 0,98), el calor las destruye con facilidad, su crecimiento es escaso si no disponen del suficiente oxígeno, no son especialmente resistentes a la desecación, y su crecimiento es escaso, o no crecen en absoluto, a temperaturas superiores a los 43°C.

Género *Salmonella*. Las especies de estos patógenos entéricos pueden crecer en los alimentos y producir infecciones alimentarias (Capítulo 24); normalmente sólo son vehiculadas por alimentos.

Género *Serratia*. Algunas especies producen un pigmento de color rosado o de color magenta y pueden comunicar coloraciones rojizas a la superficie de los alimentos. La especie más corriente es *S. marcescens*.

Género *Shigella*. Los alimentos pueden vehicular especies de *Shigella* que producen disenterías bacilares (Capítulo 24).

Género *Sporolactobacillus*. La especie *Lactobacillus inulinus* ha sido clasificada como *S. inulinus* por su capacidad para producir esporas. Se parece a *Lactobacillus* en muchas propiedades.

Género *Sporosarcina*. Los microorganismos de este género son cocos grampositivos esporógenos. *S. ureae* y *S. halophila* son las dos especies catalogadas.

Género *Staphylococcus*. Los estafilococos grampositivos crecen aisladamente, en parejas, en tetradas, o en agrupaciones irregulares parecidas a racimos de uva. La especie más importante, *S. aureus*, suele dar un crecimiento de color amarillo a naranja, aunque a veces puede ser blanco. Para crecer necesita una fuente de nitrógeno orgánico y en cuanto a necesidades de oxígeno es aerobia facultativa. Muchas de las cepas beta-hemolíticas coagulasa positivas son patógenas, y algunas elaboran una enterotoxina que produce intoxicaciones alimentarias (Capítulo 24).

Género *Streptococcus*. Según la especie de que se trate, y las condiciones de crecimiento, los cocos de este género se presentan típicamente en parejas, formando cadenas cortas, o cadenas largas, y todos son homofermentativos. Mediante la reacción serológica de la precipitación, los estreptococos se pueden clasificar en los grupos de Lancefield, que se designan mediante letras mayúsculas (A, B, C, D, etc.), aunque los que tienen importancia en los alimentos normalmente se incluyen en cuatro grupos: grupo piógeno, grupo viridans, grupo láctico y grupo del enterococo.

El grupo piógeno (estreptococos productores de pus) incluye especies patógenas de estreptococos, entre las cuales, *S. agalactiae*, agente causal de mastitis en la vaca, y *S. pyogenes*, agente causal del dolor de garganta de etiología infecciosa, de la escarlatina, y de otras enfermedades, son representantes de este género que se han aislado en la leche recién ordeñada. Los estreptococos piógenos no son capaces de crecer ni a 10°C ni a 45°C.

El grupo viridans incluye la especie *S. thermophilus*, coco que tiene importancia en la fabricación de quesos cuando se emplea el procedimiento de cocción de la cuajada, y en la fabricación de leches fermentadas, como por ejemplo en la del yogurt, y *S. bovis*, que procede del estiércol y de la saliva y, lo mismo que *S. thermophilus*, es termodúrico y de aquí que aparezca en los recuentos en placas sembradas con leche pasteurizada. Estas especies son capaces de crecer a 45°C, pero no a 10°C.

El grupo láctico contiene las especies *S. lactis* (Figura 2.31) y *S. cremoris**, las cuales tienen importancia en las industrias lácticas y son capaces de crecer a 10°C pero no a 45°C. Estas especies, junto con especies del género *Leuconostoc* se utilizan para preparar cultivos estériles que se emplean en la fabricación del queso, de la nata fermentada y de ciertos tipos de mantequilla, mientras que *S. lactis* interviene con frecuencia en la acidificación de la leche recién ordeñada. Estas bacterias lácticas no toleran concentraciones de sal superiores al 2 a 4%, no interviniendo por tanto en la fermentación láctica de las hortalizas en salmuera. Las plantas verdes, los piensos, el ensilado, y los utensilios, son algunas fuentes de estreptococos lácticos. El grupo del enterococo está integrado por las especies *S. faecalis* y *S. faecium* y por algunas especies emparentadas con ellas. *S. faecalis*

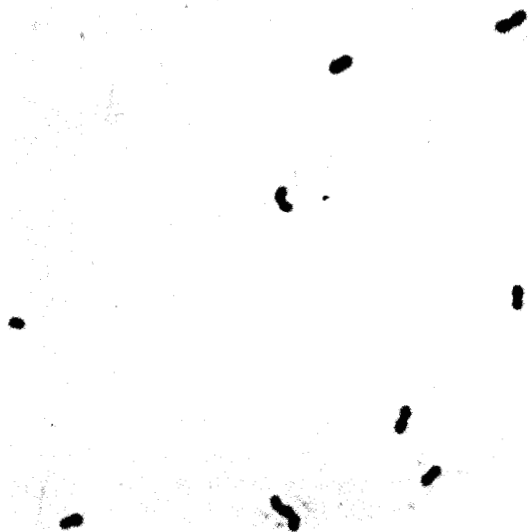


Figura 2.31. Microfotografía de *Streptococcus lactis** (X1.000).

y *S. faecium* son parecidos entre sí, aunque se pueden diferenciar mediante pruebas bioquímicas. *S. faecalis* suele ser el más termorresistente y tiene origen humano con mayor frecuencia, mientras que se ha señalado que *S. faecium* es más frecuente encontrarlo en las plantas. La subespecie *liquefaciens* de *S. faecalis* es una variedad ácido-proteolítica de esta especie, mientras que la subespecie *zymogenes** de la misma especie es una variedad beta-hemolítica. *S. faecalis* y *S. faecium* se aíslan con mayor frecuencia en los alimentos crudos. Las bacterias de este grupo son capaces de crecer tanto a 10°C como a 45°C. Los enterococos comparten ciertas propiedades que los convierten en estreptococos insólitos: (1) Son termodúricos, por resistir con facilidad las temperaturas de pasteurización de la leche e incluso el calentamiento a temperaturas más elevadas, (2) toleran concentraciones de sal del 6,5 por cien o más elevadas, (3) son capaces de crecer a un pH básico de valor 9,6, y (4) son capaces de crecer dentro de un amplio intervalo de temperaturas, ya que si bien algunos se multiplican a temperaturas tan bajas como son las comprendidas entre 5 y 8°C, la mayoría crecen a temperaturas tan elevadas como son las comprendidas entre 48 y 50°C.

También se ha comprobado que *S. faecalis* es capaz de crecer en el bacon*. Como su nombre indica, los enterococos proceden del tubo intestinal del hombre y de los animales, utilizándose a veces como microorganismos indicadores de

*N. del T.: Tocino entreverado.

contaminación fecal de los alimentos y, con mayor frecuencia, para determinar las condiciones de limpieza de una determinada planta industrial. También son capaces de sobrevivir en los distintos productos lácteos, pudiendo contaminar los utensilios y el equipo.

Los enterococos que se aíslan con mayor frecuencia de los alimentos son las especies *S. faecalis* y *S. faecium*; no obstante, a todos los estreptococos del grupo D de Lancefield se les puede considerar enterococos. El grupo D de estreptococos incluye las especies y subespecies siguientes: *S. faecalis*, *S. faecalis* subesp. *liquefaciens**, *S. faecalis* subesp. *zymogenes**, *S. faecium*, *S. faecium* subesp. *durans**, *S. bovis*, *S. equinus* y *S. avium*.

El término «estreptococos fecales» se suele utilizar en la industria alimentaria para designar a aquellos enterococos que se utilizan como microorganismos indicadores (véase la pág. 72)

Género *Streptomyces**. Cuando crecen en la superficie de los alimentos, los microorganismos pertenecientes a este género les pueden comunicar sabores y aspecto desagradables; cuando el crecimiento de los estreptomycetos tiene lugar en alimentos próximos a otros, los olores y sabores a moho o a tierra de estos microorganismos pueden ser absorbidos por estos últimos. Estas bacterias superiores crecen produciendo un micelio multirramificado y conidios dispuestos en forma de cadena.

Género *Vibrio*. Las bacterias de este género abundan en el agua dulce y en el agua de mar, en el suelo, y en el tubo digestivo del hombre y de los animales. Algunas son medianamente halófilas. Algunas especies son patógenas para el hombre (Capítulo 24).

Género *Yersinia*. Estas bacterias se pueden encontrar en el suelo. *Y. pestis* es el agente causal de la peste del hombre, de la rata y de otros roedores. Se ha señalado que ciertas cepas de *Y. enterocolitica* son los agentes causales de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, (Capítulo 24). Si bien las bacterias de este género se clasificaban antes como pertenecientes al género *Pasteurella*, en la actualidad se incluyen en la familia *Enterobacteriaceae* por su íntima relación taxonómica con el género *Salmonella*.

GRUPOS DE BACTERIAS IMPORTANTES EN BACTERIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

Las bacterias que tienen importancia en los alimentos se suelen agrupar en base a que poseen una propiedad común, sin tener en cuenta su clasificación sistemática. Es evidente que algunas especies bacterianas se podrían incluir en dos o más de estos grupos artificiales. A continuación se ofrecen ejemplos de los grupos que se suelen emplear.

Bacterias que producen ácido láctico o bacterias lácticas

La propiedad más importante de las bacterias lácticas es su capacidad para fermentar los azúcares con producción de ácido láctico. Esta propiedad puede ser beneficiosa en la fabricación de productos como el sauerkraut y el queso, pero perjudicial cuando produce alteraciones en los vinos. Como quiera que producen ácido rápidamente y normalmente en cantidades importantes, estas bacterias no dan oportunidad a que crezcan otros microorganismos competitivos.

Las principales bacterias de este grupo pertenecen a los géneros *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, y *Pediococcus*.

Bacterias que producen ácido acético o bacterias acéticas

La mayoría de las bacterias del ácido acético pertenecen hoy día a uno de los dos géneros *Acetobacter* y *Gluconobacter*. Las bacterias de ambos géneros oxidan el alcohol etílico a ácido acético, aunque posteriormente las pertenecientes al género *Acetobacter* son capaces de oxidar el ácido acético a dióxido de carbono. Las propiedades de las bacterias acéticas que las hacen importantes son: (1) Su capacidad para oxidar el etanol a ácido acético, que las hace beneficiosas en la fabricación del vinagre y perjudiciales en la fabricación de bebidas alcohólicas, (2) su gran capacidad oxidante que puede dar lugar a la oxidación del producto deseado, el ácido acético, por especies perjudiciales o por especies beneficiosas en condiciones desfavorables; esta capacidad oxidante puede tener utilidad, como ocurre en la oxidación del D-sorbitol a L-sorbosa en la fabricación de ácido ascórbico por síntesis, y (3) la excesiva producción de viscosidad por parte de algunas especies, como es el caso de *Acetobacter aceti* subesp. *suboxydans**, que obstruye los generadores de vinagre.

Bacterias que producen ácido butírico o bacterias butíricas

La mayoría de las bacterias de este grupo son anaerobias esporógenas pertenecientes al género *Clostridium*.

Bacterias que producen ácido propiónico o bacterias propiónicas

La mayoría de las bacterias de este grupo pertenecen al género *Propionibacterium*, si bien se han señalado también cocos propiónicos.

Bacterias proteolíticas

Es éste un grupo heterogéneo de bacterias proteolíticas potentes que producen proteinasas extracelulares, así llamadas porque los enzimas difunden al

exterior de las células. Todas las bacterias poseen proteinasas intracelulares, pero sólo un reducido número de especies poseen proteinasas extracelulares. Las bacterias proteolíticas se pueden dividir en aquéllas que son aerobias o facultativas, y que a su vez pueden ser esporógenas o asporógenas, y en aquéllas que son anaerobias y esporógenas. *Bacillus cereus* es una bacteria proteolítica, aerobia y esporógena. *Pseudomonas fluorescens* es asporógena y de aerobia a facultativa, mientras que *Clostridium sporogenes* es esporógena y anaerobia. Muchas de las especies de *Clostridium*, *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Proteus* son proteolíticas. Ciertas bacterias, a las que se les conoce con la denominación de «ácido-proteolíticas», llevan a cabo simultáneamente una fermentación ácida y la proteólisis. *Streptococcus faecalis* var. *liquefaciens** y *Micrococcus caseolyticus* son ácido-proteolíticas. Algunas bacterias son putrefactivas, es decir, descomponen las proteínas en anaerobiosis para producir compuestos malolientes como, por ejemplo, sulfuro de hidrógeno, mercaptanos, aminas, indol y ácidos grasos. La mayoría de las especies de *Clostridium* son putrefactivas, lo mismo que algunas especies de *Proteus*, de *Pseudomonas*, y de otros géneros asporógenos. También puede tener lugar la putrefacción de los productos resultantes del desdoblamiento de la proteínas. Se conocen algunas especies de *Pseudomonas* que elaboran una proteinasa capaz de resistir los tratamientos térmicos de mayor intensidad.

Bacterias lipolíticas

Es éste un grupo heterogéneo de bacterias que producen lipasas que catalizan la hidrólisis de las grasas a ácidos grasos y glicerol. Muchas de las bacterias aerobias proteolíticas potentes son también lipolíticas. *Pseudomonas fluorescens*, por ejemplo, es una especie lipolítica potente. En los géneros *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Staphylococcus*, *Serratia* y *Micrococcus* existen especies lipolíticas. Muchas de las lipasas microbianas son resistentes a los distintos tratamientos industriales. El hecho de que en un alimento alterado no existan bacterias lipolíticas viables, no debe ser considerado como una prueba de que esté exento de lipasas microbianas.

Bacterias sacarolíticas

Estas bacterias hidrolizan los disacáridos o los polisacáridos a azúcares más sencillos. Un reducido número de especies de bacterias son amilolíticas, es decir, poseen una amilasa para llevar a cabo la hidrólisis extracelular del almidón. *Bacillus subtilis* y *Clostridium butyricum* son amilolíticas. Existen pocas especies bacterianas capaces de hidrolizar la celulosa. Las especies de *Clostridium*, a veces se clasifican en especies proteolíticas que son capaces o no de desdoblar los azúcares, y especies sacarolíticas que hidrolizan los azúcares pero no las proteínas. *C. lentoputrescens** es una especie proteolítica, pero normalmente no fermenta los hidratos de carbono, mientras que *C. butyricum* no es proteolítica, pero fermenta los azúcares.

Bacterias pectinolíticas

La pectinas son hidratos de carbono complejos a los que se debe la rigidez de la pared de las células de las hortalizas y frutas. Las pectinas obtenidas del limón se pueden utilizar como gelificantes en productos comerciales. El ablandamiento de los tejidos vegetales, o la pérdida de la consistencia o poder gelificante de algunos alimentos, pueden ser debidos a la actividad de varios enzimas pectolíticos a los que se les denomina pectinasa. Pueden ser pectinolíticas especies de los géneros *Erwinia*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Arthrobacter*, y *Flavobacterium*, y también algunas especies de mohos.

Bacterias termofílicas o termófilas

Estas bacterias, cuya temperatura óptima de crecimiento es, como mínimo, superior a 45°C, si bien generalmente es de 55°C o más, tienen importancia en aquellos alimentos que se mantienen a temperaturas elevadas. En las conservas enlatadas de acidez baja, *B. stearothermophilus* produce una alteración ácida sin hinchamiento del envase. La alteración por bacterias termófilas con producción de gas de las conservas enlatadas se debe al crecimiento de *C. thermosaccharolyticum*.

Bacterias termodúricas

Se suelen considerar bacterias termodúricas aquellas que son capaces de resistir al tratamiento térmico de la pasteurización. Las especies de *Bacillus*, los micrococcos*, y los enterococos son capaces de sobrevivir en los huevos líquidos sometidos a pasteurización. Con frecuencia se encuentran en los alimentos bacterias de los géneros *Clostridium*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Microbacterium*. A veces son termodúricos mohos como *Byssochlamys fulva* e incluso algunas especies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*. Ciertas bacterias termodúricas, como las pertenecientes al género *Bacillus* y los enterococos, también pueden ser psicrótrofas (véase el epígrafe siguiente). En la leche, en la que tienen importancia las temperaturas más elevadas y los tiempos de refrigeración más prolongados, con frecuencia se pueden encontrar las citadas bacterias termorresistentes, o termodúricas, psicrótrofas.

Bacterias psicrótróficas o psicrótrofas

Estas bacterias pueden crecer a las temperaturas normales de refrigeración. A diferencia de las bacterias psicrófilas, la temperatura óptima de crecimiento de

las psicrótrofas no coincide con las temperaturas de refrigeración, sino que suele estar comprendida entre 25 y 30°C. La mayoría de las bacterias causantes de la pérdida de calidad de los alimentos refrigerados no estériles, excepto los pescados y mariscos, son psicrótrofas. Las bacterias psicrótrofas se encuentran principalmente en los géneros *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, y *Alcaligenes*, aunque los géneros *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Enterobacter*, *Arthrobacter* y otros géneros pueden contener especies psicrótrofas. Además, varias levaduras y varios mohos pueden crecer a temperaturas de refrigeración.

Bacterias halófilas o halófilas

Las bacterias realmente halófilas necesitan para crecer determinadas concentraciones mínimas de cloruro sódico disuelto. Aquellas bacterias, entre las que se incluyen las especies de los géneros *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, y *Vibrio*, que crecen mejor en medios con una concentración de sal comprendida entre el 0,5 y el 3,0 por cien, se consideran débilmente halófilas. Estos microorganismos se aíslan en muchas especies de pescados y de mariscos. A las bacterias que se aíslan en alimentos como las salazones de pescados, en las carnes en salmuera, y en algunas salazones de hortalizas y que crecen mejor en medios con concentraciones de sal comprendida entre el 3,0 y el 15 por cien, se les conoce como medianamente halófilas. Estas bacterias pertenecen a los géneros *Bacillus*, *Micrococcus*, *Vibrio*, *Acinetobacter* y *Moraxella*. En los alimentos conservados en salmueras de elevada concentración, con un porcentaje de sal comprendido entre el 15 y el 30 por cien, a veces se pueden aislar especies extraordinariamente halófilas, como son las especies de los géneros *Halobacterium* y *Halococcus*. Con frecuencia también producen un pigmento rosado o rojo. Otras bacterias son halotolerantes; es decir, son bacterias capaces de crecer en medios con sal o sin sal. Generalmente suelen ser capaces de crecer en alimentos que contienen un 5,0 por cien o más de sal; entre las mismas se incluyen ciertas especies de los géneros *Bacillus*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Streptococcus* y *Clostridium*. En los géneros *Sarcina*, *Pseudomonas*, *Pediococcus* y *Alcaligenes* se encuentran otras bacterias halófilas o halotolerantes de importancia en los alimentos.

Bacterias osmófilas o sacarófilas

Los microorganismos osmófilos encontrados con mayor frecuencia en los alimentos son varias especies de levaduras. Las bacterias osmófilas son aquellas que crecen en concentraciones elevadas de azúcar; no obstante, la mayoría de las bacterias denominadas osmófilas son simplemente tolerantes del azúcar, como es el caso de las especies de *Leuconostoc*.

Bacterias productoras de pigmentos

El color de los pigmentos producidos por determinadas bacterias que crecen en la superficie o en el interior de los alimentos abarca todo el espectro visible, y también incluye el blanco y el negro. Cuando se estudien más adelante las distintas alteraciones que experimentan los alimentos, se citarán abundantes ejemplos. En algunos géneros, todas las especies producen pigmento, como es el caso de los géneros *Flavobacterium* (pigmento de un color que varía de amarillo a naranja) y *Serratia* (pigmento rojo). Se encuentran especies productoras de pigmentos en muchos géneros; muchas especies de *Micrococcus*, por ejemplo, producen pigmento. Asimismo, en determinadas especies que normalmente no producen pigmento, existen variedades que lo producen, como es el caso de *Lactobacillus plantarum* que produce un pigmento del color de la herrumbre que produce coloraciones anormales en los quesos. Las especies del género *Halo-bacterium* elaboran pigmentos de color rosado, rojo, o rojo anaranjado. Las especies de *Halococcus* producen pigmentos de color rojo o rojo anaranjado.

Bacterias que producen mucílago o viscosidad

Ya se han citado ejemplos de estas bacterias: *Alcaligenes viscolactis**, *Enterobacter aerogenes*, y *Klebsiella oxytoca*, que producen la alteración viscosa de la leche, las especies de *Leuconostoc*, que producen mucílago en las soluciones de sacarosa, y el crecimiento en la superficie de los alimentos de varias bacterias que producen mucílago. En algunas especies de *Streptococcus* y de *Lactobacillus* existen variedades que convierten en mucilaginoso o viscoso a la leche. Un micrococo es el responsable de la viscosidad de las salmueras para curar carnes. Determinadas cepas de *Lactobacillus plantarum* y de otros lactobacilos pueden producir viscosidad en varios productos derivados de frutas, de hortalizas y de granos de cereales, como es el caso de la sidra, del sauerkraut y de la cerveza. Determinadas especies de *Bacillus* producen la viscosidad del pan.

Bacterias que producen gas

Algunas especies de bacterias producen cantidades tan insignificantes de gas y lo producen tan lentamente, que normalmente no se detecta. A veces esto es propio de las bacterias lácticas heterofermentativas, aunque en otras condiciones la producción de gas resulta evidente. Entre los géneros en los que existen bacterias que producen gas se incluyen *Leuconostoc*, *Lactobacillus* (heterofermentativos), *Propionibacterium*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Bacillus* (aerobacilos), y *Clostridium*. Las bacterias de los tres primeros géneros sólo producen dióxido de carbono, mientras que las de los demás géneros producen dióxido de carbono e hidrógeno.

Coliformes y grupo de coliformes fecales

Los coliformes son bacilos cortos que se han definido como bacterias aerobias o anaerobias facultativas que fermentan la lactosa con producción de gas. Las principales especies de bacterias coliformes son *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*; no obstante, las especies que es posible que se ajusten a estos criterios, son más de veinte, encontrándose entre las mismas especies de otros géneros de la familia *Enterobacteriaceae* e incluso especies de *Aeromonas*. El grupo de coliformes fecales incluye a los coliformes capaces de crecer a temperatura elevada (44,5 ó 45°C). El primer objetivo de las pruebas de incubación a temperatura elevada fue la diferenciación de los coliformes de origen fecal de los que no tienen origen fecal. Las denominaciones «coliforme fecal» y «coliforme» no tienen validez taxonómica; estos términos sirven más bien para designar a grupos de bacterias capaces de crecer en condiciones experimentales específicas.

Se utilizan mucho las técnicas de recuento de coliformes y de recuento de coliformes fecales e incluso la de recuento de *E. coli* en alimentos, habiéndose admitido como recuentos indicadores del grado de contaminación. El uso de microorganismos «indicadores» se inició con la determinación de *E. coli* en el agua, como prueba sustitutoria de la determinación de *Salmonella typhi*. El concepto de microorganismos indicadores se basa en la afirmación hecha por Sharding en el año 1892 según la cual las bacterias de las especies que hoy denominamos *E. coli* podían ser utilizadas como índice o indicadores de contaminación fecal, ya que podían ser aisladas con mayor facilidad que las especies de *Salmonella*. Otros grupos de bacterias indicadoras y otras pruebas ideadas o utilizadas incluyen los estreptococos fecales o enterococos, las *Enterobacteriaceae*, los estafilococos (indicando la posible presencia de la enterotoxina de *S. aureus* o un mal manejo), y la presencia de *Geotrichum candidum*, el moho de las máquinas, como indicador del estado de limpieza de la planta industrial o del grado de contaminación del equipo.

Algunas de las propiedades que determinan que las bacterias coliformes sean importantes en las alteraciones que experimentan los alimentos son: (1) Su capacidad para crecer en sustratos muy distintos y para utilizar como fuente de energía algunos hidratos de carbono y algunos otros compuestos orgánicos y, como fuente de nitrógeno, algunos compuestos nitrogenados bastante sencillos, (2) su capacidad para sintetizar la mayoría de las vitaminas que necesitan, (3) la capacidad de las bacterias de este grupo para crecer perfectamente dentro de un intervalo de temperaturas bastante amplio, desde temperaturas inferiores a 10°C hasta una temperatura próxima a los 46°C, (4) su capacidad para producir importantes cantidades de ácido y gas a partir de azúcares, (5) su capacidad para producir sabores desagradables, definidos a veces como «a sucio» o «a establo», y (6) la capacidad de *E. aerogenes* para producir mucosidad o viscosidad.

BIBLIOGRAFIA

- Ainsworth, G. C., F. K. Sparrow, and A. L. Sussman (eds.). 1973. The fungi: An advanced treatise. Volume IVB, A taxonomic review with keys: *Basidiomycetes* and lower fungi. Academic Press, Inc., New York.
- Barnett, H. L. 1955. Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company, Minneapolis.
- Barnett, J. A., and R. J. Pankhurst. 1974. A new key to the yeasts. North-Holland Publishing Co., Amsterdam.
- Barnett, J. A., R. W. Payne, D. Yarrow. 1983. Yeast characteristics and identification. Cambridge University Press, Cambridge.
- Bessey, E. A. 1950. Morphology and taxonomy of fungi. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Beuchat, L. R. 1978. Food and beverage mycology. AVI Publishing Company, Inc., Westport, Conn.
- Buchanan, R. E., and N. E. Gibbons. 1974. Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- Burnett, J. H. 1968. Fundamentals of mycology. St. Martin's Press, New York.
- Carr, J. G., C. V. Cutting, and G. C. Whiting (eds.). 1975. Lactic acid bacteria in beverages and food. Academic Press, Inc., New York.
- Cheung, B. A., and D. C. Westhoff. 1983. Isolation and identification of ropy bacteria from raw milk. *J. Dairy Sci.* 66:825-834.
- Cook, A. H. (ed.). 1958. The chemistry and biology of yeasts. Academic Press, Inc., New York.
- Foster, J. W. 1949. Chemical activities of fungi. Academic Press, Inc., New York.
- Funder, S. 1968. Practical mycology. 3rd rev. ed. Haffner Press, New York.
- Gerhardt, P., R. N. Costilow, and H. L. Sadoff (eds.). 1975. Spores. Volume VI. American Society for Microbiology, Ann Arbor, Mich.
- Gilman, J. C. 1945. A manual of soil fungi. Iowa State College Press, Ames.
- Hankin, L., and G. H. Lacy. 1984. Pectinolytic microorganisms. In M. L. Speck (ed.), Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 2d ed., chap. 15. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Krieg, N. R., and J. G. Holt. 1984. Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 1. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- Lodder, J. 1984. General classification of the yeasts. In J. Lodder (ed.), The yeasts. 3d ed. North-Holland Publishing Co., Amsterdam.
- Mehlman, I. J. 1984. Coliforms, fecal coliforms, *Escherichia coli* and enteropathogenic *E. coli*. In M. L. Speck (ed.), Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 2d ed., chap. 25. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Mrak, E. M., and H. J. Phaff. 1948. Yeasts. *Annu. Rev. Microbiol.* 2:1-46.
- Nelson, F. E., and K. M. Sorrells. 1984. Thermophilic microorganisms. In M. L. Speck (ed.), Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 2d ed., chap. 10. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Onishi, H. 1963. Osmophilic yeasts. *Adv. Food Res.* 12:53-94.

- Pelczar, M. L., and R. D. Reid. 1972. Microbiology. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Raper, K. B., and D. I. Fennell. 1965. The genus *Aspergillus*. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- Raper, K. B., and C. Thom. 1949. A manual of the penicillia. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- Rose, A. H., and J. S. Harrison. 1970. The yeasts. Volume III. Yeast technology. Academic Press, Inc., New York.
- Rose, A. H., and J. S. Harrison. 1971. The yeasts. Volume II. Physiology and biochemistry of yeasts. Academic Press, Inc., New York.
- Sampson, R. A., E. S. Hoehstra, and C. A. N. van Oorschot. 1984. Introduction to food-borne fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Netherlands.
- Scott, W. J. 1957. Water relations of food spoilage microorganisms. *Adv. Food Res.* 7:83-127.
- Smith, J. E., and D. R. Berry (eds.). 1975. Industrial mycology. Volume I. The filamentous fungi. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Sneath, P. H. A., N. S. Mair, M. E. Sharpe, and J. G. Holt (eds.). 1986. Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 2. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- Stanier, R. Y., E. A. Adelberg, and J. Ingraham. 1976. The microbial world. 4th ed. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J.
- Thatcher, F. S., and D. S. Clark (eds.). 1968. Microorganisms in foods. Volume I. Their significance and methods of enumeration. University of Toronto Press, Toronto.
- Toshinobu, A. 1968. Acetic acid bacteria: classification and biochemical activities. University Park Press, Baltimore.

Capítulo 3

Contaminación de los alimentos

En la superficie de las plantas en crecimiento existe una flora microbiana típica que se puede contaminar por el aporte de microorganismos de procedencia extraña. De igual forma, los animales poseen una flora microbiana superficial típica más una flora intestinal, eliminan microorganismos en sus excreciones y secreciones, contaminándose también por microorganismos de procedencia extraña. Sin duda, tanto las plantas como los animales que padecen enfermedades parasitarias* albergan el patógeno que produce la enfermedad. No obstante, se ha señalado que los tejidos internos sanos de las plantas y de los animales contienen pocos microorganismos vivos o son estériles. En la Tabla 3.1 se indican los microorganismos de varias procedencias naturales.

POR LAS VERDURAS Y POR LAS FRUTAS

La flora propia de la superficie de las plantas es distinta en cada una de las mismas, aunque normalmente incluye especies de *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* y *Micrococcus*, así como especies de coliformes y bacterias

* N. del T.: Sin duda el calificativo «parasitarias» se debe interpretar aquí en su sentido más amplio, ya que se utiliza para designar a cualquier enfermedad producida por cualquier tipo de microorganismo.

Tabla 3.1. Fuentes de contaminación bacteriana.

	Personas				Animales				Agua		Suelo	Alimentos	
	Piel	Intestino	Heces	Otras	Piel	Intestino	Heces	Otras	Salada	Dulce			
<i>Acetobacter</i>												+	
<i>Acinetobacter</i>	+	+	+	+								+	+
<i>Aeromonas</i>			+	+		+	+					+	+
<i>Alcaligenes</i>		+				+			+	+	+	+	+
<i>Alteromonas</i>					+				+				+
<i>Arthrobacter</i>												+	
<i>Bacillus</i>			+				+		+	+	+	+	+
<i>Brevibacterium</i>			+		+				+		+	+	+
<i>Brochotrix</i>					+		+					+	+
<i>Campylobacter</i>		+	+	+		+	+	+			+	+	+
<i>Clostridium</i>		+				+			+	+	+	+	+
<i>Corynebacterium</i>	+		+	+	+			+					+
<i>Desulfotomaculum</i>								+		+	+	+	+
<i>Enterobacter</i>			+	+			+	+		+	+	+	+
<i>Erwinia</i>				+			+					+	+
<i>Escherichia</i>		+				+							+
<i>Flavobacterium</i>				+				+	+	+	+		
<i>Gluconobacter</i>												+	+
<i>Halobacterium</i>									+				
<i>Klebsiella</i>		+				+						+	
<i>Lactobacillus</i>		+	+	+		+	+	+					+
<i>Leuconostoc</i>													+
<i>Listeria</i>		+	+	+		+	+	+				+	+
<i>Microbacterium</i>												+	
<i>Micrococcus</i>	+				+						+	+	
<i>Moraxella</i>	+			+				+					+
<i>Pediococcus</i>									+				+
<i>Photobacterium</i>							+	+					
<i>Propionibacterium</i>	+	+	+	+		+	+	+				+	
<i>Proteus</i>			+				+					+	
<i>Pseudomonas</i>				+					+	+	+		
<i>Salmonella</i>		+	+		+	+			+				
<i>Serratia</i>										+	+	+	+
<i>Shigella</i>		+				+							
<i>Staphylococcus</i>	+			+	+							+	+
<i>Streptococcus</i>		+	+	+	+	+		+					+
<i>Vibrio</i>		+				+			+	+			
<i>Yersinia</i>		+	+	+		+		+					+

lácticas. Las bacterias del ácido láctico, o bacterias lácticas, incluyen las especies *Lactobacillus brevis* y *L. plantarum*, *Leuconostoc dextranicum* y *L. mesenteroides*, y *Streptococcus faecium* y *S. faecalis*. También pueden existir especies de *Bacillus*, levaduras y mohos. El número de bacterias existentes dependerá de la planta y del medio, pudiendo oscilar desde unos pocos cientos o miles por centímetro cuadrado de superficie, hasta millones. En la superficie de un tomate perfectamente lavado, por ejemplo, puede haber de 400 a 700 microorganismos por centímetro cuadrado, mientras que uno que no se hubiese lavado podría contener varios miles. Los tejidos externos de la col sin lavar podrían contener de 1 a 2 millones de microorganismos por gramo, pero la col lavada y troceada podría contener de 200.000 a 500.000. Los tejidos internos de la col, cuyas hojas albergarían en su superficie principalmente la flora propia, contienen menor número de especies y menor cantidad de microorganismos, cuyo número oscila desde algunos cientos a 150.000 por gramo. Las superficies expuestas de las plantas se contaminan por el suelo, por el agua, por las aguas residuales, por el aire y por los animales, de forma que los microorganismos de las citadas procedencias se incorporan a la flora propia. Siempre que se den las condiciones apropiadas para el crecimiento de los microorganismos, determinadas especies de los mismos aumentan en número, sobre todo después de la recolección. Se ha comprobado que algunas frutas albergan en su interior microorganismos viables. En tomates normales sanos se han encontrado *Pseudomonas*, coliformes, *Achromobacter**, *Micrococcus* y *Corynebacterium*, habiéndose encontrado levaduras en el interior de las frutas intactas. También se han encontrado microorganismos en la raíz y en los tubérculos sanos.

POR LOS ANIMALES

Los microorganismos de origen animal proceden de su flora superficial, de la flora de sus vías respiratorias y de la flora de su tubo gastrointestinal. La flora microbiana propia de la superficie corporal de los animales productores de carne no suele tener tanta importancia como los microorganismos contaminantes del tubo intestinal y de las vías respiratorias. Sin embargo, la piel, las pezuñas y el pelo, no sólo contienen una gran cantidad de microorganismos procedentes del suelo, del estiércol, de los piensos y del agua, sino también especies importantes de microorganismos que alteran los alimentos. Las plumas y las patas de las aves de corral contienen una importante contaminación de procedencia parecida. La piel de muchos animales productores de carne puede contener micrococcos, estafilococos y estreptococos beta-hemolíticos. Los estafilococos existentes en la piel o los procedentes de las vías respiratorias pueden ir a parar a la canal y, por consiguiente, al nuevo producto final. Las heces y los alimentos de origen animal contaminados por las mismas pueden contener diversos microorganismos enté-

ricos, incluso del género *Salmonella*. Las salmonelosis de los animales pueden ser la causa de que se contaminen los productos y subproductos animales y, de este modo contaminar con *Salmonella* los alimentos derivados de los mismos.

Las canales de cerdo y las canales de bóvidos pueden estar contaminadas con salmonelas. Gracias a los tratamientos y manipulaciones a que posteriormente se someten, son muy pocos los microorganismos de esta procedencia que producen salmonelosis en el hombre. De hecho, no es frecuente relacionar la carne de los animales sacrificados con la salmonelosis humana. Las estadísticas de los últimos años la han atribuido con mayor frecuencia a los huevos y sus productos derivados. El número de casos de salmonelosis humana relacionados con el consumo de huevos, ha disminuido debido a la pasteurización de los productos derivados de los mismos.

Algunos de los agentes que producen enfermedades infecciosas en los animales pueden ser transmitidos a las personas por los alimentos, aunque éste modo de transmisión sólo representa una de las varias vías de infección. Algunas de estas enfermedades han disminuido o han sido erradicadas mejorando los sistemas de producción animal, aunque la lista de agentes que producen enfermedades en los animales y que son causa de infecciones alimentarias incluiría a *Brucella*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Coxiella*, *Listeria*, *Campylobacter*, estreptococos beta-hemolíticos, *Salmonella*, *Escherichia coli* enteropatógeno, parásitos y virus.

Los animales, desde las formas más sencillas a las más evolucionadas, aportan al suelo y al agua, y a las plantas que crecen en estos medios, sus excretas y, finalmente, su propio organismo. Se ha prestado poca atención a esta forma de contaminación directa de las plantas utilizadas como alimento, excepto por lo que se refiere a las bacterias coliformes y a los enterococos que pudieran incorporar. Los insectos y los pájaros producen daños físicos en las frutas y hortalizas y aportan microorganismos, iniciando de esta forma el proceso de la alteración microbiana.

POR LAS AGUAS RESIDUALES

Cuando en el abonado de los cultivos se utilizan aguas residuales domésticas sin tratar, existe la posibilidad de que los alimentos vegetales recién cosechados estén contaminados por microorganismos patógenos para el hombre, sobre todo por aquéllos que producen trastornos gatrointestinales. En algunas partes del mundo todavía se emplea como abono el «contenido de las letrinas», aunque esta práctica es rara en los Estados Unidos. Además de la posibilidad de que los alimentos estén contaminados por patógenos procedentes de las aguas residuales, también los pueden contaminar otros microorganismos de esta misma procedencia, como por ejemplo bacterias coliformes, bacterias anaerobias, ente-

rococos, otras bacterias intestinales y virus. Las aguas naturales contaminadas con aguas residuales aportan sus microorganismos a los mariscos, al pescado y a otros alimentos de origen marino.

Las aguas residuales tratadas que van a parar al suelo o al agua también aportan microorganismos, aunque, en comparación con las aguas residuales no tratadas, deben contener una menor cantidad total de microorganismos y un menor número de patógenos.

POR EL SUELO

El suelo contiene la mayor variedad de microorganismos procedentes de todas las fuentes de contaminación. Siempre que los microbiólogos buscan nuevas especies de microorganismos o cepas nuevas con finalidades especiales, lo primero que suelen hacer es estudiar el suelo. En los suelos fértiles, no sólo existen gran número de especies de microorganismos, sino que también existe un elevado número total de los mismos, dispuestos a contaminar la superficie de las plantas que crecen sobre él o en su interior y la superficie de los animales que se desplazan sobre la tierra firme. El polvo del suelo es levantado por las corrientes de aire, y las partículas de tierra son arrastradas por las corrientes de agua para alcanzar el interior o la superficie de los alimentos. El suelo es una importante fuente de bacterias esporógenas termorresistentes. No se pretenderá dar una lista de los microorganismos importantes en microbiología de los alimentos que podrían tener su origen en el suelo, aunque se puede afirmar con certeza que casi todos los microorganismos importantes pueden proceder del suelo. Son especialmente importantes algunos mohos y levaduras y algunas especies de los géneros bacterianos *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Chromobacterium*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Acetobacter*, y también algunas bacterias superiores como son los actinomicetos y las bacterias ferruginosas.

Los actuales sistemas de tratamiento de los alimentos suelen incluir el lavado de la superficie de los alimentos y de aquí que se elimine de la misma gran parte de la tierra, a la vez que se procura evitar su contaminación por el polvo del suelo.

POR EL AGUA

Las aguas naturales no sólo contienen su propia flora microbiana, sino que también contienen microorganismos procedentes del suelo y posiblemente microorganismos procedentes de los animales y de las aguas residuales. En las

aguas **superficiales** de los ríos y embalses y en las aguas **estancadas** de los lagos y grandes lagunas, el contenido de microorganismos es muy variable, pudiendo encontrarse desde varios millones por mililitro después de una tormenta de lluvia, hasta un número relativamente bajo, como consecuencia de la autodepuración que tiene lugar en los lagos y lagunas de aguas tranquilas y en los cursos de agua. Las aguas **subterráneas** de los manantiales y pozos han atravesado estratos rocosos y mantos de tierra hasta un determinado nivel, habiendo sido eliminadas de las mismas, por lo tanto, la mayoría de las bacterias, y también la mayor parte de otras partículas en suspensión. El número de bacterias de estas aguas puede oscilar desde unas pocas hasta varios cientos por mililitro.

Las especies bacterianas existentes en las aguas naturales son principalmente especies de los géneros *Pseudomonas*, *Chromobacterium*, *Proteus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus* (enterococos), *Enterobacter* y *Escherichia*. Es probable que las bacterias pertenecientes a los tres últimos géneros, más que parte integrante de su flora propia, sean contaminantes. Cuando las bacterias de los citados géneros se encuentran en el agua que rodea a los peces y a otros seres vivos marinos, colonizan en su superficie y en su tubo digestivo.

El microbiólogo de alimentos está interesado en dos aspectos de la bacteriología del agua: (1) aspectos de salud pública y (2) aspectos económicos. Desde el punto de vista de la salud pública, el agua que se utiliza en los distintos tratamientos a que se someten los alimentos debe ser totalmente inocua para beber, es decir, exenta de patógenos. Las pruebas correspondientes a las bacterias indicadoras se pueden confirmar y completar mediante las técnicas descritas por la American Public Health Association (1985). *Escherichia coli*, que se considera con mayor frecuencia de origen intestinal, se puede diferenciar de *Enterobacter aerogenes*, que se encuentra en la superficie de la plantas y en el suelo con una frecuencia mayor que en el contenido intestinal. Algunos laboratorios de control realizan periódicamente recuentos totales en placa y pruebas para coliformes en el agua, y le añaden mayor cantidad de cloro en cuanto existe el primer indicio de que hay algo que puede ir mal. De hecho, algunas bacterias no fermentativas, como son las especies de *Pseudomonas*, crecen en el agua de las orillas y de aquí que no se descubran mediante las técnicas tradicionales para la determinación de coliformes; por esta razón son importantes los recuentos totales en placa. Se realiza la cloración del agua de bebida cuando existe cualquier duda acerca de su calidad sanitaria, oscilando la proporción final de cloro en el agua entre 0,025 y 2 ó más partes de cloro libre por millón, según la composición del agua y su grado de contaminación.

Desde el punto de vista económico, es deseable un tipo de agua que reúna los criterios químicos y bacteriológicos apropiados para utilizarla en el tratamiento del alimento que se está manipulando o elaborando. El agua debe tener un sabor, un olor, un color, una transparencia, una composición química y un contenido aceptable de bacterias, y se debe disponer del suficiente volumen de la misma a la temperatura apropiada; asimismo, su composición química debe ser constante. La composición química apropiada depende de su grado de dureza y de su

alcalinidad, así como de su contenido de materia orgánica, de hierro, de manganeso y de flúor.

Como ya se ha expuesto, el agua que se utiliza en los distintos tratamientos a que se someten los alimentos debe ajustarse a los patrones bacteriológicos del agua de bebida y debe ser aceptable tanto desde el punto de vista higiénico como desde el punto de vista económico. No obstante, el agua generalmente tiene mayor importancia desde el punto de vista de las especies de microorganismos que puede añadir al interior o a la superficie de los alimentos, que desde el punto de vista del número total que de los mismos puede aportar. La contaminación puede tener su origen en el agua que se utiliza como ingrediente, en la que se utiliza para lavar los alimentos, en la que se utiliza para enfriar los alimentos que han sido sometidos a tratamiento térmico, y en la que se utiliza para fabricar el hielo que se emplea para conservar los alimentos. Para cada producto alimenticio habrá determinados microorganismos a los cuales hay que temer de forma especial. Las bacterias coliformes aerógenas pueden pasar a la leche desde el agua del tanque de refrigeración y producir alteración en el queso que se elabora al utilizar esta leche contaminada. Los anaerobios aerógenos se pueden introducir en los alimentos con el agua que contiene abundantes partículas de tierra. El agua de refrigeración de las conservas enlatadas suele contener coliformes y otras bacterias que producen alteraciones, las cuales se pueden introducir en los alimentos enlatados, durante su enfriamiento, a través de pequeñas imperfecciones de las soldaduras o cierres de las latas. Normalmente, este agua ha sido tratada con cloro, aunque se han citado casos en los que, con el transcurso del tiempo, puede contener una flora microbiana resistente al cloro. Las bacterias que producen viscosidad en la leche, por ejemplo, *Alcaligenes viscolactis** y *Enterobacter aerogenes*, suelen proceder del agua, lo mismo que las especies de *Achromobacter**, *Alcaligenes* y *Pseudomonas* que producen mucílago, las cuales alteran el requesón. La bacteria que produce las manchas de la mantequilla, *Pseudomonas putrefaciens**, procede principalmente del agua. Las bacterias ferruginosas, cuya envoltura celular contiene hidróxido férrico, pueden inutilizar totalmente la instalación de agua y su eliminación resulta difícil. La flora bacteriana del hielo triturado que se utiliza para conservar el pescado y otros alimentos, está integrada principalmente por especies de los géneros *Corynebacterium*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* y *Pseudomonas*, y por cocos.

Por cuanto se acaba de exponer, es evidente que cuando se construye una planta industrial destinada a la manipulación y elaboración de alimentos, es importante elegir una ubicación que cuente con un buen abastecimiento de agua, siendo necesario con frecuencia tratarla con el fin de que adquiera la calidad conveniente, tanto química como bacteriológica. Se deben proteger las conducciones de agua contra la contaminación por aguas residuales. El agua se puede purificar por sedimentación en embalses o estanques, por filtración a través de filtros de arena o filtros más finos, por cloración, mediante rayos ultravioleta, o por ebullición. Si bien la filtración eficaz reduce de forma importante el contenido microbiano del agua, a veces, los filtros pueden ser la causa de que ésta se con-

tamine con bacterias perjudiciales. Esta es la razón de que, a veces, se haya comprobado que los filtros utilizados en la fabricación de bebidas refrescantes para filtrar el agua incorporen a ésta una gran cantidad de bacterias coliformes. En la fabricación de bebidas refrescantes se han utilizado los rayos ultravioleta para tratar el agua.

POR EL AIRE

La contaminación de los alimentos por el aire puede tener importancia tanto por razones higiénicas como por razones económicas. Los microorganismos patógenos, en especial los que producen infecciones respiratorias, pueden ser transmitidos a los empleados por el aire, o bien pueden contaminar los alimentos. Si bien la cantidad de microorganismos añadidos a los alimentos por sedimentación de las partículas que contiene el aire suele ser insignificante, éste puede aumentar el número total de los mismos en un determinado alimento, sobre todo si se utiliza para airear el producto, cosa que ocurre en los cultivos de la levadura del pan. Los microorganismos que alteran los alimentos pueden tener su origen en el aire, lo mismo que aquéllos que perjudican a las fermentaciones. Las esporas de mohos del aire pueden representar un inconveniente en el queso, en la carne, en la leche condensada azucarada, en el pan en rebanadas y en las lonchas de bacon.

Origen de los microorganismos del aire

El aire carece de una flora microbiana propia, ya que todos los microorganismos que contiene han llegado a él de forma accidental y normalmente están adheridos a la superficie de partículas sólidas en suspensión o en el interior de gotitas de agua. Los microorganismos llegan al aire junto con partículas de polvo o hilas; con partículas de tierra seca; con el aerosol de ríos, lagos u océanos; con las gotitas de agua que se forman al estornudar, toser o hablar; con las esporas de los mohos que crecen en las paredes, en los techos, en los suelos, en los alimentos y en los ingredientes. Esta es la razón de que el aire de las proximidades de una planta industrial que produce levaduras suela contener gran cantidad de estos microorganismos, y de que el aire ambiental de una planta lechera pueda contener bacteriófagos o, por lo menos, bacterias de los cultivos estériles que se están utilizando en ella.

Clases de microorganismos existentes en el aire

Los microorganismos existentes en el aire no tienen oportunidad para multiplicarse, sino que simplemente permanecen en él, razón por la cual, las clases más resistentes a la desecación serán las que sobrevivirán durante más tiempo. En el

aire se suelen encontrar esporas de mohos, por ser de pequeño tamaño, por su resistencia a la desecación, y por producir cada micelio de moho una gran cantidad de las mismas. Algunas esporas de mohos no absorben con facilidad la humedad y, por lo tanto, en una atmósfera húmeda, la probabilidad de que sedimenten es menor que cuando se trata de partículas que absorben fácilmente la humedad. Es posible que cualquier especie bacteriana se encuentre en suspensión en el aire, sobre todo adherida a partículas de polvo o incluida en gotitas de agua, aunque, en el aire en reposo, algunas especies se encuentran con mayor frecuencia que otras. Generalmente, los cocos se encuentran en el aire en mayor número que las bacterias de forma bacilar, mientras que en el aire exento de polvo es relativamente poco frecuente encontrar esporas bacterianas. En la mayoría de las muestras de aire se encuentran levaduras, sobre todo por lo que se refiere a las cromógenas que no producen esporas. Como es natural, siempre que existan partículas sólidas o líquidas de distintos materiales que se eleven en el aire, en él se encontrarán los microorganismos típicos de los mismos: microorganismos del suelo procedentes de la tierra y del polvo, microorganismos del agua procedentes de aerosoles de agua, microorganismos de las plantas procedentes de los piensos o del polvo de los forrajes, etc.

Carga microbiana del aire

El número de microorganismos existentes en el aire en un momento dado depende de factores tales como la velocidad con que se desplaza, la intensidad de la luz solar, su grado de humedad, la situación geográfica, y la cantidad de partículas sólidas o líquidas que contiene en suspensión. Su número oscila desde menos de uno por pie cúbico* en una cumbre montañosa hasta varios miles en el aire que contiene mucho polvo. En el aire en reposo, sedimentan tanto los microorganismos que no se encuentran adheridos a partícula alguna, como los que se encuentran en las partículas de polvo o en las gotitas en suspensión; recíprocamente, las corrientes de aire incorporan microorganismos al mismo. Por consiguiente, el número de microorganismos existentes en el aire aumenta como consecuencia de las corrientes de aire que se producen al desplazarse las personas, como consecuencia de la ventilación, y como consecuencia de las brisas. La luz solar directa destruye los microorganismos que se hallan en suspensión en el aire, reduciendo por tanto su número. Una atmósfera seca suele contener una cantidad de microorganismos mayor que la de una atmósfera de características parecidas que contenga humedad. La lluvia y la nieve eliminan microorganismos de la atmósfera, de forma que, teóricamente, una lluvia intensa y sostenida puede eliminar de la atmósfera todos los microorganismos.

Según un estudio realizado por Heldman (1974) sobre la contaminación de los alimentos por el aire, los resultados de distintos análisis indican: (1) que la población microbiana de distintas plantas industriales es parecida, (2) que las

*N. del T.: 1 pie cúbico = 0,0283 m³.

poblaciones de microorganismos varían extraordinariamente en cuanto a su número en las distintas zonas de una misma planta, (3) que las poblaciones de una determinada planta dependen de la calidad del aire de la atmósfera exterior, y (4) que el número de microorganismos de las poblaciones está relacionado con el grado de actividad de las personas que trabajan en la planta.

Tratamiento del aire

Se ha señalado que es posible que, en la naturaleza, el número de microorganismos del aire disminuya como consecuencia de su sedimentación, de la acción de la luz solar y del lavado de la atmósfera por la lluvia o por la nieve. Es posible que la eliminación de los microorganismos del aire por procedimientos artificiales se ajuste a estos principios o se base en la filtración, en el tratamiento químico, en el calentamiento o en la precipitación electrostática. De los procedimientos citados, el utilizado con mayor frecuencia es la filtración a través de distintos tipos de fibras, por ejemplo, de algodón, de fibra de vidrio, etc., o a través de carbón activado. Los filtros de fibra se sustituyen periódicamente, o bien se esterilizan por medio de calor o con un gas. El lavado de los mismos mediante pulverizaciones de agua o haciendo borbotear aire a través del agua no son sistemas de lavado eficaces, razón por la cual rara vez se emplean solos. Cada vez se utilizan más los procedimientos químicos de tratamiento del aire. En ciertos sitios se recurre al sistema de hacer pasar el aire a través de túneles provistos de filas de lámparas ultravioleta o se instala este tipo de lámparas en un determinado espacio o en una determinada zona en la que se teme va a tener lugar la contaminación por el aire. También se han conseguido buenos resultados con la precipitación electrostática de las partículas de polvo y de los microorganismos del aire. El tratamiento térmico del aire utilizando temperaturas muy elevadas ha dado buenos resultados, pero es caro.

Una vez han sido eliminados los microorganismos del aire, se deben tomar precauciones para evitar que se vuelva a contaminar. El mantenimiento de una presión positiva en los locales impide la entrada del aire del exterior. La colocación de filtros en los sistemas de ventilación o de acondicionamiento del aire impide la diseminación de microorganismos desde una zona de la planta a otra, mientras que las esclusas de aire con radiaciones ultravioleta en las puertas reducen el número de microorganismos aportados por los obreros.

DURANTE SU MANIPULACION Y TRATAMIENTO

La contaminación natural de los alimentos que acabamos de estudiar puede tener lugar antes de ser cosechados o almacenados, o bien mientras se manipulan

y se someten a algún tipo de tratamiento. Otras contaminaciones pueden tener origen en el equipo que entra en contacto con los alimentos, en los materiales utilizados para envolverlos, y en el personal. El fabricante procura limpiar e «higienizar» el equipo con el fin de reducir este tipo de contaminación y emplear, para envolverlos, materiales que la reducirán al mínimo. En lugar del término «esterilizar», se utiliza el término «higienizar» por la razón de que, aunque se intente esterilizar el equipo, es decir, eliminar del mismo la totalidad de los microorganismos vivos, rara vez se consigue su esterilidad. La contaminación de los distintos tipos de alimentos durante su manipulación y tratamiento se estudiará en los Capítulos siguientes en los que se estudia cada uno de estos tipos de alimentos. El personal que trabaja en las plantas de industrias que fabrican alimentos puede contaminarlos durante su manipulación y tratamiento. Varios autores señalan que los seres humanos eliminan de 10^3 a 10^4 microorganismos vivos por minuto. El número y tipo de los microorganismos eliminados guardan una íntima relación con el ambiente donde trabajan las personas que los eliminan.

Como quiera que se ha demostrado de forma palpable el papel que desempeña el manipulador de alimentos en los brotes de las enfermedades transmitidas por los alimentos, desde el punto de vista de la salud pública se ha prestado gran atención a la contaminación por esta causa. La Tabla 3.2 pone de manifiesto la posibilidad de que los alimentos sean contaminados por las manos de operarios dedicados a distintas actividades.

Tabla 3.2. Número de operarios dedicados a distintas actividades y cultivos positivos de esafilococos coagulasa-negativos y coagulasa-positivos, de coliformes fecales, y de enterococos obtenidos de sus manos.

<i>Actividad</i>	<i>Número de operarios examinados</i>	<i>Operarios con cultivos positivos</i>	
		<i>Nº</i>	<i>%</i>
Empleo en industrias no alimentarias	200	87	43,5
Industrias alimentarias mecanizadas	127	68	53,5
Servicio de restauración colectiva	207	151	72,9
Panaderías	27	26	96,3
Industrias de quesos madurados	124	114	91,9
Industrias cárnicas	129	125	96,9

Fuente: Seligmann y Rosenbluth (1975).

BIBLIOGRAFIA

- Alexander, M. 1961. Introduction to soil microbiology. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- American Public Health Association. 1985. Standard methods for the examination of water and wastewater. 16th ed., New York.
- Avens, J. S., and B. F. Miller. 1970. Quantifying bacteria on poultry carcass skin. *Poultry Sci.* 49:1309-1315.
- Baldock, J. D. 1975. Microbiological monitoring of the food plant: methods to assess bacterial contamination on surfaces. *J. Milk Food Technol.* 37:361-368.
- Bryan, F. L. 1977. Disease transmitted by foods contaminated by waste water. *J. Food Prot.* 40:45-56.
- Cannon, R. Y. 1966. Populations and types of microorganisms in the air of fluid milk plants. *J. Dairy Sci.* 49:704-709.
- Collins, V. G. 1964. The fresh water environment and its significance in industry. *J. Appl. Bacteriol.* 27:143-150.
- Gainey, P. L., and T. H. Lord. 1952. Microbiology of water and sewage. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J.
- Green, K. M., and D. O. Cliver. 1975. Removal of virus from septic tank effluent. *In* Proceedings of national home sewage disposal symposium. American Society of Agricultural Engineers. St. Joseph, Mich.
- Gregory, P. H. 1961. The microbiology of the atmosphere. Interscience Publishers (Division of John Wiley & Sons, Inc.), New York.
- Heldman, D. R. 1974. Factors influencing air-borne contamination of foods: a review. *J. Food Sci.* 39:962-969.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1980. Microbial ecology of foods. Volume 1. Factors affecting life and death of microorganisms. Academic Press, New York.
- Kitchell, A. G., G. C. Ingram, and W. R. Hudson. 1973. Microbiological sampling in abattoirs. *In* R. G. Board and D. W. Lovelock (eds.), Sampling: Microbiological monitoring of environments. Academic Press, Inc., London.
- Kotula, A. W., and J. A. Kinner. 1964. Air-borne microorganisms in broiler processing plants. *Appl. Microbiol.* 12:179-185.
- Larkin, E. P. 1973. The public health significance of viral infections of food animals. *In* B. C. Hobbs and J. H. B. Christian (eds.), The microbiological safety of foods. Academic Press, Inc., London.
- Moulton, F. R. (ed.). 1942. Aerobiology. American Association for the Advancement of Science, Washington, D.C.
- Mundt, J. O. 1961. Occurrence of enterococci: bud, blossom, and soil studies. *Appl. Microbiol.* 9:541-544.
- Patterson, J. T. 1971. Microbiological assessment of surfaces. *Food Technol.* 6:63-72.
- Samish, Z., R. Etinger-Tulczynska, and M. Bick. 1963. The microflora within the tissue of fruits and vegetables. *J. Food Sci.* 28:259-266.

- Seligmann, R., and S. Rosenbluth. 1975. Comparison of bacterial flora on hands of personnel engaged in non-food and in food industries: a study of transient and resident bacteria. *J. Milk Food Technol.* 38:673-677.
- Sinell, H. J. 1973. Food infection communicated from animal to man. *In* B. C. Hobbs and J. H. B. Christian (eds.), *The microbiological safety of foods*. Academic Press, Inc., London.
- Sproul, O. T. 1973. Quality of recycled water: fate of infectious agents. *J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment.* 6:91-104.
- Sunga, F. C. A., D. R. Heldman, and T. I. Hendrick. 1966. Characteristics of air-borne microorganism populations in packaging areas of a dairy plant. *Mich. Agr. Exp. Stn. Q. Bull.* 49.
- Treanor, A. I. 1978. Water problems in the food industry. *Chem. Ind.* 11:431-437.
- Troller, J. A. 1983. *Sanitation in food processing*. Academic Press, Inc., New York.

100049

Principios generales en los que se basa la alteración de los alimentos: modificaciones químicas ocasionadas por microorganismos

APTITUD O INEPTITUD DE LOS ALIMENTOS PARA EL CONSUMO

¿Cuándo es apto para el consumo un determinado alimento? Según Thom y Hunter (1924), «Un alimento es apto para el consumo si un consumidor entendido, que conozca los antecedentes de su producción y a la vista del propio alimento, está dispuesto a comérselo, y, viceversa, este mismo alimento está alterado cuando este mismo inspector lo rechaza como alimento.» Según esta definición la aptitud de un alimento para el consumo dependerá de la persona que lo examina, razón por la cual un alimento que una determinada persona estaría dispuesta a comérselo, otra no se lo comerá. A determinados sectores del pueblo inglés, por ejemplo, les gusta la carne de caza «pasada», con el intenso sabor que adquiere colgándola, o dejándola envejecer, mientras que la mayoría de los americanos dirían de este tipo de carne que es una carne corrompida. El «titmuck», pescado enterrado que consumen los esquimales, es un alimento semilíquido hediondo que la mayoría de nosotros consideraríamos no comestible. Es posible que personas hambrientas comiesen alimentos que normalmente no comerían. Si bien existen diferencias individuales en cuanto a la opinión acerca de la aptitud de los alimentos para ser consumidos cuando son examinados por diferentes personas, todas ellas coincidirían respecto a determinados criterios que garantizan que son aptos para el consumo:

- 1 *Conveniente estado de desarrollo o madurez.* Las frutas deben tener un cierto grado de madurez, si bien es diferente para cada una de ellas; el maíz dulce debe ser lo suficientemente joven para que sea tierno y lechoso; la carne de aves de corral se obtiene preferentemente de animales que son medianamente jóvenes.
- 2 *Ausencia de contaminación en cualquiera de las fases de su producción o manipulación.* Las hortalizas no se deben consumir crudas si han sido abonadas con aguas residuales; las ostras procedentes de aguas contaminadas con aguas residuales deben ser rechazadas; los alimentos manipulados por operarios sucios o enfermos deben ser despreciados; los alimentos contaminados por moscas o por roedores deben ser considerados sospechosos.
- 3 *Ausencia de modificaciones molestas debidas a la invasión de microorganismos o a la actividad de los enzimas del alimento.* A veces resulta difícil establecer una diferenciación entre lo que es una alteración producida por microorganismos y lo que es un crecimiento, mientras que otras veces el mismo tipo de modificación puede ser considerada perjudicial en un determinado alimento y beneficiosa en otro. Tanto es así, que el ama de casa dice que la leche agria se ha echado a perder y que, en cambio, la nata agria elaborada por fermentación mediante un cultivo de bacterias lácticas, es comestible. La putrefacción de la carne supone una alteración concreta de la misma, si bien las modificaciones producidas por la putrefacción en el queso de Limburger son normales en su proceso de maduración. Es posible que ciertas modificaciones, a las que se les conoce como alteraciones, no sean más que modificaciones del aspecto y propiedades físicas, como ocurre en el marchitamiento de la lechuga y en el ablandamiento de las zanahorias, aunque en estos casos posiblemente el alimento no ha experimentado alteración microbiana y ha habido una insignificante pérdida de su valor nutritivo. No obstante, cada uno de nosotros tiene su propio criterio acerca de si un alimento está alterado, pudiendo, normalmente y sin gran dificultad, llegar a decidir acerca de su aptitud para el consumo.

CAUSAS DE ALTERACION

Cuando se aplica a un alimento el calificativo «alterado» se suele aludir a la putrefacción o descomposición de carácter perjudicial, mientras que a un alimento no apto para el consumo por razones higiénicas no se le suele calificar de alterado. La alteración de los alimentos puede ser debida a una o más de las causas siguientes:

- 1 Multiplicación y actividad de microorganismos (o de formas superiores a veces). Con frecuencia interviene una serie de microorganismos.

- 2 Insectos.
- 3 Actividad de los enzimas, de origen vegetal o de origen animal, existentes en el alimento.
- 4 Reacciones puramente químicas, es decir, no catalizadas por enzimas tisulares ni de procedencia microbiana.
- 5 Modificaciones físicas, como son las producidas por la congelación, por la combustión, por la desecación, por la presión, etc.

La revisión que se hace a continuación se dedicará principalmente a las alteraciones producidas por microorganismos.

CLASIFICACION DE LOS ALIMENTOS POR LA FACILIDAD CON QUE SE ALTERAN

Según la facilidad con que se alteran, los alimentos se pueden incluir en tres grupos:

- 1 *Alimentos estables o no perecederos*. En este grupo de alimentos, que no se alteran, a no ser que se manipulen sin cuidado, se incluyen alimentos como el azúcar, la harina y las alubias secas.
- 2 *Alimentos semiperecederos*. Si este tipo de alimentos se manipulan y conservan de forma apropiada, permanecen sin alterarse durante bastante tiempo, por ejemplo, las patatas, ciertas variedades de manzanas, los nabos suecos de hojas recubiertas por una capa cérea*, y las nueces desprovistas de cáscara.
- 3 *Alimentos perecederos*. Este grupo incluye los alimentos más importantes de consumo cotidiano, los cuales se alteran con facilidad a no ser que se utilicen procedimientos de conservación específicos. Las carnes, el pescado, las canales de aves de corral, la mayoría de las frutas y hortalizas, los huevos y la leche pertenecen a este grupo.

La mayoría de los alimentos se pueden encuadrar en uno de los citados grupos, si bien existen algunos que se encuentran tan próximos al límite que separa unos de otros, que resulta difícil clasificarlos.

*N. del T.: Se trata de una planta anual perteneciente al género *Brassica* de las crucíferas (*Brassica napobrassica*) a la que en nuestro país se le conoce también con la denominación de nabo gallego. Sus raíces tuberosas, largas y de color rojo-amarillento, se utilizan en la alimentación humana y como forraje para los bóvidos y óvidos.

FACTORES QUE INFLUYEN EN EL TIPO Y NUMERO DE MICROORGANISMOS EXISTENTES EN LOS ALIMENTOS

El tipo de alteración de los alimentos, tanto por microorganismos como por enzimas, dependerá del *tipo* y del *número* que de los citados agentes exista en el medio que les rodea. Casi todos los alimentos frescos contienen una serie de bacterias, levaduras y mohos y, según su procedencia, pueden contener enzimas animales o enzimas vegetales. Debido a las condiciones especiales de cada medio, solamente una insignificante cantidad de los distintos tipos de microorganismos existentes será capaz de multiplicarse rápidamente y producir alteraciones en el alimento (generalmente un solo tipo de microorganismo, aunque a veces pueden multiplicarse dos o tres tipos) e incluso es posible que estos microorganismos no existieran en abundancia en el alimento original. Si se permite que continúe la alteración producida por el (los) primer (os) microorganismo (s), es probable que una o más especies de otros microorganismos produzcan alteraciones secundarias, o que en la alteración intervenga una serie de microorganismos que produzcan una serie de modificaciones en el alimento.

El tipo y número de microorganismos que existirán tanto en la superficie como en el interior del alimento, dependerán del tipo y grado de su contaminación, de las oportunidades anteriores que hayan tenido los microorganismos para multiplicarse, y de los tratamientos previos a los que se haya sometido el alimento.

La *contaminación* puede aumentar el número de microorganismos del alimento e incluso puede incorporar al mismo nuevas especies. Tanto es así, que el agua con que se lava la mantequilla puede incorporar a la misma bacterias que producen manchas en su superficie; el equipo de la planta industrial puede incorporar a los alimentos microorganismos que producen alteraciones en los mismos durante las distintas operaciones de su tratamiento; las máquinas lavadoras pueden incorporar microorganismos a los huevos; y los barcos sucios pueden incorporarlos al pescado. El aumento en los alimentos de la «carga biológica» de microorganismos, sobre todo de aquéllos que producen alteraciones, hace que su conservación resulte más difícil; es decir, es más probable que se produzca su alteración y que ésta sea más rápida, e incluso que adopte una forma distinta a la de la alteración que habría aparecido si el alimento no se hubiese contaminado.

Sin duda, la *multiplicación* de los microorganismos en la superficie o en el interior de los alimentos aumentará la carga biológica de microorganismos y es de suponer que en la mayoría de los mismos provocará el incremento máximo de microorganismos más probablemente implicados en su alteración. A la dificultad de evitar la alteración del alimento, se unirá una carga biológica mayor, razón por la cual es posible que influya en el tipo de alteración que cabe esperar.

Los *tratamientos previos* a los cuales se someten los alimentos pueden eliminar o destruir determinados tipos de microorganismos, añadir microorganismos, modificar la proporción de los existentes o inactivar parte o la totalidad de los enzimas, reduciendo por tanto el número de agentes productores de alteraciones

y, por consiguiente, el número de los tipos de alteración posibles. El lavado de los alimentos, por ejemplo, puede eliminar microorganismos de su superficie o puede añadir algunos existentes en el agua que se utiliza para lavarlos. Si se realiza el lavado con una solución antiséptica o germicida, el número de microorganismos se puede reducir de forma importante y se pueden eliminar algunos tipos de los mismos. Los tratamientos con radiaciones, con ozono, con dióxido de azufre, o con vapores germicidas, reducirán su número y actuarán como selectivos al eliminar de los alimentos determinados tipos. Por lo que se refiere a las temperaturas elevadas, conforme aumente la intensidad del tratamiento térmico, cada vez destruirán mayor cantidad de microorganismos y cada vez dejarán menor número de tipos de los mismos. La conservación de los alimentos bajo condiciones no constantes, tanto puede aumentar como reducir la cantidad de microorganismos y el número de sus tipos. Cualquiera de los sistemas de tratamiento citados, así como también otros que no han sido mencionados, influirán en el número, en el tipo, en la proporción y en la vitalidad de los microorganismos de los alimentos.

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA MULTIPLICACION DE LOS MICROORGANISMOS EN LOS ALIMENTOS

Asociaciones de microorganismos

Las *asociaciones* mutuas de microorganismos intervienen en la alteración o en las fermentaciones de la mayoría de los tipos de alimentos. La competición entre las diferentes especies de bacterias, de levaduras y de mohos de un alimento, suele decidir que una de ellas se multiplicará con mayor rapidez que las demás y ocasionará el tipo de alteración que le caracteriza. Si las condiciones del medio son favorables para todas ellas, las bacterias se suelen multiplicar con mayor rapidez que las levaduras, y éstas con mayor rapidez que los mohos. Por consiguiente, las levaduras se multiplican con mayor rapidez que las bacterias únicamente en el caso de que en el alimento original se encuentren en mayor número que las bacterias, o cuando las condiciones del alimento son las apropiadas para retardar la multiplicación bacteriana. Los mohos pueden predominar solamente en el caso de que las condiciones existentes en el alimento sean más apropiadas para su multiplicación que para la de las levaduras y la de las bacterias. Las diferentes especies bacterianas existentes en el alimento compiten entre sí, soliendo aventajar una de ellas a las demás. Asimismo, si las levaduras resultan favorecidas, una de sus especies aventajará a las demás; y por lo que se refiere a los mohos, una de sus especies encontrará condiciones más favorables que las demás. Sin embargo, no siempre los microorganismos son antagónicos o **antibióticos** entre sí, pudiendo a veces ser **simbióticos**, es decir, útiles mutuamente, o pueden crecer de forma simultánea sin que aparentemente se beneficien ni perjudiquen

mutuamente. Dos especies diferentes de microorganismos pueden ser **sinérgicas**; es decir, cuando crecen juntas, son capaces de ocasionar transformaciones, como por ejemplo fermentaciones, que ninguna de las dos podría llevar a cabo creciendo aisladamente. Cuando *Pseudomonas synchyanea** crece sola en la leche, únicamente le comunica un tinte ligeramente parduzco, mientras que *Streptococcus lactis* no modifica el color de la leche; sin embargo, cuando ambos microorganismos crecen juntos, en la leche aparece un color azul claro, resultante de la influencia del pH sobre el pigmento pardo producido por *P. synchyanea*¹. Una consecuencia muy importante de la influencia de un microorganismo sobre otro es el efecto **metabiótico**, fenómeno que aparece cuando un microorganismo crea condiciones favorables para que crezca otro. Es posible que ambos microorganismos crezcan simultáneamente, aunque lo más corriente es que uno de ellos aventaje al otro. La mayoría de las fermentaciones o descomposiciones de los alimentos frescos son ejemplos de metabiosis. A temperatura ambiental, la leche fresca experimenta primeramente una fermentación ácida por *Streptococcus lactis* y por bacterias coliformes, hasta que las bacterias son inhibidas por el ácido que ellas mismas han producido. Seguidamente, los lactobacilos ácidotolerantes aumentan aún más la acidez hasta que su crecimiento se detiene. Después de ello, en la superficie de la leche crecen levaduras formadoras de película y mohos, reduciendo finalmente la acidez para que las bacterias proteolíticas puedan desarrollar su actividad. En el Capítulo 22 se estudia la metabiosis que tiene lugar en la fermentación del sauerkraut. La sucesión de microorganismos que normalmente intervienen en la fermentación de este alimento son: En primer lugar, una flora bacteriana mixta en la que predominan las bacterias coliformes; en segundo lugar, *Leuconostoc mesenteroides*; en tercer lugar, *Lactobacillus plantarum*; y por último, *Lactobacillus brevis*.

Influencia de las condiciones del medio

El medio decide cuál de las diferentes especies de microorganismos existentes en un determinado alimento será la que crezca con mayor rapidez que las demás y ocasione el tipo de modificación o alteración que le caracteriza. Los factores que caracterizan a este medio están relacionados entre sí y la combinación de todos ellos decide tanto los microorganismos que crecerán en él, como los efectos que producirán. Los principales de estos factores son: Las propiedades físicas y químicas del alimento, la existencia de oxígeno, y la temperatura.

Estado físico y estructura del alimento. El estado físico del alimento, su carácter coloidal, el hecho de que haya sido congelado, calentado, humedecido, o desecado, juntamente con su estructura biológica, pueden influir de forma impor-

¹N. del T.: *S. lactis* acidifica la leche por producir ácido láctico.

tante tanto en la posibilidad de que el alimento se altere, como en el tipo de alteración.

El *agua* de un alimento, su localización, y su disponibilidad, constituyen los factores más importantes que influyen en el crecimiento microbiano. El agua puede ser considerada tanto un compuesto químico necesario para el crecimiento de los microorganismos, como una parte integrante de la estructura física del alimento.

En el Capítulo 1 ya se han estudiado las necesidades de humedad de los mohos, de las levaduras y de las bacterias. Se ha puesto de relieve que, para crecer, todos los microorganismos necesitan humedad y que todos ellos crecen de forma más apropiada cuando ésta existe en abundancia en el medio. La humedad debe estar *disponible* para los microorganismos, es decir, no debe ser humedad ligada de alguna forma, como es la humedad ligada por los solutos, o por los coloides hidrófilos, como, por ejemplo, por el agar. Solutos tales como la sal y el azúcar, disueltos en el agua, crean una presión osmótica que tiende a extraer agua de las células si la concentración extracelular de las sustancias disueltas es mayor que su concentración intracelular. Se debe recordar que cuando la humedad relativa del aire en torno al alimento se corresponde con la humedad disponible o actividad agua (a_w) del mismo, éste y la atmósfera que le rodea estarán en equilibrio en cuanto a humedad.

Un alimento seco como es el pan, es más probable que sea alterado por mohos; los jarabes y la miel, con un contenido de azúcar bastante elevado y, por consiguiente, con una a_w reducida, favorecen el crecimiento de levaduras osmófilas; en cambio, los alimentos húmedos neutros, como son la leche, las carnes, el pescado, y los huevos, suelen ser alterados por bacterias. Sin embargo, además de la humedad, para poder pronosticar el tipo de microorganismo capaz de provocar alteración, se deben tener presentes otros factores del medio. El mosto, por ejemplo, puede favorecer el crecimiento de levaduras por su elevada concentración de azúcar y por su bajo pH, si bien permitirá el crecimiento de bacterias si las temperaturas de incubación son excesivamente elevadas o excesivamente bajas para las levaduras fermentativas. Los alimentos refrigerados que están en contacto con el aire pueden enmohecerse, si bien cuando no están en contacto con el aire experimentan alteraciones producidas por bacterias. A pesar de que la concentración de azúcar de la miel es excesivamente elevada para la mayoría de las levaduras, pero no para ciertos mohos, rara vez es alterada por estos últimos por contener sustancias fungistáticas.

Una a_w tan baja como es la de valor 0,70 hace que sea improbable cualquier alteración por microorganismos de un alimento mantenido a temperatura ambiente. Este es aproximadamente el nivel de humedad disponible de la leche en polvo con un porcentaje de humedad total del 8 por cien, de los huevos completos desecados con un 10 a 11 por cien, de la harina con un 13 a 15 por cien, de la leche descremada en polvo con un 15 por cien, de la carne deshidratada y desengrasada con un 15 por cien, de las semillas de las leguminosas con un 15 por cien, de las hortalizas deshidratadas con un 14 a 20 por cien, de las frutas deshidratadas con un 18 a 25 por cien, y del almidón con un 18 por cien (Mossel e Ingram, 1955).

Es posible que los microorganismos que crecen en los alimentos modifiquen el porcentaje de humedad disponible mediante la liberación de agua procedente de sus actividades metabólicas, o modificando el sustrato para liberar agua. En la producción de viscosidad en el pan, por ejemplo, se supone que *Bacillus subtilis* provoca la liberación de agua como consecuencia de la descomposición del almidón, creando de esta forma condiciones más favorables para su propio crecimiento. La destrucción de tejidos que retienen humedad, como ocurre en las frutas invadidas por mohos, puede poner agua a disposición de las levaduras o de las bacterias.

La congelación de los alimentos no sólo evita la multiplicación de las bacterias si la temperatura es suficientemente baja, sino que también es probable que dañe los tejidos, de forma que los jugos que se liberan al descongelarlos favorecen la multiplicación bacteriana. La congelación también incrementa la concentración de solutos en la fracción que todavía permanece sin congelar conforme va descendiendo la temperatura, retarda, y finalmente detiene la multiplicación de aquellos microorganismos capaces de multiplicarse a temperaturas inferiores a 0°C. Asimismo, la congelación lleva a cabo la separación del agua de los coloides hidrófilos que no se reabsorbe totalmente durante la descongelación.

El tratamiento térmico puede modificar no sólo la composición química de los alimentos, sino también su estructura por ablandar los tejidos; por liberar o ligar agua; por destruir o por formar soluciones coloidales, geles o emulsiones; y por modificar la permeabilidad a la humedad o al oxígeno. Se pueden desnaturalizar las proteínas, y, por consiguiente, pueden ser utilizadas por algunos microorganismos en mayor cantidad que la que era utilizada cuando se encontraban en su estado original. Liberando humedad, tanto el almidón como las proteínas se pueden gelificar y se descomponen con mayor facilidad. Por las razones expuestas, los alimentos cocidos se suelen descomponer con mayor facilidad que los alimentos frescos de los cuales proceden.

Si bien las modificaciones de los componentes coloidales de los alimentos pueden ser originadas por tratamientos distintos a la congelación y al tratamiento térmico, por ejemplo, mediante el tratamiento con ondas sónicas, los resultados que se obtienen con todos ellos son parecidos. Las emulsiones de grasas en agua es más probable que se alteren, y la alteración se extenderá con mayor rapidez cuando el agua es la fase continua y la grasa la fase discontinua, como por ejemplo en la salsa francesa¹, en comparación con lo que sucede en la mantequilla, en la que la afirmación inversa es cierta².

En el Capítulo 1 se ha estudiado la influencia que ejerce la estructura biológica de los alimentos en la protección de los mismos frente a las alteraciones.

¹N. del T.: Salsa utilizada para aderezar ensaladas e incluso asados de carne, elaborada a base de aceite y vinagre, sazonada con sal, pimienta y mostaza u otras especias.

²N. del T.: La mantequilla es una emulsión de este tipo en la que la fase continua es la grasa y la fase discontinua es el agua. De aquí que en este producto lácteo, las alteraciones se extiendan con menor rapidez que en la salsa francesa.

Propiedades químicas de los alimentos. La composición química de un alimento determina el grado de idoneidad que tendrá como medio de cultivo para los microorganismos. Cada microorganismo tiene su propia y peculiar capacidad para utilizar ciertas sustancias como fuente de energía, como fuente de carbono y/o como fuente de nitrógeno.

En el Capítulo 1 se han estudiado las propiedades de los alimentos que determinan tanto el tipo como el número de microorganismos que crecerán en los mismos, así como la posibilidad de que se alteren y que son las siguientes: (1) El pH, o concentración de iones hidrógeno, (2) el contenido de nutrientes, (3) la existencia de humedad, (4) el potencial de O-R, y (5) la posible presencia de sustancias inhibidoras.

Temperatura. Cualquier alimento no estéril es probable que con el tiempo se altere si contiene la humedad suficiente y no está congelado. Existe la posibilidad de que un alimento se altere a cualquier temperatura comprendida entre -5 y 70°C . Como quiera que las temperaturas óptima, mínima y máxima de crecimiento de los distintos microorganismos son tan diferentes, no cabe duda que la temperatura de conservación de un determinado alimento influirá en gran manera en el tipo, velocidad e importancia de la modificación de origen microbiano que en él se origine. Incluso una insignificante modificación de la temperatura puede favorecer el crecimiento de una especie de microorganismo totalmente distinta y, como consecuencia de ello, se puede originar una alteración de distinto tipo. La mayoría de los mohos y levaduras no crecen bien a temperaturas superiores a $35-37^{\circ}\text{C}$, razón por la cual estos microorganismos carecen de importancia en alimentos que se mantienen a temperaturas elevadas. Por otra parte, tanto los mohos como las levaduras crecen bien a las temperaturas normales del ambiente y algunos de estos microorganismos crecen bastante bien a temperaturas bajas, e incluso algunos crecen a la temperatura de congelación o a temperaturas ligeramente inferiores a la misma. Si bien la mayoría de las bacterias crecen mejor a las temperaturas ordinarias, algunas (bacterias termófilas) crecen mejor a temperaturas elevadas, mientras que otras (bacterias psicrófilas y psicrótrofas) crecen mejor a las temperaturas de refrigeración. Por esta razón, con frecuencia crecen hongos en la superficie de los alimentos refrigerados, mientras que en los tanques donde se escaldan los guisantes para blanquearlos crecen bacterias termófilas. En la leche recién ordeñada mantenida a diferentes temperaturas crecen inicialmente diferentes bacterias. Las temperaturas próximas a la de congelación estimulan el crecimiento de bacterias que toleran el frío, como son las especies de los géneros *Pseudomonas* y *Alcaligenes*; a temperaturas ambientales suelen predominar *Streptococcus lactis* y las bacterias coliformes; a temperaturas comprendidas entre 40 y 45°C las primeras especies que crecen son las bacterias termodúricas, por ejemplo, *S. thermophilus* y *S. faecalis*; y a temperaturas comprendidas entre 55 y 60°C crecerán bacterias termófilas, como por ejemplo *Lactobacillus thermophilus**.

Se debe recordar que la temperatura de conservación de un alimento fresco puede influir en su autodescomposición y, por consiguiente, en su sensibilidad a la alteración de origen microbiano. Según se indica en el Capítulo 12, el almacenamiento de las frutas a temperaturas incorrectas las debilita, razón por la cual es más probable que experimenten alteraciones.

Las temperaturas que se emplean corrientemente tanto en la manipulación como en la conservación de los alimentos, sobre todo en el comercio y en las casas particulares, son muy diferentes en los distintos países. En este país, la norma es utilizar la refrigeración en la mayoría de los alimentos perecederos, mientras que el mantenimiento de los alimentos a la temperatura ambiental durante largo tiempo es la excepción, aunque ocurre lo contrario en muchos otros países. Por lo tanto, el tipo de alteración que se presenta con mayor frecuencia en un determinado alimento, puede ser totalmente diferente en los distintos países. En los Estados Unidos, el tema de la alteración de los alimentos más perecederos se centra principalmente en las modificaciones que experimentan cuando se conservan refrigerados, y de aquí que tengan importancia las cepas psicrófilas de especies pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes* y a otros géneros, así como ciertas levaduras y ciertos mohos. En aquellos países en los que los alimentos no se refrigeran habitualmente, tendrían importancia las temperaturas atmosféricas predominantes en cada zona geográfica, y deberían tenerse en cuenta sus oscilaciones a lo largo de las distintas épocas del año. Durante las épocas del año de clima templado, o siempre que las temperaturas fuesen benignas, adquirirían importancia las bacterias normalmente mesófilas, las levaduras y los mohos. Cuando el tiempo fuese caluroso, con temperaturas de 26,7 a 43°C o más elevadas, tendrían importancia los microorganismos cuyo crecimiento es estimulado por estas temperaturas, como son las bacterias coliformes, y algunas especies de los géneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* y de otros géneros. Las temperaturas tropicales no serían apropiadas para el crecimiento de la mayoría de las levaduras y de los mohos. En casos excepcionales, los alimentos, sobre todo las distintas conservas enlatadas, se mantienen a veces a temperaturas apropiadas para el crecimiento de los microorganismos termófilos, como ocurrió con frecuencia en la Segunda Guerra Mundial, durante la cual, en los trópicos, los alimentos enlatados se guardaban bajo cubiertas de lona.

La combinación de todos estos factores que se acaban de estudiar, junto con el tipo, número y porcentaje de los distintos microorganismos existentes en su ambiente, parámetros regulados por las propiedades físicas y químicas del alimento, por la tensión de oxígeno y potencial de óxido-reducción, y por la temperatura, determinarán las especies de microorganismos que es más probable que crezcan en un determinado alimento y, por consiguiente, las modificaciones que se producirán en el mismo. A la hora de hacer pronósticos relativos a la duración de la vida comercial de los lotes de alimentos, deben tenerse en cuenta todos estos factores. La Tabla 4.1 resume las modalidades de tratamiento y su influencia tanto sobre la calidad de conservación como sobre la flora microbiana de los principales alimentos.

Tabla 4.1. Clasificación de los principales alimentos con el fin de aumentar la calidad microbiológica de conservación.

Clase	Características estabilidad			Detalle de la flora microbiana predominante
	«Tratamiento» en el que se incluye el tratamiento térmico, la modificación de la composición, y el envasado	Temp., °C	Duración del almacenamiento sin alteración	
			Ejemplos	
1	Ninguno de carácter funcional	<10	De 10 a 40 horas	Bacilos gramnegativos no fermentativos psicrótrofos
2	Pasteurización seguida de envasado hermético	<10	De 3 días a 2 sem.	Bacilos esporógenos y estreptococos del grupo D de Lancefield
3	Reducción de la actividad agua a valores próximos a 0,95, reducción del pH y adición de conservadores, junto con el envasado hermético	<10	Unas pocas semanas	Lactobacilos, estreptococos, levaduras y mohos
4	Reducción de la a_w a valores próximos a 0,85, combinaciones de valores de pH/ a_w /sc. láctico de efecto microbiostático equivalente, pasteurización	25	Muchas semanas	Levaduras, mohos
5	Reducción de la actividad agua a valores próximos a 0,80, a veces junto con la reducción del pH	25	Ilimitada, esto es, hasta tanto no tienen lugar reacciones químicas	Mohos
6	Reducción de la actividad agua a valores <0,60	35	Ilimitada	Bacilos, estreptococos del grupo D, esporas de mohos
7	Apperización	35	Ilimitada	Algunas esporas, es decir, recuentos < 10 ² /g
8	Estерilización	Cualquiera	Ilimitada	Ninguno

Fuente: Mossel (1983).

*N. del T.: Especie de salchicha italiana muy salada.

En los Capítulos siguientes se citarán ejemplos de las alteraciones que experimentan cada uno de los alimentos. A veces, la modificación de uno solo de los factores antes mencionados será suficiente para limitar la modificación esperada en el alimento, aunque con mayor frecuencia son varios los factores que ejercen una influencia conjunta. Así, la concurrencia de una humedad baja, de la temperatura de refrigeración, de una acidez elevada, y de una elevada concentración de azúcar, determinará que el crecimiento de mohos sea más probable que el crecimiento de levaduras o bacterias. Por el contrario, el aumento del contenido de humedad y de la temperatura modificarían las condiciones para favorecer el crecimiento de levaduras, mientras que la disminución de la acidez y de la concentración de azúcar estimularían el crecimiento de bacterias.

MODIFICACIONES QUIMICAS OCASIONADAS POR MICROORGANISMOS

Debido a la gran diversidad de compuestos orgánicos existentes en los alimentos y a la gran cantidad de especies de microorganismos capaces de descomponerlos, en los mismos pueden tener lugar modificaciones químicas muy distintas y se pueden originar muchos tipos de sustancias. El estudio que se realiza a continuación se ocupa únicamente de los principales tipos de descomposición de los componentes mayoritarios de los alimentos y de las sustancias producidas en mayor cantidad.

Modificaciones de los compuestos orgánicos nitrogenados

La mayor parte del nitrógeno contenido en los alimentos se encuentra formando parte de proteínas, las cuales, antes de que puedan ser utilizadas como nutriente nitrogenado por los microorganismos, deben ser hidrolizadas por los enzimas microbianos, o por los del propio alimento, a polipéptidos, a péptidos más sencillos, o a aminoácidos. Las proteinasas catalizan la hidrólisis de las proteínas a péptidos, los cuales pueden comunicar un sabor amargo a los alimentos. Las peptidasas catalizan la hidrólisis de los polipéptidos a péptidos más sencillos y, por último, a aminoácidos. Los últimos comunican sabores, agradables o desagradables, a algunos alimentos; así por ejemplo, determinados aminoácidos aportan el sabor de los quesos madurados.

La mayoría de estas hidrólisis no dan lugar a sustancias especialmente perjudiciales. No obstante, la descomposición en anaerobiosis de las proteínas, de los péptidos o de los aminoácidos, puede dar origen a olores desagradables, en cuyo caso recibe el nombre de **putrefacción**. En este tipo de descomposición se originan compuestos sulfurados de olor pestilente, como son los sulfuros de

hidrógeno, de metilo y de etilo, y mercaptanos, además de amoníaco, aminas (p. ej., histamina, tiramina, piperidina, putrescina, y cadaverina), indol, escatol y ácidos grasos. Cuando los microorganismos actúan sobre los aminoácidos, pueden desaminarlos, descarboxilarlos, o ejercer sobre los mismos ambas acciones al mismo tiempo, produciendo los compuestos que se señalan en la Tabla 4.2. *Escherichia coli*, por ejemplo, produce ácido glioxílico, ácido acético, y amoníaco a partir de la glicina; *Pseudomonas* produce además metilamina y dióxido de carbono; mientras que los clostridios producen ácido acético, amoníaco, y metano. A partir de la alanina, estos tres microorganismos producen, respectivamente, (1) un α -cetoácido, (2) ácido acético, amoníaco y dióxido de carbono, y (3) ácido propiónico, ácido acético, amoníaco, y dióxido de carbono. A partir de la serina, *E. coli* produce ácido pirúvico y amoníaco, mientras que las especies de *Clostridium* dan ácido propiónico, ácido fórmico, y amoníaco. Según se ha indicado anteriormente, el azufre de los aminoácidos sulfurados puede ser reducido a sulfuros de olor pestilente o a mercaptanos. *Desulfotomaculum nigrificans* (antes, *C. nigrificans*) especie anaerobia obligada, es capaz de reducir los sulfatos a sulfitos y producir sulfuro de hidrógeno a partir de la cistina.

Otros compuestos nitrogenados que descomponen los microorganismos son: (1) las amidas, las imidas y la urea, que dan amoníaco como producto final, (2) la guanidina y la creatinina, que dan urea y amoníaco, (3) las aminas, las purinas y las pirimidinas, que pueden dar amoníaco, dióxido de carbono y ácidos orgánicos (principalmente láctico y acético).

Modificaciones de los compuestos no nitrogenados

Los principales nutrientes no nitrogenados son utilizados por los microorganismos, principalmente para obtener energía, aunque posiblemente los utilicen

Tabla 4.2. Productos resultantes de la descomposición microbiana de los aminoácidos.

<i>Reacción química</i>	<i>Productos</i>
Desaminación oxidativa	Cetoácido + NH_3
Desaminación hidrolítica	Hidroxiácido + NH_3
Desaminación reductora	Acido graso saturado + NH_3
Desaturación y desaminación (en las posiciones α y β)	Acido graso no saturado + NH_3
O-R recíproca entre pares de aminoácidos	Cetoácido + ácido graso + NH_3
Descarboxilación	Amina + CO_2
Desaminación hidrolítica + descarboxilación	Alcohol primario + NH_3 + CO_2
Desaminación reductora + descarboxilación	Hidrocarburo + NH_3 + CO_2
Desaminación oxidativa + descarboxilación	Acido graso + NH_3 + CO_2

como fuente de carbono, son los hidratos de carbono, los ácidos orgánicos, los aldehídos y las cetonas, los alcoholes, los glucósidos, los compuestos cíclicos, y los lípidos.

Hidratos de carbono. Los microorganismos prefieren los hidratos de carbono, si el alimento los contiene, a otros nutrientes energéticos. Los disacáridos, los trisacáridos, y los polisacáridos complejos suelen ser hidrolizados a azúcares sencillos antes de ser utilizados. Un monosacárido, como por ejemplo la glucosa, utilizado en aerobiosis, sería oxidado a dióxido de carbono y agua, mientras que utilizado en anaerobiosis, experimentaría una descomposición que implicaría a cualquiera de estos seis tipos principales de fermentación: (1) Una fermentación alcohólica, como la que llevan a cabo las levaduras, con producción de etanol y dióxido de carbono como compuestos principales, (2) una fermentación láctica simple, como la que llevan a cabo las bacterias lácticas homofermentativas, con producción de ácido láctico como compuesto principal, (3) una fermentación láctica mixta, como la que llevan a cabo las bacterias lácticas heterofermentativas, con producción de los ácidos láctico y acético, etanol, glicerol, y dióxido de carbono como compuestos principales, (4) la fermentación de tipo coliforme, como la que llevan a cabo las bacterias coliformes, con producción de los ácidos láctico, acético, y fórmico, etanol, dióxido de carbono, hidrógeno, y tal vez acetoina y butanodiol como compuestos probables, (5) la fermentación propiónica, llevada a cabo por las bacterias propiónicas, que produce los ácidos propiónico, succínico y acético y dióxido de carbono, o (6) las fermentaciones butírico-butil-isopropílicas, por bacterias anaerobias, que producen los ácidos butírico y acético, dióxido de carbono, hidrógeno y, a veces, acetona, butilenglicol, butanol, y propanol-2. Cuando se encuentran en actividad diferentes microorganismos, a partir de los azúcares se pueden originar otros compuestos distintos, entre los que se incluyen ácidos grasos superiores, otros ácidos orgánicos, aldehídos, y cetonas.

Ácidos orgánicos. Muchos de los ácidos orgánicos que se suelen encontrar en los alimentos en forma de sales son oxidados por los microorganismos a carbonatos, los cuales comunican mayor basicidad al medio. En aerobiosis, los ácidos orgánicos pueden ser oxidados totalmente a dióxido de carbono y agua, tal como lo hacen las levaduras formadoras de película. Los ácidos pueden ser oxidados a otros ácidos más sencillos o a otros compuestos parecidos a los que se originan en la descomposición de los azúcares. Actuando sobre dos átomos de carbono a la vez, los ácidos grasos saturados y los derivados cetónicos inferiores son degradados a ácido acético por los microorganismos, con el concurso del coenzima A. Los ácidos grasos no saturados y los hidroxíácidos grasos pueden ser degradados parcialmente de forma parecida, aunque para su total beta-oxidación deben ser transformados en un ácido saturado (o en un derivado cetónico).

Otros compuestos. Los alcoholes suelen ser oxidados al correspondiente ácido orgánico, como es el caso del etanol que es oxidado a ácido acético. El

glicerol puede ser degradado a compuestos parecidos a los que se originan en la degradación de la glucosa. Los glucósidos, una vez hidrolizados para liberar el azúcar, experimentarán la degradación típica del azúcar. El acetaldehído puede ser oxidado a ácido acético, o puede ser reducido a etanol. Los compuestos cíclicos no son atacados con facilidad.

Lípidos. Las grasas son hidrolizadas por la lipasa microbiana a glicerol y ácidos grasos, los cuales, posteriormente, son degradados de la forma señalada anteriormente. En la oxidación de las grasas pueden intervenir microorganismos, aunque lo más corriente es su autooxidación (véase el Capítulo 19). Los fosfolípidos pueden ser degradados a sus componentes de fosfato, glicerol, ácidos grasos, y una base nitrogenada (p. ej., la colina). Las lipoproteínas están constituidas por proteínas, ésteres del colesterol, y fosfolípidos.

Sustancias pécticas. La protopectina, sustancia insoluble en agua predecesora de las pectinas de las plantas, es convertida en pectina, polímero hidrosoluble del ácido galacturónico que contiene radicales metilo unidos mediante enlaces éster y varios grados de neutralización por distintos cationes. Se gelifica con azúcar en medio ácido. El enzima pectinoesterasa produce la hidrólisis de los enlaces éster de los radicales metilo de la pectina para dar ácido péctico y metanol. Las poligalacturonas destruyen el enlace entre las unidades de ácido galacturónico de la pectina, o del ácido péctico, para dar cadenas más cortas y, finalmente, ácido D-galacturónico libre, el cual puede ser degradado a azúcares sencillos.

BIBLIOGRAFIA

- Allen, L. A. 1964. The biochemistry of industrial micro-organisms. *Chem. Ind.* May 23, pp. 877-880.
- Barker, H. A. 1956. *Bacterial fermentations*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Dainty, R. H. 1971. The control and evaluation of spoilage. *J. Food Technol.* 6:209-224.
- Desrosier, N. W. 1963. *The technology of food preservation*. Rev. ed. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Diendoerfer, F. H., R. I. Mateles, and A. H. Humphrey. 1963. 1961 fermentation process review. *Appl. Microbiol.* 11:272-303.
- Goresline, H. E. 1955. Food spoilage and deterioration. In F. C. Blanck (ed.), *Handbook of food and agriculture*, chap. 13. Reinhold Publishing Corporation, New York.
- Gunsalus, I. C., and R. Y. Stanier (eds.). 1961. *The bacteria*. Volume 2. Metabolism. Academic Press, Inc., New York.
- Guthrie, R. K. (ed.). 1972. *Food sanitation*. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Halvorson, H. O. 1951. Food spoilage and food poisoning. In M. B. Jacobs (ed.), *The chemistry and technology of food and food products*, chap. 11. 2d ed. Interscience Publishers (Division of John Wiley & Sons, Inc.), New York.
- Halvorson, H. O. 1953. Principles of food microbiology. *J. Milk Food Technol.* 16:73-76.

- Hankin, L., and G. R. Stephens. 1972. What tests usefully predict keeping quality of perishable foods? *J. Milk Food Technol.* 35:574-576.
- Jay, J. M. 1986. *Modern food microbiology*. 3d. ed. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Margalith, P., and Y. Schwartz. 1970. Flavor and microorganisms. *Adv. Appl. Microbiol.* 36-83.
- Miller, B. M., and W. Litsky. 1976. *Industrial microbiology*. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Molin, N., and A. Erichsen. 1964. *Microbial inhibitors in food*. Almquist and Wiksell, Stockholm.
- Mossel, D. A. A. 1983. Essentials and perspectives of microbial ecology of foods. *In* T. A. Roberts and F. A. Skinner (eds.), *Food microbiology: advances and prospects*. Academic Press, Inc., New York.
- Mossel, D. A. A., and M. Ingram. 1955. The physiology of the microbial spoilage of foods. *J. Appl. Bacteriol.* 18:233-268.
- Rainbow, C., and A. H. Rose (eds.). 1963. *Biochemistry of industrial microorganisms*. Academic Press, Inc., New York.
- Schultz, H. W. (ed.). 1960. *Food enzymes*. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Scott, W. J. 1957. Water relations of food spoilage microorganisms. *Adv. Food Res.* 7:83-127.
- Speck, R. V. 1981. Thermophilic organisms in food spoilage: sulfide spoilage anaerobes. *J. Food Prot.* 44:149-153.
- Spencer, R. 1971. Microbial spoilage of foods. II. A review, 1969-1970. *Br. Manuf. Ind. Res. Ass. Sci. Tech. Sur.* 66, Surrey, England.
- Thatcher, F. S., and D. S. Clark (eds.). 1968. *Microorganisms in foods: their significance and methods of enumeration*. University of Toronto Press, Toronto.
- Thom, C., and A. C. Hunter. 1924. *Hygienic fundamentals of food handling*. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- Weiser, H. H., G. J. Mountney, and W. A. Gould. 1971. *Practical food microbiology and technology*. 2d ed. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.

Segunda parte

Principios generales de la conservación de alimentos

En esta Parte describimos los fundamentos, en especial los de índole microbiológica, implicados en los distintos procedimientos de conservación de los alimentos.

Como consecuencia del perfeccionamiento de los sistemas de conservación y de transporte, nuestra dieta ha llegado a ser más variada y mejor equilibrada, los alimentos perecederos se han hecho utilizables durante todo el año en lugar de serlo sólo durante una determinada época del mismo, la preparación de comidas se ha hecho más fácil, y los alimentos, en general, se están produciendo de una forma más limpia y más higiénica que antes. Además, estos sistemas de conservación y de transporte perfeccionados han hecho posible que los países con excedentes de ciertos productos presten ayuda a los países necesitados abasteciéndoles de suplementos alimentarios de gran calidad.

00016

Principios generales de la conservación de alimentos: asepsia, eliminación de microorganismos y anaerobiosis

Los alimentos destinados al consumo humano se pueden incluir en ocho grupos principales, cuatro de ellos correspondientes a alimentos de origen vegetal y otros cuatro a alimentos de origen animal, y en varios grupos de menor importancia. Las ocho clases principales de alimentos son las siguientes:

<i>Alimentos de origen vegetal</i>	<i>Alimentos de origen animal</i>
Cereales y sus productos	Carne y productos cárnicos
Azúcar y productos azucarados	Aves y huevos
Hortalizas y productos derivados	Pescado y demás alimentos marinos
Frutas y productos derivados	Leche y productos lácteos

A la lista de alimentos de origen vegetal se podrían añadir las especias y otros condimentos, las pulpas de los frutos en nuez, y los hongos cultivados que se utilizan en la elaboración de alimentos o se consumen como tales (levaduras, mohos, setas, etc.). El cloruro sódico es a la vez un alimento mineral, un condimento, un nutriente esencial, y un conservador químico. Algunos alimentos pueden ser reforzados con sales minerales, como son los compuestos de hierro y de calcio que se añaden a la harina. Algunos colorantes y algunos productos utilizados para dar sabor a los alimentos son sintéticos. Aunque los alimentos suelen contener vitaminas, también pueden ser incorporadas a los mismos o pueden ser ingeridas



aparte, ya que se pueden obtener por síntesis química y existen microorganismos que las producen.

Los microorganismos descomponen con facilidad la mayoría de las clases de alimentos, a no ser que se utilicen procedimientos especiales para conservarlos.

PROCEDIMIENTOS UTILIZADOS PARA CONSERVAR LOS ALIMENTOS

Para conservar los alimentos se utilizan principalmente los siguientes procedimientos:

- 1 Asepsia, o mantenimiento de los alimentos sin microorganismos.
- 2 Eliminación de los microorganismos.
- 3 Mantenimiento de anaerobiosis, por ejemplo, en un recipiente cerrado al vacío.
- 4 Empleo de temperaturas elevadas.
- 5 Empleo de temperaturas bajas.
- 6 Desecación; este procedimiento incluye la ligazón de agua por solutos, coloides hidrófilos, etc.
- 7 Empleo de conservadores químicos, tanto si son producidos por microorganismos como si se añaden al alimento.
- 8 Irradiación.
- 9 Destrucción mecánica de los microorganismos, por ejemplo, mediante trituración del alimento, empleo de presiones elevadas, etc., (no se utiliza a escala industrial).
- 10 Empleo simultáneo de dos o más de los procedimientos anteriores. Únicamente en contadas ocasiones resulta eficaz uno solo de los procedimientos de conservación, razón por la cual se suelen emplear varios a la vez. Los alimentos enlatados, por ejemplo, se conservan sometiéndolos a un tratamiento térmico en un recipiente cerrado al vacío. Cuando se combinan varios procedimientos de conservación, la intensidad necesaria del tratamiento correspondiente a cada uno de ellos suele ser menor que la que se necesita cuando se utilizan por separado. Cuando se añade benzoato o sorbato a los zumos de frutas, para esterilizarlos se necesita un tratamiento térmico de menor intensidad. Si se añaden a la vez sal, azúcar, y vinagre a la salsa de tomate, a los encurtidos, o a los aperitivos, cada uno de estos condimentos se puede utilizar a menor concentración que si se hubiese ña-

dido uno solo de ellos. Los alimentos sometidos a un tratamiento previo con rayos gamma o tratados con el antibiótico tilosina, para su esterilización requieren un tratamiento térmico de intensidad menor que la que es necesario utilizar para esterilizar los alimentos no tratados. En los Capítulos siguientes se encontrarán otros muchos ejemplos.

FUNDAMENTOS DE LA CONSERVACION DE ALIMENTOS

En la consecución de la conservación de alimentos mediante los distintos procedimientos están implicados los siguientes fundamentos:

- 1 Prevención o retardo de la descomposición microbiana:
 - a Manteniendo los alimentos sin microorganismos (asepsia).
 - b Eliminando los microorganismos, por ejemplo, por filtración.
 - c Impidiendo el crecimiento y la actividad de los microorganismos, por ejemplo, mediante temperaturas bajas, desecación, anaerobiosis, o agentes químicos.
 - d Destruyendo los microorganismos, por ejemplo, mediante calor o radiaciones.
- 2 Prevención o retardo de la autodescomposición de los alimentos:
 - a Destruyendo o inactivando los enzimas de los alimentos, por ejemplo, mediante el escaldado.
 - b Previendo o retardando las reacciones puramente químicas, por ejemplo, impidiendo la oxidación mediante un antioxidante.
- 3 Prevención de las lesiones debidas a insectos, animales, causas mecánicas, etc., materia que queda fuera del alcance de esta obra.

Los procedimientos utilizados para regular la actividad de los microorganismos suelen ser eficaces tanto frente a la actividad enzimática existente en el alimento como frente a las reacciones químicas. No obstante, procedimientos tales como la desecación o el empleo de temperaturas bajas, permiten que la autodescomposición del alimento continúe, a no ser que se adopten precauciones especiales. La mayoría de las hortalizas, por ejemplo, se blanquean (se someten a calentamiento) antes de congelarlas, con el fin de inactivar sus enzimas.

Retardo de la descomposición microbiana

Varios procedimientos corrientes de conservación de alimentos no se basan en la destrucción o eliminación de microorganismos, sino en el retardo de la iniciación de su multiplicación y en la interrupción de la misma una vez iniciada.



En la Tabla 5.1 se ofrece un resumen de los principales factores de la conservación, junto con su modo de acción y forma de ejecución.

Tabla 5.1. Clasificación de los agentes conservantes.

<i>Modo de acción</i>	<i>Agente conservante</i>	<i>Forma de actuación</i>	
Inactivación de los microorganismos	Calor	Pasteurización Esterilización	
	Radiaciones	Radurización Radappertización	
Inhibición o retardamiento de la multiplicación de los microorganismos	Frío	Refrigeración Congelación	
	Disminución de la cantidad de agua (dism. de la actividad agua)	Desecación	Añadir sal
		Añadir azúcar	Añadir glicerol
		Añadir otros solutos o emplear combinaciones de los anteriores	
	Disminución de la cantidad de oxígeno	Envasar al vacío	Envasar en nitrógeno
		Aumento de la cantidad de CO ₂	Envasar en CO ₂
	Acidificación	Añadir ácidos	Fermentación láctica
		Alcohol	Fermentación acética
		Adición de conservadores	Reforzamiento
	Restricción de la llegada de microorganismos a los alimentos	Control de la microestructura	Inorgánicos (por ej., sulfitos nitritos)
Orgánico (por ej., sorbatos, benzoatos, parabenos*etc.)			
Descontaminación		Antibióticos (por ej., nisina)	
Manipulación aséptica o limpia		Humo	Emulsiones (agua/aceite)
		Ingredientes	
Envasado	Materiales de envasado, por ej., con agentes químicos (HCl, H ₂ O ₂), calor, radiaciones (ionizantes o X; no ionizantes)	Tratamiento super limpio Tratamiento aséptico	
		Envasado aséptico o limpio	

Fuente: Gould y otros (1983).

*N. del T.: Metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno.

Curva de crecimiento de los cultivos microbianos

Siempre que se añadan microorganismos a un alimento y las condiciones del medio sean apropiadas, las células microbianas empezarán a multiplicarse, pasando por una serie de fases consecutivas. Cuando se hacen recuentos periódicos del número de células microbianas y los resultados obtenidos se expresan con el logaritmo del número de células microbianas por mililitro y se representan gráficamente como ordenadas, y las unidades de tiempo se representan gráficamente como abscisas, se obtiene una **curva de crecimiento** como la representada en la Figura 5.1. Esta curva se suele dividir en fases, tal como se indica en la figura: (1) Fase inicial o **fase lag**¹ (tramo de la curva comprendido entre *A* y *B*), durante la cual no existe multiplicación de las células microbianas o incluso disminuye su número, (2) fase de **aceleración positiva** (tramo de la curva comprendido entre *B* y *C*), durante la cual la velocidad de la multiplicación² de las células microbianas va aumentando continuamente, (3) **fase logarítmica o exponencial** de la multiplicación (tramo de la curva comprendido entre *C* y *D*), durante la

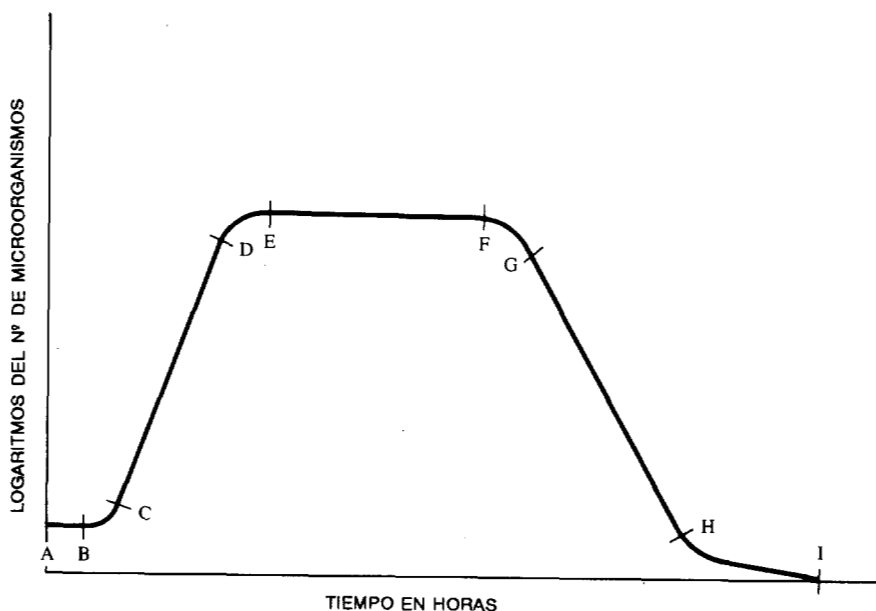


Figura 5.1. Curva de crecimiento de un microorganismo. De *A* a *B*, fase de latencia; de *B* a *C*, fase de aceleración positiva; de *C* a *D*, fase logarítmica o exponencial; de *D* a *E* fase de aceleración negativa; de *E* a *F*, fase estacionaria máxima; de *F* a *G*, fase de muerte acelerada; de *G* a *H*, fase de muerte; y de *H* a *I*, fase de supervivencia.

¹N. del T.: Conocida también como *fase de latencia*.

²N. del T.: A la velocidad de multiplicación se le denomina también *tasa de crecimiento*. Los términos «crecimiento» y «multiplicación» se pueden emplear indistintamente.

cual la velocidad de la multiplicación es más rápida y es constante, (4) **fase de aceleración negativa** (tramo de la curva comprendido entre *D* y *E*), durante la cual la velocidad de la multiplicación disminuye, (5) **fase estacionaria máxima** (tramo de la curva comprendido entre *E* y *F*), en la que el número de células microbianas permanece constante, (6) **fase de muerte acelerada** (tramo de la curva comprendido entre *F* y *G*), (7) **fase de muerte** o fase de declive (tramo de la curva comprendido entre *G* y *H*), durante la cual el número de células que mueren es mayor que el número de las que se forman, y (8) **fase de supervivencia** (tramo de la curva comprendido entre *H* e *I*), durante la cual no existe división celular, si bien las células que quedan sobreviven a base de nutrientes endógenos.

Aplicaciones en la conservación de alimentos En la conservación de alimentos (es decir, en la prevención de sus alteraciones) tiene una gran importancia prolongar cuanto sea posible la fase lag y la fase de aceleración positiva. Esto se puede conseguir de distintos modos:

- 1 *Aportando el menor número posible de microorganismos*, es decir reduciendo el grado de contaminación; cuanto menor es el número de microorganismos, tanto más se prolonga la fase lag.
- 2 *Evitando la adición de microorganismos en fase de crecimiento activo* (procedentes de la fase de crecimiento logarítmico). Estos microorganismos pueden estar creciendo en los recipientes, en el equipo o en los utensilios que entran en contacto con los alimentos.
- 3 *Mediante uno o más factores adversos del medio*: Nutrientes, humedad, temperatura, pH, y potencial de O-R adversos, o existencia de sustancias inhibitoras. Cuanto más adversas sean las condiciones del medio, tanto más tiempo se retardará la iniciación de la multiplicación microbiana.
- 4 *Mediante daño real a los microorganismos con distintos sistemas de tratamiento, como el calentamiento o la irradiación*. Así por ejemplo, se ha comprobado que, para crecer, las bacterias o sus esporas que han sido sometidas a tratamientos térmicos subletales necesitan un medio de cultivo más rico que el que necesitan los organismos que no han estado sometidos a temperaturas elevadas. Muchas veces, una combinación de los distintos sistemas tendentes a retardar la iniciación de la multiplicación de los microorganismos es suficiente para conferir al alimento la vida de almacén deseada.

A partir de la curva de crecimiento se puede calcular el tiempo de generación de los microorganismos, es decir, el tiempo que transcurre entre la formación de una célula hija y su división para dar dos nuevas células. El tiempo de generación será más corto durante la fase de crecimiento logarítmico, y su duración dependerá de las condiciones existentes en el medio mientras se están multiplicando los microorganismos, es decir, del tipo de alimento, de su pH, de la temperatura, del potencial de O-R, de la humedad disponible y de la presencia de sustancias inhibitoras. El tiempo de generación se acorta conforme las condiciones del medio se vuelven favorables, mientras que se prolonga conforme dichas condicio-

nes se vuelven menos favorables. Cualquier modificación del medio que prolongue el tiempo de generación prolongará el tiempo de conservación del alimento de forma más que proporcional. Un descenso de la temperatura, por ejemplo, prolongará el tiempo de generación y por lo tanto el tiempo de conservación. Si partimos de una sola célula, y ésta se divide cada 30 minutos, transcurridas 10 horas habrá aproximadamente 1 millón de células, pero sólo unas 1.000 células si el tiempo de generación es de 60 minutos, y sólo 32 células si es de 120 minutos. Esto pone de relieve la importancia que tiene evitar la contaminación de los alimentos con microorganismos que se encuentran en fase de crecimiento logarítmico, ya que cuando su tiempo de generación es el mínimo, la fase lag será corta, o no existirá, y la multiplicación de los microorganismos continuará a su velocidad máxima.

Prevención de la descomposición microbiana

Se evitará la descomposición microbiana de los alimentos si se destruyen (o eliminan) todos los microorganismos que producen alteraciones y se evita que se vuelvan a contaminar. No obstante, por el mero hecho de detener la multiplicación de los microorganismos no necesariamente se evita su descomposición, ya que pueden seguir teniendo actividad células microbianas viables o sus enzimas. Como se indicará en los Capítulos siguientes, la destrucción de los microorganismos mediante la mayoría de los procedimientos que se utilizan con esta finalidad, cuando en el alimento existe un número inicial más reducido, aquélla es más fácil que cuando su número inicial es más elevado; esto pone de relieve la importancia que tiene la contaminación. Cuando los alimentos han de ser sometidos a tratamiento térmico, tienen especial importancia tanto el aporte como la producción de microorganismos resistentes al agente letal que se está empleando, como por ejemplo, el aporte o la producción de esporas bacterianas termorresistentes. Las células vegetativas de los microorganismos que se encuentran en la fase de crecimiento logarítmico son menos resistentes a los tratamientos letales, mientras que son más resistentes si se encuentran en la etapa final de la fase lag o en la fase estacionaria máxima de crecimiento.

ASEPSIA

Como causa de la conservación de los alimentos, en la naturaleza se dan un gran número de casos de asepsia, o casos en los que los alimentos se mantienen desprovistos de microorganismos. Los tejidos internos de las plantas y de los animales sanos suelen estar desprovistos de microorganismos, y, en el caso de que existan algunos, no es probable que inicien la alteración. Si el alimento está

rodeado por una cubierta protectora, la descomposición microbiana se retrasa o no tiene lugar. Son ejemplo de alimentos provistos de este tipo de cubierta la cáscara de las nueces, la cutícula de las frutas y hortalizas, las espigas* de las mazorcas del maíz, la cáscara de los huevos, y la piel, las fascias y la grasa de la carne o del pescado. Los tejidos internos están expuestos a ser descompuestos por microorganismos, únicamente cuando la cubierta protectora ha sido dañada, o la descomposición se ha propagado a partir de la superficie externa.

En las industrias alimentarias cada vez se presta mayor atención a la prevención de la contaminación de los alimentos desde que entra la materia prima hasta la obtención del producto acabado. El técnico bromatólogo se ocupa de la «carga biológica» de microorganismos existentes en la superficie o en el interior de un determinado alimento y tiene en cuenta tanto las especies como el número de microorganismos que contiene. Las *especies* tienen importancia porque pueden incluir microorganismos que producen alteraciones, los apropiados para una determinada fermentación, o incluso microorganismos patógenos. El *número* de microorganismos tiene importancia porque cuanto más numerosa es la población de microorganismos que ocasiona alteraciones, tanto más probable será que el alimento se altere, tanto más difícil será la conservación del alimento, y tanto más probable será que existan microorganismos patógenos. La carga biológica puede ser debida a que el alimento se ha contaminado, a que en él se han multiplicado los microorganismos o a ambas causas. A continuación se exponen algunos ejemplos acerca de la importancia que tienen los procedimientos de asepsia en las industrias alimentarias.

El envasado de los alimentos constituye una aplicación de la asepsia que se utiliza con mucha frecuencia. La cubierta protectora puede variar desde un cartón suelto o envoltura, la cual evita principalmente la contaminación mientras se manipulan, al envase cerrado herméticamente de los alimentos enlatados, el cual, si es estanco, protege el contenido frente a la contaminación por microorganismos, una vez sometido a algún tipo de tratamiento.

En las industrias lácteas, la contaminación con microorganismos, tanto de la leche comercial como de la que se destina a otros usos, se evita cuanto es posible durante las operaciones de su producción y manipulación, juzgándose su calidad por su contenido de bacterias.

En las industrias conserveras, la carga biológica, o carga de microorganismos, determina el tratamiento térmico necesario para la conservación de un determinado alimento, sobre todo si la contaminación le añade microorganismos termorresistentes que provocan alteraciones, por ejemplo, termófilos esporógenos que pueden tener su origen en el equipo; la lata herméticamente cerrada, en cambio, es capaz de evitar que el alimento, una vez enlatado y sometido a tratamiento térmico, se contamine de nuevo.

*N. del T.: Hipsófilos o envolturas bracteiformes (que no se corresponden con nomófilos) que envuelven la espiga o mazorca del maíz.

En la industria de envasado de carnes, los procedimientos higiénicos de sacrificio de los animales, de manipulación y tratamiento de la carne y productos cárnicos, reducen en estos alimentos la carga microbiana y por esta razón mejoran su calidad de conservación.

En las industrias que se dedican a la fabricación de alimentos mediante fermentaciones controladas, por ejemplo en las fábricas de quesos, cuanto menor es el número de microorganismos competitivos en la materia prima fermentescible, tanto más probable es que con la fermentación se obtenga el resultado deseado.

ELIMINACION DE MICROORGANISMOS

La mayoría de las veces, la eliminación de los microorganismos de los alimentos no es del todo eficaz cuando se trata de conservarlos, aunque en determinados casos puede resultar útil. La eliminación de los microorganismos de los alimentos se puede conseguir por medio de la filtración, de la centrifugación (por sedimentación o por clarificación), del lavado, o eliminando de los mismos las porciones contaminadas.

La filtración es el único procedimiento eficaz para eliminar totalmente los microorganismos, estando su uso limitado a líquidos no densos. El líquido se hace pasar a través de un filtro «impermeable a las bacterias» esterilizado previamente, fabricado con fibra de vidrio, con tierra de diatomeas, con porcelana no vidriada*, con una lámina de pergamino, o con materiales parecidos, obligando al líquido a que atraviese el filtro mediante presión o vacío. Este procedimiento se ha utilizado con buenos resultados en los zumos de frutas, en la cerveza, en las bebidas refrescantes, en el vino, y en el agua.

La centrifugación, o la sedimentación, no suelen ser muy eficaces porque con estos procedimientos se eliminan algunos microorganismos, pero no todos. La sedimentación se utiliza en el tratamiento del agua de bebida, aunque por sí solo es insuficiente. El principal objetivo que se persigue cuando se somete la leche a centrifugación (clarificación), no es la eliminación de las bacterias, sino la separación de las partículas en suspensión, aunque la centrifugación a un elevado número de revoluciones por minuto elimina de la misma las esporas.

El lavado de los alimentos frescos puede ser útil cuando se trata de conservarlos, pero en algunos casos puede ser perjudicial. El lavado de los repollos de col y de los pepinos antes de su fermentación en la elaboración del sauerkraut y de los encurtidos, respectivamente, elimina la mayoría de los microorganismos del suelo existentes en su superficie, aumentando de esta forma el porcentaje de bacterias lácticas beneficiosas en la flora total. El lavado de las frutas y hortalizas

*N. del T.: Porcelana no porosa.

frescas hace desaparecer de las mismas microorganismos procedentes del suelo que es posible que sean resistentes al tratamiento térmico al que se someten durante la operación del enlatado. No cabe duda que la eliminación de los microorganismos y de los nutrientes que éstos utilizan en el equipo que entra en contacto con los alimentos, seguido de un tratamiento germicida de la maquinaria utilizada, es un tratamiento indispensable y eficaz cuando se manipula cualquier tipo de alimento. El lavado de los alimentos puede ser peligroso si el agua que se utiliza les añade microorganismos causantes de alteraciones o aumenta su grado de humedad, de modo que es estimulada la multiplicación de los citados microorganismos.

La separación de las porciones alteradas de un alimento o el hecho de desechar los ejemplares alterados, tiene importancia desde el punto de vista de las normas bromatológicas y puede contribuir a que el alimento se conserve. Si bien de esta forma se elimina gran cantidad de los microorganismos que producen alteraciones, en el resto del alimento puede quedar una contaminación importante. En la elaboración del sauerkraut se recomienda desechar las hojas externas de los repollos de col.

MANTENIMIENTO DE ANAEROBIOSIS

Es posible que la anaerobiosis sea la causa de que los alimentos envasados en recipientes cerrados herméticamente se conserven. El llenado total de las latas, el vacío del espacio que queda sin llenar (espacio de cabeza de la lata), o la sustitución del aire por dióxido de carbono o por un gas inerte, como por ejemplo el nitrógeno, proporcionará anaerobiosis. Las esporas de algunos microorganismos aerobios esporógenos son extraordinariamente termorresistentes, pudiendo sobrevivir en las conservas enlatadas, aunque no son capaces ni de germinar ni de multiplicarse cuando no disponen de oxígeno. La producción de dióxido de carbono durante la fermentación y su acumulación en la superficie servirá para crear anaerobiosis en el interior de la lata, evitando de esta forma que se multipliquen los microorganismos aerobios.

BIBLIOGRAFIA

- Aschehoug, V., and R. Vesterhus. 1941. The microbiology of food preservation. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd.*, II Abt. 104:169-185.
- Bate-Smith, E. C., and T. N. Norris (eds.). 1952. A symposium on quality and preservation of foods. Cambridge University Press, London.
- Desrosier, N. W. 1970. The technology of food preservation. 3d ed. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.

- Farrel, J., and A. Rose. 1967. Temperature effects on microorganisms. *Annu. Rev. Microbiol.* 21:101-120.
- Fellers, C. R. 1955. Food preservation. *In* F. C. Balnck (ed.), *Handbook of food and agriculture*, chap. 11. Reinhold Publishing Corporation, New York.
- Gould, G. W., M. H. Brown, and B. C. Fletcher. 1983. Mechanisms of action of food preservation procedures. *In* T. A. Roberts and F. A. Shinner (eds.), *Food microbiology: advances and prospects*. Academic Press, Inc., New York.
- Jay, J. M. 1986. *Modern food microbiology*. 3d ed. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Lechtman, S. C., and O. Fanning (eds.). 1957. *The future of food preservation*. Midwest Research Institute, Kansas City.
- Nickerson, J. T., and A. T. Sinskey. 1972. *Microbiology of foods and food processing*. American Elsevier Publishing Company, New York.
- Pike, M. 1964. *Food science and technology*. John Murray (Publishers), Ltd., London.
- Stumbo, C. R. 1976. *Thermobacteriology in food processing*. Academic Press, Inc., New York.

Conservación mediante el empleo de temperaturas elevadas

Se cree que la destrucción de los microorganismos por el calor es consecuencia de la desnaturalización de sus proteínas y sobre todo de la inactivación de los enzimas que necesitan para desarrollar sus actividades metabólicas. La intensidad del tratamiento térmico necesaria para destruir los microorganismos o sus esporas depende de la especie de microorganismo, de su estado fisiológico, y de las condiciones del medio en el momento de efectuar el tratamiento. Según el tratamiento térmico que se emplee, es posible que se destruyan sólo algunas células vegetativas, la mayoría de las células o todas las células, parte de las esporas bacterianas o la totalidad de las mismas. El tratamiento térmico elegido dependerá de las especies de microorganismos que sea preciso destruir, de otros procedimientos de conservación que sea preciso emplear, y del efecto que produzca el calor en el alimento.

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA TERMORRESISTENCIA (TIEMPO DE MUERTE TERMICA)

Tanto las células como las esporas de los microorganismos difieren mucho en cuanto a su resistencia a las temperaturas elevadas. Algunas de estas diferencias son debidas a factores que pueden ser controlados, aunque otras son propias de los microorganismos y no siempre pueden ser explicadas. Tal como indica la gráfica de distribución de frecuencias representada en la Figura 6.1, en una misma

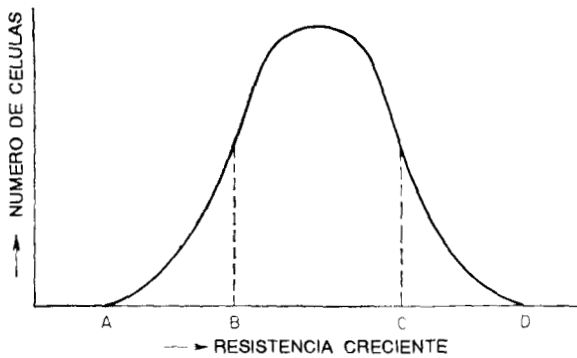


Figura 6.1. Curva de distribución de frecuencias que muestra la termostabilidad de los microorganismos de un cultivo.

población de células o esporas existen distintos grados de termostabilidad. Un reducido número de células poseen una escasa resistencia (trazo de la gráfica de *A* a *B*); la mayoría de las células poseen un grado de resistencia intermedio (trazo de la gráfica de *B* a *C*); y un reducido número de las mismas son muy resistentes (trazo de la gráfica de *C* a *D*). Las distintas condiciones del medio pueden favorecer el crecimiento de una u otra de estas subpoblaciones y, mediante selección, se pueden originar cultivos cuyas células poseen una termostabilidad mayor o menor que la habitual. Se conocen algunos factores que influyen en la termostabilidad de las células o de las esporas, los cuales se deben tener en cuenta tanto cuando se comparan microorganismos, como cuando se ponderan los distintos tratamientos térmicos con el fin de destruir los microorganismos. Los principales factores conocidos son los siguientes:

- 1 *La relación tiempo-temperatura.* Bajo una determinada serie de condiciones dadas, el tiempo necesario para destruir las células vegetativas o las esporas disminuye conforme aumenta la temperatura. Esto se pone de manifiesto en la Tabla 6.1 en la que se expresan los resultados obtenidos por Bigelow y Esty (1920) al someter a tratamiento térmico un jugo de maíz de pH 6,1 que contenía 115.000 esporas de bacterias del agriado plano por mililitro.
- 2 *La concentración inicial de esporas (o de células vegetativas).* Cuanto mayor es el número de esporas o células existentes, tanto más intenso es el tratamiento necesario para su total destrucción. Bigelow y Esty sometieron a tratamiento térmico de 120°C un jugo de maíz de pH 6,0 que contenía esporas de un microorganismo termófilo procedente de una conserva enlatada que se había alterado, obteniendo los resultados que se expresan en la Tabla 6.2.
- 3 *Los antecedentes de las células vegetativas o de las esporas.* En su grado de termostabilidad influirán tanto las condiciones del medio bajo las cuales

Tabla 6.1. Influencia de la temperatura de calentamiento sobre el tiempo necesario para destruir las esporas de las bacterias del agriado plano.

<i>Temperatura, °C</i>	<i>Tiempo de muerte térmica o tiempo para destruir todas las esporas, min.</i>
100	1.200
105	600
110	190
115	70
120	19
125	7
130	3
135	1

Fuente: Bigelow y Esty (1920).

Tabla 6.2. Influencia del número inicial de esporas sobre el tiempo necesario para destruirlas.

<i>Concentración inicial de esporas, número/ml</i>	<i>Tiempo de muerte térmica, o tiempo necesario para destruir todas las esporas, min. a 120 °C</i>
50.000	14
5.000	10
500	9
50	8

Fuente: Esty y Bigelow (1920).

han crecido las células, o se han originado las esporas, como su tratamiento posterior.

- a *El medio de cultivo.* El medio en el que tiene lugar el crecimiento tiene una extraordinaria importancia. La influencia que ejercen los nutrientes del medio, su tipo, y su concentración, será distinta para cada microorganismo, aunque, en general, cuanto más rico es el medio de crecimiento tanto más termorresistentes son las células vegetativas o las esporas. La existencia en el medio de un aporte apropiado de factores accesorios de crecimiento suele favorecer la aparición de células o de esporas termorresistentes. Esta probablemente sea la causa de que las infusiones de hortalizas y los extractos de hígado aumenten la termorresistencia de los microorganismos que contienen. Según Curran (1935), las esporas que se han originado y envejecido en la tierra o en los granos de avena son más termorresistentes que las que se han originado en el caldo nutritivo o en el agar nutritivo. Los hidratos de carbono, los aminoácidos, y los radicales

de ácidos orgánicos también influyen en la termorresistencia, aunque en estos casos resulta difícil pronosticar en qué sentido influirán. Una baja concentración de glucosa en el medio puede determinar un aumento de la termorresistencia, pero el aumento de la concentración de azúcar puede dar lugar a que se forme la suficiente cantidad de ácido para que provoque una disminución de la termorresistencia. Parece ser que algunas sales influyen de alguna manera en la termorresistencia; se dice que los iones fosfato y los iones magnesio, por ejemplo, disminuyen la termorresistencia de las esporas bacterianas que se han originado en un medio que las contenga. La prolongada exposición a productos metabólicos provoca la disminución de la termorresistencia, tanto de las células vegetativas como de las esporas.

- b *La temperatura de incubación.* Tanto la temperatura a la que crecen las células como la temperatura a la que se originan las esporas, influyen en sus respectivas termorresistencias. En general, la termorresistencia aumenta conforme la temperatura de incubación aumenta, aproximándose a la temperatura óptima de crecimiento del microorganismo y, en algunos microorganismos, la termorresistencia aumenta más conforme la temperatura se aproxima a su temperatura máxima de crecimiento. Cuando *Escherichia coli*, por ejemplo, crece a 38,5°C, que es una temperatura próxima a su temperatura óptima de crecimiento, es bastante más termorresistente que cuando crece a 28°C. Una suspensión de esporas de *Bacillus subtilis* en agua de peptona al uno por cien, que se habían originado a temperaturas distintas, fueron sometidas a calentamiento, obteniéndose los resultados que se expresan en la Tabla 6.3.
 - c *La fase de crecimiento o edad.* La termorresistencia de las células vegetativas depende de la fase de crecimiento en que se encuentran, mientras que la de las esporas depende de su edad. La termorresistencia de las células bacterianas es máxima en la etapa final de la fase lag, si bien es casi tan elevada durante la fase estacionaria máxima, teniendo lugar a continuación una disminución de la misma (véase el Capítulo 5). Durante la fase de crecimiento logarítmico, las células vegetativas son menos termorresistentes. Las esporas muy jóvenes (inmaduras) son menos resistentes que las maduras. La termorresistencia de algunas esporas aumenta durante las primeras semanas de almacenamiento, aunque después empieza a disminuir.
 - d *La desecación.* La destrucción de las esporas desecadas de algunas bacterias resulta más difícil que la de aquéllas que retienen humedad, aunque parece ser que esto no es cierto en todas las esporas bacterianas.
- 4 *La composición del sustrato en el cual se encuentran las células vegetativas o las esporas, al someterlas a tratamiento térmico.* El sustrato en el cual se encuentran las células vegetativas o las esporas cuando son sometidas a

Tabla 6.3. Influencia de la temperatura de esporulación de *Bacillus subtilis* sobre la termorresistencia de las esporas.

Temperatura de incubación, °C	Tiempo para destruirlas a 100 °C, min.
21-23	11
37 (óptima)	16
41	18

Fuente: Williams (1929).

Tabla 6.4. Influencia del pH sobre la termorresistencia de las esporas de *Bacillus subtilis*.

pH	Tiempo de supervivencia min.
4,4	2
5,6	7
6,8	11
7,6	11
8,4	9

Fuente: Williams (1929).

tratamiento térmico tiene tanta importancia que, si el tiempo de muerte térmica tiene que tener valor, se debe indicar de qué tipo de sustrato se trata.

a *La humedad.* El calor húmedo es un agente microbicida mucho más eficaz que el calor seco, y de aquí que para esterilizar los sustratos secos se necesite un calentamiento más intenso que el que se necesita para esterilizar los que contienen humedad. En un laboratorio de bacteriología, en un tiempo de unos 15 a 30 minutos a una temperatura de 121°C, el calor húmedo de un autoclave esterilizará los materiales que habitualmente se utilizan en el mismo, pero cuando para llevar a cabo su esterilización se emplea el calor seco de un horno de Pasteur, son necesarias temperaturas de 160 a 180°C durante 3 a 4 horas. En el vapor de agua a 120°C, las esporas de *Bacillus subtilis* se destruyen en menos de 10 minutos, pero en glicerol anhidro es necesario que actúe durante 30 minutos una temperatura de 170°C.

b *La concentración de iones hidrógeno (pH).* En general, tanto las células vegetativas como las esporas son más termorresistentes cuando se encuentran en un sustrato neutro o próximo a la neutralidad. Un aumento, tanto de la acidez como de la basicidad acelera su destrucción por el calor, si bien una desviación del pH hacia la acidez es más eficaz que un aumento de igual valor de la basicidad. Esporas de *B. subtilis* sometidas a calentamiento a 100°C en soluciones de fosfato 1:15 m, ajustadas a diversos valores de pH, dieron los resultados que se expresan en la Tabla 6.4. Al estudiar el tratamiento térmico de los alimentos enlatados se expondrán otros ejemplos.

Cameron (1940) clasificó los alimentos enlatados en **alimentos ácidos**, cuyo pH es inferior a 4,5, y **alimentos de acidez baja**, de pH superior a 4,5. Los alimentos ácidos incluyen las frutas corrientes y algunos preparados a base de hortalizas, mientras que entre los alimentos de acidez baja se incluyen la carne, los alimentos marinos, la leche, y la mayoría de las hortalizas corrientes. Fue también Cameron (1940) quien propuso otra subdivisión en los siguientes grupos:

- (1) **Alimentos de acidez baja**, con un pH superior a 5,3, que incluyen alimentos como los guisantes, el maíz, las judías de Lima¹, las carnes, el pescado, las canales de las aves de corral, y la leche (aunque en su división inicial Cameron sólo incluyó en este grupo las hortalizas y las frutas).
- (2) **Alimentos de acidez media**, con un pH comprendido entre 5,3 y 4,5, que incluyen alimentos como las espinacas, los espárragos, las remolachas, y la calabaza.
- (3) **Alimentos ácidos**, con un pH comprendido entre 4,5 y 3,7, que incluyen alimentos como los tomates, las peras y la piña americana².
- (4) **Alimentos muy ácidos**, con un pH de 3,7 o inferior, que incluyen alimentos como las bayas³ y el sauerkraut.

La influencia del pH del sustrato se complica por el hecho de que el tratamiento térmico a temperatura elevada provoca una disminución del pH en los alimentos de acidez baja y media; y cuanto mayor es el pH inicial del alimento, tanto mayor es el descenso del pH provocado por el calentamiento. Los alimentos cuyo pH inicial tiene valores inferiores a los comprendidos entre 5,5 y 5,8 modifican poco su acidez como consecuencia del calentamiento.

- c *Otros componentes del sustrato.* La única sal existente en la mayoría de los alimentos en cantidades estimables es el cloruro sódico, que, a bajas concentraciones, tiene una acción protectora sobre algunas esporas.

Parece ser que el azúcar protege a algunos microorganismos y a algunas esporas, pero no a la totalidad de ambas formas microbianas. La concentración óptima que ejerce esta protección es distinta para cada microorganismo: es elevada para algunos microorganismos osmófilos, mientras que para otros es baja, elevada para las esporas, y baja para las células vegetativas no osmófilas. Es posible que la acción protectora del azúcar esté relacionada con la disminución de la a_w resultante. La disminución de la a_w ocasiona un aumento de la termorresistencia conocida.

Los solutos ejercen acciones diferentes sobre las bacterias. La glucosa, por ejemplo, a valores de a_w próximos al mínimo indispensable para el crecimiento, protege mejor que el cloruro sódico, tanto a *Escherichia coli* como a *Pseudomonas fluorescens*, frente al calor. En cambio, la glucosa prácticamente no ofrece protección a *Staphylococcus aureus* o incluso resulta perjudicial para esta especie bacteriana, mientras que el cloruro sódico tiene una elevada acción protectora.

¹N. del T.: *Phaseolus lunatus*.

²N. del T.: Fruta tropical conocida también como ananá.

³N. del T.: Fresas, frambuesas, moras y grosellas.

Como quiera que la concentración de solutos de los alimentos puede influir en el tratamiento térmico a utilizar, a veces, los fabricantes de conservas enlatadas todavía los dividen en alimentos ricos en sólidos solubles, como son los jarabes y concentrados, y alimentos pobres en sólidos solubles, como son las frutas, las hortalizas, y las carnes.

Las sustancias coloidales, sobre todo las proteínas y las grasas, protegen frente al calor. En la Tabla 6.5 se puede observar perfectamente esta acción protectora examinando los datos aportados por Brown y Peiser (1916), quienes utilizaron los denominados puntos de destrucción térmica.

Las sustancias antisépticas o germicidas existentes en el sustrato cooperan con el calor en la destrucción de microorganismos. De aquí que el peróxido de hidrógeno, junto con la aplicación de calor, se emplee para reducir la carga bacteriana.

TERMORRESISTENCIA DE LOS MICROORGANISMOS Y DE SUS ESPORAS

La termorresistencia de los microorganismos se suele expresar como **tiempo de muerte térmica**, el cual se define como el tiempo necesario para destruir, a una determinada temperatura, un determinado número de microorganismos (o de esporas) bajo condiciones específicas. A veces se le denomina **tiempo de muerte térmica total** para diferenciarlo del **tiempo de muerte térmica mayoritaria**, el cual es el tiempo necesario para destruir la mayoría de las células vegetativas o la mayoría de las esporas, y de la tasa de muerte térmica, expresada como

Tabla 6.5. Influencia de las sustancias protectoras sobre la termorresistencia de las bacterias.

Sustancia	Temperatura, °C		
	<i>S. lactis</i>	<i>E. coli</i>	<i>L. bulgaricus</i>
Nata	69-71	73	95
Leche entera	63-65	69	91
Leche desnatada	59-63	65	89
Suero de leche	57-61	63	83
Caldo	55-57	61	

Se observará que conforme en los medios descienda la cantidad de sustancias protectoras (proteínas y grasa), descenderá la temperatura necesaria para destruir el microorganismo en 10 minutos.

Fuente: Brown y Peiser (1916).

velocidad de destrucción. El **punto de muerte térmica**, poco utilizado en la actualidad, es la temperatura necesaria para destruir la totalidad de los microorganismos en un tiempo de 10 minutos.

Las referencias de distintos autores acerca de la termorresistencia de varias especies de levaduras, de mohos, y de bacterias y sus esporas, no concuerdan del todo debido a los distintos medios de cultivo utilizados y a las diferentes condiciones bajo las cuales se realizó el calentamiento. Por consiguiente, únicamente se harán generalizaciones cuando se trate de los resultados de ciertos autores que se citan a modo de ejemplos.

Termorresistencia de las levaduras y de sus esporas

La termorresistencia de las levaduras y de sus esporas al calor húmedo depende de la especie e incluso de la cepa y, naturalmente, del sustrato con el cual se someten a calentamiento. En general, para destruir las ascosporas de las levaduras sólo son necesarios de 5 a 10°C de temperatura por encima de la necesaria para destruir las células vegetativas a partir de las cuales se han originado. La mayoría de las ascosporas son destruidas por una temperatura de 60°C actuando durante un tiempo de 10 a 15 minutos; algunas son más resistentes, aunque ninguna es capaz de resistir, ni siquiera durante un corto espacio de tiempo, un calentamiento a 100°C. Las células vegetativas de las levaduras suelen ser destruidas por temperaturas comprendidas entre 50 y 58°C en un tiempo de 10 a 15 minutos. Tanto las levaduras como sus esporas, son destruidas por los tratamientos de pasteurización a los que se somete la leche (62,8°C durante 30 minutos o 71,7°C durante 15 segundos), siendo ésta la razón de que las levaduras se destruyan durante la cocción del pan, en cuyo interior la temperatura alcanza aproximadamente 97°C.

Termorresistencia de los mohos y de las esporas de mohos

La mayoría de los mohos y sus esporas son destruidos por el calor húmedo a 60°C en un tiempo de 5 a 10 minutos, aunque algunas especies son bastante más termorresistentes. Las esporas asexuales son más resistentes que el micelio normal, ya que para que se destruyan en un tiempo dado, se necesita una temperatura de 5 a 10°C superior a la que se necesita para conseguir la destrucción de aquél. Muchas especies del género *Aspergillus* y algunas de los géneros *Penicillium* y *Mucor* son más termorresistentes que otros mohos; *Byssoschlamys fulva* (*Paecilomyces*) es un moho muy termorresistente que crece en la superficie de las frutas, provisto de ascosporas resistentes. Los tratamientos de pasteurización a los que se somete la leche suelen destruir la totalidad de los mohos y sus esporas, aunque las esporas de algunos aspergilos, que de ordinario no se encuentran en la leche, serían capaces de resistir este tipo de tratamiento térmico.

Resulta extraordinariamente difícil destruir por el calor los esclerocios. Algunos son capaces de resistir un tratamiento térmico de 90 a 100°C durante un tiempo corto, y se ha sabido que provocan la alteración de las conservas de frutas enlatadas. Se comprobó que para conseguir la destrucción de los esclerocios de una especie de *Penicillium* se necesitaba una temperatura de 82,2°C durante 1.000 minutos o una temperatura de 85°C durante 300 minutos.

Las esporas de los mohos son muy resistentes al calor seco a la temperatura de 120°C. Los datos de algunos autores indican que la actuación del calor seco durante 30 minutos no destruirá algunas de las esporas más resistentes.

Termorresistencia de las bacterias y de las esporas bacterianas

La termorresistencia de las células vegetativas de las bacterias es de muy diferente grado en cada una de las especies, oscilando desde cierta termorresistencia de las poco patógenas, las cuales son destruidas con facilidad, hasta la de las termófilas, las cuales, para que se destruyan, es posible que requieran el empleo de temperaturas de 80 a 90°C durante varios minutos. En relación con la termorresistencia de las células vegetativas de las bacterias, se pueden hacer unas cuantas afirmaciones de tipo general: (1) Los cocos suelen ser más resistentes que los bacilos, aunque existen muchas excepciones importantes, (2) cuanto más elevadas son las temperaturas óptima y máxima de crecimiento, tanto mayor es el grado de termorresistencia que es probable que se presente, (3) las bacterias que forman agrupaciones integradas por una gran cantidad de células o que forman cápsula, resultan más difíciles de destruir que las que no se agrupan o que las no capsulógenas, (4) las células bacterianas con un elevado contenido de lípidos resultan más difíciles de destruir que las demás.

En la Tabla 6.6 se ofrecen ejemplos del tiempo de muerte térmica de las células vegetativas de algunas especies bacterianas.

Se debe recordar que estos tiempos de muerte térmica (y los que se indicarán después para las esporas bacterianas) corresponden a distintas concentraciones de células vegetativas (o de esporas), sometidas a calentamiento en distintos

Tabla 6.6. Tiempo de muerte térmica de algunas células bacterianas.

Bacteria	Tiempo, min.	Temperatura, °C
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	2-3	50
<i>Salmonella typhi</i>	4,3	60
<i>Staphylococcus aureus</i>	18,8	60
<i>Escherichia coli</i>	20-30	57,3
<i>Streptococcus thermophilus</i>	15	70-75
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> *	30	71



sustratos, y es posible que sean mayores o menores que los señalados bajo otras condiciones.

El grado de termorresistencia de las esporas bacterianas es extraordinariamente variable en cada una de las especies, dependiendo de las condiciones existentes en el medio en el momento que tuvo lugar la esporulación. La resistencia a la temperatura de 100°C puede oscilar desde menos de 1 minuto a más de 20 horas. Por regla general, las esporas de las bacterias cuyas temperaturas óptima y máxima de crecimiento son elevadas, son más termorresistentes que las de aquellas bacterias que crecen mejor a temperaturas más bajas. O bien es posible que una especie esporógena que ha crecido junto con otra cuya termorresistencia es de grado más elevado, haya aumentado su termorresistencia, como es el caso de *Clostridium perfringens* cuando crece junto con *C. sporogenes*. En la Tabla 6.7 se ofrecen ejemplos de tiempos de muerte térmica de las esporas de algunas especies de bacterias.

Termorresistencia de los enzimas

Aunque la mayoría de los enzimas, tanto los existentes en los alimentos como los propios de las células bacterianas, se destruyen a 79,4°C, algunos pueden soportar temperaturas más elevadas, sobre todo si se emplea el calentamiento a temperatura elevada durante un tiempo corto.

Uno de los objetivos de todo tratamiento térmico (Witter, 1983) consiste en inactivar los enzimas capaces de alterar los alimentos mientras permanecen almacenados. Por lo general, los tratamientos térmicos ideados para inactivar los microorganismos también inactivarán los enzimas importantes. No obstante, existen excepciones dignas de ser tenidas en cuenta. Algunas hidrolasas (las proteinasas y las lipasas), por ejemplo, conservarán un importante grado de actividad tras un tratamiento térmico a temperaturas extraordinariamente elevadas. Durante un almacenamiento prolongado, la actividad residual de estos enzimas puede alterar los alimentos después de haber sido sometidos a tratamiento térmico. Otro enzima, la fosfatasa bovina, se utiliza de hecho como «control» en la pasteurización de la leche. El hallazgo de este enzima bovino en la leche tratada suele indicar que su pasteurización no fue apropiada. Si en la leche

Tabla 6.7. Tiempo de muerte térmica de algunas esporas bacterianas.

<i>Esporas de</i>	<i>Tiempo para destruirlas a 100 °C, min.</i>
<i>Bacillus anthracis</i>	1,7
<i>Bacillus subtilis</i>	15-20
<i>Clostridium botulinum</i>	100-330
<i>Clostridium calidotolerans*</i>	520
Bacterias del agriado plano	Más de 1.030

existen elevadas concentraciones de fosfatasa microbiana, es posible que se obtengan resultados falsamente positivos.

DETERMINACION DE LA TERMORRESISTENCIA (TIEMPO DE MUERTE TERMICA)

La descripción detallada de todas las técnicas y de todo el material que se utilizan para determinar la termorresistencia de las esporas bacterianas, queda fuera del alcance de esta obra. Para realizar el estudio de los métodos que se utilizan para preparar la suspensión de esporas y someterla a calentamiento, así como del material diverso que se emplea, véase la obra de Nickerson y Sinskey (1972). Asimismo, en el National Canners Association Manual¹ (1968) se puede encontrar un estudio detallado de todos cuantos aspectos están relacionados con la determinación de la termorresistencia.

Únicamente se describirá el método de los tubos de vidrio de Esty y Meyer (1922) para determinar el tiempo de muerte térmica, y se hará una breve mención de los métodos más complicados que se emplean en los laboratorios de las industrias de conservas enlatadas. En el método de los tubos, una suspensión estandarizada de esporas (o de células vegetativas) en solución tampón, o una suspensión del alimento, se deposita en pequeños tubos de vidrio, los cuales se cierran a continuación herméticamente, y se calientan en un baño maría en el que se regula la temperatura elegida mediante termostato. A intervalos regulares, se van retirando los tubos, se enfrían a continuación y, o bien se incuban directamente, o se resiembran en un medio apropiado y después se incuban con el fin de determinar el crecimiento de supervivientes². A continuación se describe sucintamente este método.

Preparación de la suspensión de esporas (o de células vegetativas)

Según la intensidad del tratamiento térmico que se emplee (Tabla 6.8), se utilizan como «microorganismos problema» diferentes especies de bacterias. Los microorganismos a ensayar se siembran en un medio de cultivo que se incuba a una determinada temperatura durante un determinado tiempo con el fin de que produzcan esporas (o células vegetativas) resistentes. Se obtienen arrastrándolas por lavado de los medios sólidos o por centrifugación de los medios líquidos, se suelen lavar, y se prepara una suspensión de los mismos. Se debe procurar

¹N. del T.: Manual de la Asociación Nacional de Fabricantes de Conservas Enlatadas.

²N. del T.: Esporas o células vegetativas bacterianas que han resistido el tratamiento térmico.

Tabla 6.8. Bacterias utilizadas como microorganismos-prueba.

<i>Bacterias utilizadas</i>	<i>Tratamiento o finalidad de la prueba</i>
<i>Clostridium sporogenes</i> (P.A. 3679)	Pruebas de inoculación de envases
<i>Bacillus subtilis</i> var <i>niger</i> * sin. <i>B. globigii</i> , ATCC 9372)	Pruebas con aire caliente y óxido de etileno
<i>Bacillus pumilus</i> (ATCC 27142)	Esterilización con cobalto o con rayos gamma
<i>Bacillus stearothermophilus</i> (ATCC 7953)	Esterilización con vapor
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	Esterilización con vapor

disgregar o eliminar los agregados, o de lo contrario los resultados serán falsos. Esto se consigue mediante agitación de los tubos a los que previamente se les habrá incorporado unas perlas de vidrio o unos granos de arena¹, o mediante filtración a través de algodón, gasa, papel de filtro, etc. A veces, las suspensiones de esporas se vuelven a incubar durante 24 horas para conseguir que esporule la totalidad de las mismas. A continuación, las suspensiones de esporas se pasteurizan para destruir las células vegetativas, las cuales podrían ejercer una acción protectora de las esporas. Inmediatamente después, mediante cultivo² o mediante un método de recuento directo, se determina el número de esporas (o de células vegetativas) por unidad de volumen de la suspensión. Esta solución madre se diluye en el medio de calentamiento hasta obtener la concentración de esporas o de células vegetativas elegida para realizar la prueba y se distribuye en volúmenes de 1 ml en ampollas de vidrio, las cuales se cierran herméticamente y se someten a refrigeración. El medio en el cual se tienen que someter a calentamiento las células vegetativas o las esporas puede ser una solución de tampón de fosfato, un alimento, o una suspensión del mismo. El volumen de suspensión que se añade al medio de calentamiento debe ser pequeño (1-2%) con el fin de evitar que se modifique la composición del medio de calentamiento. Se recomienda una concentración de aproximadamente 1 millón (1×10^6) de esporas o de células vegetativas por mililitro o por gramo.

¹N. del T.: Obviamente, tanto las perlas de vidrio como los granos de arena deben haber sido esterilizados previamente.

²N. del T.: Siembra de un determinado volumen de la suspensión en un medio sólido, incubación, y recuento del número de colonias.

Calentamiento para determinar el tiempo de muerte térmica

El calentamiento de las ampollas se lleva a cabo en un baño de aceite para temperaturas elevadas o en un baño maría para temperaturas inferiores a 100°C, provisto de dispositivo de agitación y de termostato. Todos los tubos se calientan a la misma temperatura durante fracciones de tiempo distintas. Se adoptan las siguientes precauciones:

- 1 Antes de introducir las ampollas en el baño, se enfrían hasta una determinada temperatura, generalmente hasta 0°C, cosa que se consigue introduciéndolas en un baño de agua de hielo. Antes de comenzar a contar el tiempo, se someten a precalentamiento durante un tiempo arbitrario, por ejemplo, 30 segundos. A veces, antes de introducir en el baño las ampollas que contienen esporas termorresistentes, se someten a precalentamiento a 100°C en agua hirviendo.
- 2 Cuando se emplea un baño de aceite, las ampollas se secan antes de introducirlas en el baño y se cierran herméticamente con cuidado, ya que el agua provocará la formación de espuma de aceite.
- 3 Si se introducen al mismo tiempo muchas ampollas refrigeradas en el baño, se descuenta un determinado tiempo debido a que aquél se enfría.
- 4 Si se desea que la determinación sea exacta, se debe utilizar el método de la serie de tubos. En las pruebas orientativas se deben utilizar dos series de cinco tubos, y de veinticinco a treinta cuando se retiran del baño cada poco tiempo. Cuanto menor sea el número de tubos de las dos series, tanto más probable es que aparezcan «saltos», es decir, que, una vez ha transcurrido un determinado tiempo de calentamiento, no exista supervivencia, y, en cambio, exista supervivencia transcurrido un tiempo más prolongado de calentamiento de los tubos.
- 5 El enfriamiento debe ser inmediato y rápido, solíéndose llevar a cabo en agua de hielo.

Prueba de la viabilidad (supervivencia)

Si el sustrato en el cual se realiza el calentamiento es un medio de cultivo apropiado para el microorganismo y éste es capaz de crecer en anaerobiosis, se pueden incubar las ampollas para comprobar el crecimiento de supervivientes. De no ser así, el contenido de las ampollas se resiembró en un medio de cultivo apropiado, el cual se incubó a la temperatura óptima de crecimiento del microorganismo en cuestión. Si se desea conocer el número de supervivientes, se hace un recuento por el método de las placas de agar o por otro método de cultivo. La composición del medio utilizado para comprobar la supervivencia es muy importante, ya que es posible que las esporas o las células vegetativas que han estado expuestas a tratamientos térmicos intensos sean más exigentes, por lo que se

refiere a su demanda de nutrientes, que las esporas o que las células vegetativas antes de ser sometidas a calentamiento.

En lugar de ampollas, los laboratorios de la American Can Company utilizan latas planas especiales en las que es posible hacer el vacío, susceptibles de ser cerradas herméticamente, y que después se calientan y enfrían en unos esterilizadores de vapor de capacidad reducida. Los operarios de los laboratorios de la National Food Processors Association utilizan un autoclave provisto de unas válvulas, del cual es posible extraer periódicamente muestras en condiciones de asepsia. Esta técnica resulta útil para determinar las tasas de muerte térmica. Algunos de estos procedimientos han sido descritos con detalle por López (1981).

GRAFICAS DEL TIEMPO DE MUERTE TERMICA (TDT)

Uno de los métodos que se utilizan tanto para obtener los datos como para trazar las gráficas del TDT es el denominado **método de la existencia-ausencia de crecimiento**. En la Tabla 6.9 se ofrece un ejemplo de los datos que se pudieron obtener mediante este procedimiento utilizando una serie de seis tubos

Tabla 6.9. Datos de tiempo de muerte térmica.

Temperatura	Tiempo de calentamiento corregido min.	Número de muestras	
		Calentadas	Positivas
110 °C (230 °F)	25	6	6
	40	6	6
	60	6	6
	80	6	5
	110	6	0
	140	6	0
115,6 °C (240 °F)	10	6	6
	14	6	6
	18	6	6
	22	6	2
	28	6	0
	36	6	0
121 °C (250 °F)	3	6	6
	4	6	6
	5,5	6	2
	7,5	6	0
	10	6	0
	13	6	0

Fuente: Resumido de la National Canners Association (1968). Datos relativos a *Clostridium sporogenes* (P.A. 3679) en guisantes escurridos.

o ampollas en cada fracción de tiempo. A una temperatura de calentamiento de 110°C durante 110 minutos, en ninguno de los seis tubos hubo supervivientes, pero sí los hubo después de 80 minutos de calentamiento. Por lo tanto, en estas condiciones específicas (número de esporas, medio de calentamiento, etc.) el tiempo de muerte térmica a la temperatura de 110°C es superior a 80 minutos, pero inferior o igual a 110 minutos.

Si los valores del TDT de la Tabla 6.9 se representan en un papel con cuadrícula semilogarítmica, se obtiene la gráfica de la Figura 6.2. Los valores de la temperatura se representan como valores aritméticos, mientras que los valores correspondientes a los tiempos en minutos se representan como logaritmos o en una escala logarítmica. En este ejemplo, se traza una línea recta (línea A) de forma que

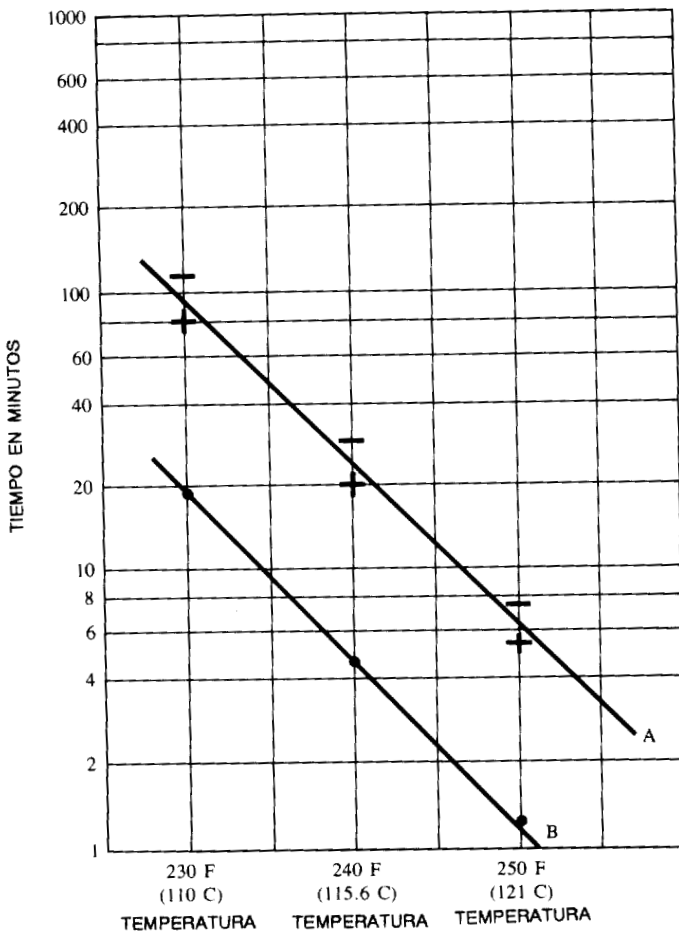


Figura 6.2. Gráfica de TDT construida con los datos en la Tabla 6.9.

queden por encima de la misma todos los puntos correspondientes a la existencia de supervivientes y por debajo de ella todos los puntos correspondientes a la destrucción de microorganismos. En lugar de proceder como se acaba de exponer, se pueden unir con una línea todos los puntos correspondientes a la existencia de supervivientes y se traza otra línea que una todos los puntos de destrucción. En este caso se traza una línea recta que sea la media de las pendientes de las dos líneas trazadas anteriormente. El clásico método del punto final de Bigelow y E sty (1920) es bastante parecido al método anterior, diferenciándose del mismo en que en él se obtiene supervivencia en uno solo de los varios tubos que se someten a una misma temperatura de calentamiento. En la técnica original de este método, por ejemplo, se utilizaba una población de 6×10^9 esporas, y el calentamiento se prolongaba hasta que solamente uno de cada diez tubos contenía uno o más microorganismos supervivientes. A efectos prácticos, esto representa una población de 6×10^{10} esporas que se está reduciendo a tal vez 1 espora. El tiempo necesario para conseguir esta reducción del número de esporas se puede utilizar de forma arbitraria como TDT. Se pueden representar gráficamente los TDTs tal como se ha expuesto anteriormente, y, después de ello, se puede obtener la correspondiente gráfica del TDT.

Un tercer procedimiento para construir la gráfica del TDT consiste en obtener primeramente las gráficas de tasa de muerte o las gráficas de supervivencia a

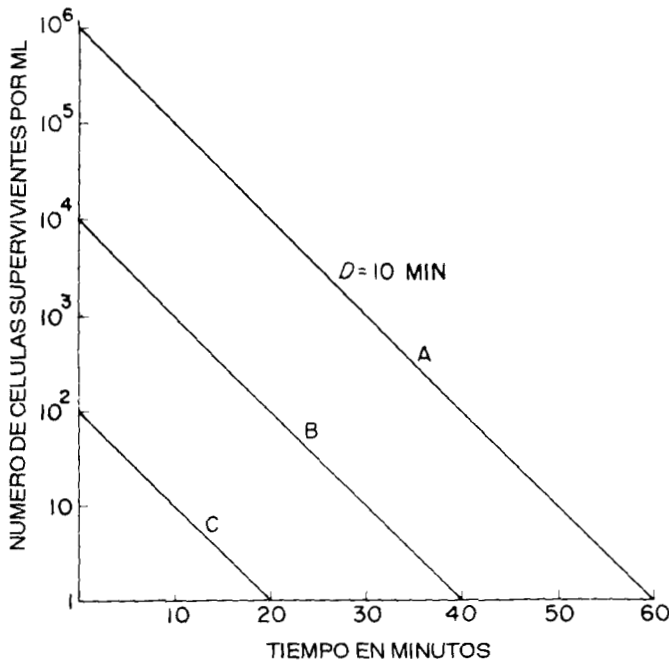


Figura 6.3. Gráficas de supervivientes teóricos.

varias temperaturas. Por ejemplo, si durante el calentamiento de una población de esporas se hacen recuentos de las supervivientes coincidiendo con cada una de las fracciones de tiempo transcurrido, se puede trazar una gráfica de supervivencia. Tal como se representa en la Figura 6.3, el número de supervivientes se traslada a una escala logarítmica, mientras que los valores del tiempo se sitúan en una escala aritmética. La línea que une cada par de valores correspondientes es la gráfica de tasa de muerte. La notación D se emplea para designar el tiempo de reducción decimal, es decir, el tiempo de calentamiento a una temperatura determinada que ocasiona una reducción del 90 por cien en el recuento de esporas (o de células vegetativas) viables. Se trata del tiempo que dura un ciclo logarítmico de la gráfica de supervivencia. En las gráficas teóricas de la Figura 6.3, D es igual a 10 minutos. Si se conocen los valores de D a varias temperaturas, se puede construir una gráfica del TDT correspondiente a una suspensión de esporas dada. En este caso, se representan los valores de D (en minutos) en la escala logarítmica del papel semilogarítmico, mientras que los grados Fahrenheit se representan en la escala aritmética. Una línea que se trazara uniendo estos puntos representaría

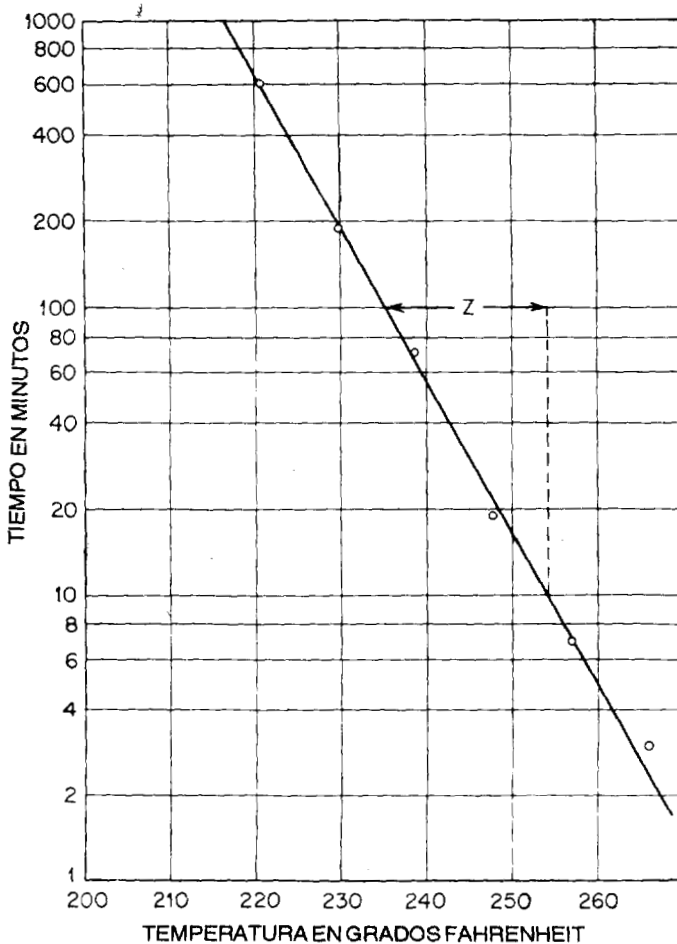


Figura 6.4. Gráfica de TDT correspondiente a las esporas de las bacterias del agriado plano; 115.000 esporas por mililitro en un maíz de pH 6,1 ($z = 19$).

una gráfica de TDT. En realidad, a esta línea se le debería denominar curva del TDT «fantasma» ya que su pendiente es correcta, pero no su posición cuando se compara con los puntos representados a partir de los tiempos de la total destrucción de una determinada concentración de esporas. La línea *B* de la Figura 6.2 se ha trazado a partir de los valores de *D* correspondientes a los datos obtenidos en la experiencia utilizada para trazar la línea *A*.

Si se utiliza el método del punto final o el método de la presencia-ausencia de crecimiento, o los valores del *D*, se representan los TDTs para obtener una gráfica del TDT igual que la de la Figura 6.4, para cuya construcción se han tomado los datos de la Tabla 6.1 que corresponden a los TDTs a distintas temperaturas de las esporas de las bacterias causantes del agriado plano. La línea recta indica que el ritmo de la muerte térmica es logarítmico, o dicho de otro modo, que la tasa de muerte es constante. A partir de la línea recta obtenida, o a partir de una prolongación de la misma, se pueden calcular los TDTs para tiempos y temperaturas no representados en la gráfica. A la pendiente de la línea se le denomina valor de *z* y es el intervalo de temperatura, expresado en grados Fahrenheit, necesario para que la línea cruce un ciclo logarítmico en el papel semilogarítmico. Dicho en otros términos, *z* representa los grados Fahrenheit necesarios para reducir diez veces el TDT. El valor de *z* también se puede expresar en grados Celsius, pero en este caso se debe utilizar la notación *z* °C. El valor de *F* es el tiempo en minutos necesario para destruir el microorganismo en un medio de composición específica, a la temperatura de 250 °F (121,1 °C). En la Figura 6.4, el valor de *z* no corregido es 19, y el valor de *F*¹ es de 16,4 minutos. Estos valores variarán en función de la termorresistencia y de la concentración del microorganismo que se ensaya, y de la composición del medio en el cual se somete a calentamiento. A partir de los valores de *z* y de *F* se puede calcular la duración del tratamiento térmico.

CONCEPTO DE 12*D*

Los valores «clásicos» o la duración del TDT correspondientes a las esporas de *C. botulinum* son los que indicaron Esty y Meyer (1922). El número total de esporas que utilizaron en sus experiencias fue de $6,0 \times 10^{10}$, que redujeron a 0,1 de espora durante el calentamiento a 250 °F (121 °C). Si bien sus TDTs se basaron en la total destrucción de la citada población, se suele suponer que el valor 12*D*, o reducción de 12 ciclos logarítmicos, se calcula a partir de la correspondiente

¹ La notación *F*₀ se utiliza para expresar el valor de *F* cuando *z* es igual a 18; el valor de *z* para muchas de las bacterias esporógenas más resistentes, y por consiguiente para aquéllas que tienen importancia en las industrias de conservas enlatadas, con frecuencia se aproxima a 18, y de aquí que se suele utilizar este valor cuando es preciso calcular el tiempo que debe durar el tratamiento térmico.

gráfica del TDT. A partir de la gráfica de Esty y Meyer se obtuvo un TDT de 2,78 minutos utilizando una temperatura de calentamiento de 250 °F. Townsend y otros (1938), teniendo en cuenta la duración de la fase lag, volvieron a calcular estos datos y para *Clostridium botulinum* de tipo A obtuvieron un valor de *F* de 2,45 minutos utilizando como temperatura de calentamiento la de 250 °F. La pendiente de esta gráfica del TDT se basa en un valor de *z* de 18 F (en realidad de 17,6 F); por consiguiente, a partir de la gráfica se pueden obtener valores de *F* correspondientes a otras temperaturas.

Como medida de seguridad, para las esporas de *C. botulinum* existentes en los alimentos de baja acidez, la industria de conservas enlatadas ha recomendado un tratamiento térmico de 12*D*, es decir, el suficiente calor o la suficiente letalidad del tratamiento térmico para reducir el número de esporas por mililitro desde 10^{12} a 1. En realidad, las poblaciones iniciales nunca se aproximarían a 10×10^{12} de esporas por mililitro o por gramo; por consiguiente, el valor 12*D* refleja el tratamiento térmico necesario para destruir las últimas fracciones de una determinada espora, o una sola espora, que sobrevivan en una sola lata perteneciente a un lote que conste de un número extraordinariamente elevado de latas sometidas a

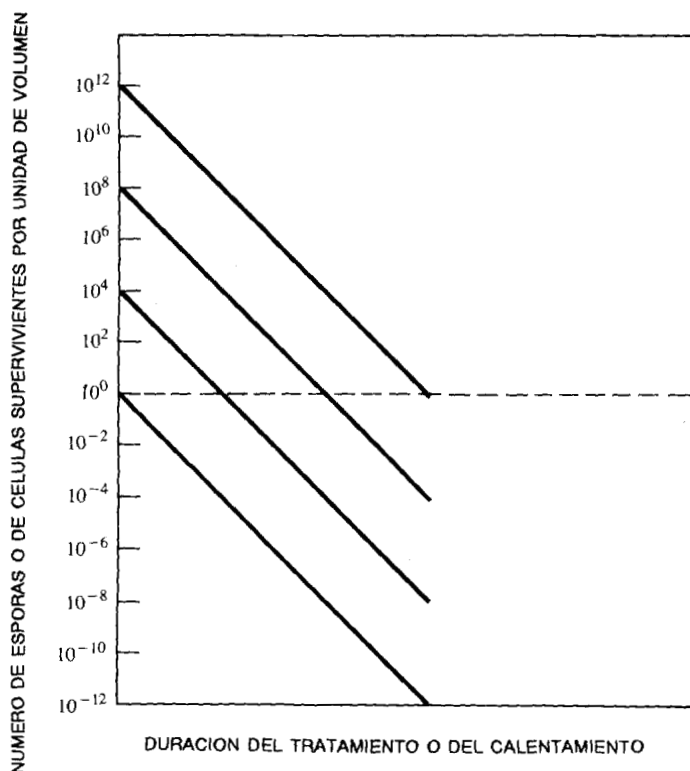


Figura 6.5. Extrapolación de gráficas de supervivientes teóricos correspondientes a un tiempo de reducción decimal de 12*D* o a 12 ciclos de reducción logarítmica.

tratamiento térmico (Figura 6.5). Stumbo (1964) explicó el concepto de $12D$ de la forma siguiente: suponiendo que D tiene un valor de 0,21 minutos para *C. botulinum* a 250 °F y que cada una de las latas de alimento contiene una sola espora, un tratamiento térmico a 250 °F durante 2,52 minutos reduciría el número de esporas de *C. botulinum* a una sola espora en 10^{12} latas. Esto se puede expresar matemáticamente de la forma siguiente:

$$\begin{aligned} F_0 &= D_{250}(\log a - \log b) \\ &= 0,21 (\log 1 - \log 10^{-12}) \\ &= 0,21 \times 12 = 2,52 \end{aligned}$$

A la vez que se considera que los tratamientos térmicos que se emplean comercialmente para eliminar los microorganismos esporógenos termófilos más termorresistentes normalmente sobrepasan este valor de F_0 (no son raros los tratamientos en los que F_0 tiene un valor comprendido entre 6,0 y 8,0), se establece un margen de seguridad adicional. Por consiguiente, a pesar de que se utiliza universalmente, el concepto de $12D$ es un tanto arbitrario.

Si se examina la Figura 6.3, se puede comprender mejor la correspondencia existente entre los valores de D y el espacio de tiempo necesario para reducir el número de microorganismos de una determinada población cuando se conoce o se da por sabido un determinado valor de D .

Según se representa en la gráfica de la citada figura, cuanto mayor es el número inicial de células o esporas, tanto más tiempo se tardará en reducirlo a una sola por mililitro. Con un valor de D de 10 minutos, como en la figura, se necesitarían 60 minutos para que tuviera lugar la citada reducción si el número inicial de esporas fuese de 1 millón por mililitro, mientras que sólo se necesitarían 20 minutos si su número inicial fuese de 100 esporas. Transcurridos 80 minutos de tratamiento térmico, teóricamente habría 0,01 de espora por cada 100 mililitros del medio de calentamiento. Asimismo, en la Figura 6.5 se representa gráficamente el concepto del tratamiento térmico necesario para conseguir que existan fracciones de espora por unidad de volumen del medio de calentamiento o para que exista una sola espora en un volumen mayor del citado medio. No siempre las gráficas de supervivencia son líneas rectas como las representadas en la citada figura. Las gráficas convexas se han atribuido al agrupamiento de la células vegetativas o de las esporas, o a la capacidad de las células vegetativas dañadas por el tratamiento térmico para reparar, hasta cierto punto, las lesiones que han experimentado.

Se ha supuesto que las gráficas cóncavas son consecuencia del distinto grado de resistencia de las células o de las esporas. En el primer tramo de la gráfica puede aparecer una parte saliente, que indica que la inactivación de las células vegetativas o de las esporas transcurre con mayor lentitud, y otras veces, cuando el número de microorganismos ha disminuido mucho, la gráfica puede descender de forma gradual, lo cual indica que existe un reducido número de células vegetativas, o de esporas dotadas de un grado de termorresistencia más elevado que el de las demás. De hecho, la muerte de las bacterias no se suele conseguir con una temperatura de calentamiento constante, ya que ésta aumenta desde que se

empieza a aplicar el calor y disminuye durante el enfriamiento. Por consiguiente, la gráfica de supervivencia a la temperatura que alcanza la caldera no es suficiente para calcular la intensidad del tratamiento térmico. Según se indicará más adelante, se tienen en cuenta las tasas de mortalidad correspondientes a diferentes temperaturas letales, tanto durante el calentamiento como durante el enfriamiento de las latas.

Por lo que se refiere a las conservas enlatadas de alimentos de baja acidez, se considera que el valor mínimo de F_0 para que la esterilización sea fiable para la salud pública es de 3,0 minutos (valor obtenido por redondeo de $F_0 = 2,52$). Tanto las condiciones que concurren durante el calentamiento como la composición del alimento, influyen en la termoresistencia registrada en *C. botulinum*, y también en los demás microorganismos. Así por ejemplo, conforme disminuye el pH del medio de calentamiento también disminuyen los valores de D . Según Pflug y otros (1985), los valores de esterilización mínimos equivalentes, fiables para la salud pública, a la temperatura de 250°F, correspondientes a *C. botulinum*, serían de 3,0 minutos a pH 7,0, de 3,0 minutos a pH 6,0, de 2,3 minutos a pH 5,5, de 1,6 minutos a pH 5, y de 1,2 minutos a pH 4,6.

PENETRACION DEL CALOR

Es preciso conocer la velocidad con que penetra el calor en un alimento con el fin de calcular el tratamiento térmico necesario para su conservación. Como quiera que cada una de las porciones del alimento existente en el interior de la lata, o de cualquier otro recipiente, debe recibir un tratamiento térmico apropiado para evitar que se altere, aquella porción que se calienta con mayor lentitud es la más conflictiva, de aquí que se deban determinar los cambios de temperatura de esa porción (que generalmente está próxima al centro del contenido del recipiente cuando se trata de alimentos que se calientan por conducción y, bastante más por debajo del centro cuando su calentamiento tiene lugar por convección).

La penetración del calor desde una fuente externa hasta el centro de la lata puede tener lugar por conducción, en cuyo caso el calor se transmite de molécula a molécula; por convección, en cuyo caso el calor se transmite por el desplazamiento de líquidos o de gases; o, como suele suceder en la mayoría de los casos, por una combinación de la conducción y de la convección. La conducción es lenta en los alimentos, mientras que en los metales es rápida. La velocidad de la transmisión del calor por convección depende tanto de la posibilidad de que se originen corrientes en la porción líquida como de la velocidad de flujo de estas corrientes.

En aquellos casos en los que en el calentamiento de los alimentos intervienen tanto la conducción como la convección, estos mecanismos de transmisión del calor pueden actuar simultáneamente o uno después del otro. Si en un líquido existen partículas sólidas del alimento en suspensión, las partículas se calientan

por conducción, mientras que el líquido se calienta por convección. Algunos alimentos cambian de consistencia durante su calentamiento, y de aquí que la curva de calentamiento que se obtiene sea una curva interrumpida. Esto se cumple en los jarabes azucarados, en los granos enteros de maíz envasados con salmuera, y también en algunas sopas espesas y en algunos zumos de tomate espesos. Los factores que determinan el tiempo necesario para que el centro del alimento contenido en el recipiente alcance la temperatura de esterilización son los siguientes:

- 1 *Material de que está hecho el recipiente.* Un recipiente de vidrio se calienta a una velocidad más lenta que una lata de metal.
- 2 *Tamaño y forma del recipiente.* Cuanto de mayor tamaño es una lata, tanto más tiempo tardará en alcanzar una determinada temperatura en el centro, ya que en la lata de mayor tamaño la distancia hasta el centro es mayor, y su superficie en relación con su volumen, o con su peso, es menor. Por consiguiente, las latas de mayor tamaño tardan proporcionalmente más tiempo en calentarse, aunque en el centro no alcanzan una temperatura tan alta como en el resto del contenido. Naturalmente que la forma de la lata es la que determina la longitud del radio; una lata de forma cilíndrica alargada se calentará más rápidamente que un volumen igual del mismo alimento contenido en una lata de forma cilíndrica de radio mayor.
- 3 *Temperatura inicial del alimento.* De hecho, la temperatura del alimento que contiene la lata cuando se introduce en la caldera (esterilizador de vapor), prácticamente no hace variar el tiempo necesario para que el centro de la lata alcance la temperatura de la caldera, ya que un alimento cuya temperatura inicial es baja se calienta con mayor rapidez que el mismo alimento con una temperatura inicial más elevada. No obstante, el alimento cuya temperatura inicial es más elevada permanece durante más tiempo dentro del intervalo de temperaturas letales para los microorganismos, y, por lo tanto, su temperatura media durante el calentamiento es más elevada que la del alimento enlatado cuya temperatura inicial es menor. A la hora de someter a tratamiento térmico alimentos enlatados que se calientan lentamente, como por ejemplo el maíz con nata, la calabaza y la carne, es importante que la temperatura inicial del alimento sea elevada.
- 4 *Temperatura de la caldera.* Latas de alimentos de forma y tamaño iguales, introducidas en calderas a temperaturas diferentes, alcanzan las respectivas temperaturas prácticamente al mismo tiempo; no obstante, en la caldera que se encuentra a una temperatura más elevada, el calentamiento sería más rápido, y, por lo tanto, el alimento alcanzaría antes las temperaturas letales.
- 5 *Consistencia del contenido de la lata y tamaño y forma de las piezas.* Todos estos parámetros influyen de forma importante en la penetración del calor. Tanto el tamaño como el comportamiento de las piezas de alimento y cuanto les ocurre durante su cocción, justifica su división en tres categorías:

- a *Piezas que conservan su identidad*, es decir, que no se cuecen aparte. Son ejemplos de este tipo de alimentos, los guisantes, las ciruelas, las remolachas, los espárragos, y el maíz de grano entero. Si las piezas son pequeñas y se encuentran en salmuera, como ocurre en los guisantes, su calentamiento tiene lugar como si se encontrasen en agua. Si los trozos son grandes, su calentamiento es más lento debido a que el calor tiene que penetrar hasta el centro de los trozos antes de que el líquido pueda alcanzar la temperatura de la caldera. Las raíces de remolacha de gran tamaño y los tallos gruesos de espárragos se calientan de modo más lento que estas mismas hortalizas cuando las piezas son de menor tamaño.
- b *Piezas que se cuecen aparte y se ablandan o se vuelven viscosas*. Este tipo de alimentos se calientan lentamente porque el calor penetra principalmente por conducción más que por convección. Esto tiene lugar en el maíz de tipo nata, en el calabacín, en la calabaza, y en las batatas.
- c *Piezas que forman capas*. Los espárragos se disponen de forma vertical en el interior de la lata; por consiguiente, las corrientes de convección circulan principalmente de arriba hacia abajo. Las espinacas forman capas horizontales, produciendo un efecto «pantalla» que obstaculiza las corrientes de convección. La formación de capas está influida en gran parte por el grado de llenado de la lata.

La consistencia del contenido de la lata está influida por la adición de algunas salsas. La adición de salsa de tomate a las alubias cocidas retarda más que la salsa corriente la penetración del calor. El almidón obstaculiza las corrientes de convección conforme su concentración se aproxima al 6 por cien, si bien cuando aumenta más su concentración ejerce un escaso efecto adicional. El cloruro sódico nunca se añade en concentraciones lo suficientemente elevadas como para que influya en la velocidad de calentamiento.

La velocidad de penetración del calor disminuye conforme aumenta la concentración de azúcar, aunque este efecto es contrarrestado en parte por la importante disminución de la viscosidad de las soluciones de azúcar, incluso de las concentradas, cuando aumenta la temperatura.

- 6 *Rotación y agitación*. Tanto la rotación como la agitación durante el tratamiento del recipiente que contiene el alimento, acelerarán la penetración del calor si el alimento es totalmente líquido, aunque en algunos alimentos también pueden ocasionar modificaciones físicas no deseables. Tienen relativamente poca influencia en la duración del tratamiento térmico de aquellos alimentos que permiten la libre circulación de las corrientes de convección y cuyas piezas son muy pequeñas, como ocurre en los guisantes. La agitación en cambio, resulta muy útil en aquellos alimentos que se disponen formando capas, como ocurre en las espinacas, en los tomates, y en los

melocotones partidos en mitades. En las plantas conserveras con maquinaria más anticuada, no resulta práctico voltear las latas a una velocidad superior a las 10 a 12 r.p.m., si bien existen máquinas más modernas que permiten el volteo cabeza con cabeza a mayores velocidades. La rotación se emplea con buenos resultados en la leche evaporada enlatada, mientras que la agitación se emplea en aquellos alimentos que se presentan en forma de pastas o de purés. Existe un procedimiento para tratar el maíz de grano entero en salmuera que emplea el calentamiento en una caldera de cocción continua, que contiene un líquido de elevado punto de ebullición, en la que el contenido de las latas se mezcla mediante un cilindro o mediante tambores giratorios existentes en su periferia.

La operación del *enfriamiento* de las latas se basa en los mismos principios de transmisión del calor que el tratamiento térmico. Se recomienda el enfriamiento rápido y forzado porque es posible regularlo perfectamente. Un enfriamiento demasiado lento puede ocasionar la sobrecocción del alimento y es posible que permita el crecimiento de microorganismos termófilos.

CALCULO DE LOS TRATAMIENTOS TERMICOS

Para calcular los tratamientos térmicos a los que es preciso someter un determinado alimento enlatado, es necesario conocer los siguientes datos: (1) La gráfica del TDT correspondiente al microorganismo de mayor grado de termorresistencia que es probable que se encuentre en el alimento; cuando se trata de alimentos de acidez baja, normalmente serían las esporas de un microorganismo termófilo, por ejemplo, las del agente del agriado plano, y (2) las gráficas correspondientes a la penetración del calor y al enfriamiento, referidas al alimento existente en el interior del recipiente del tamaño y modelo a utilizar. Para calcular los tratamientos térmicos se utiliza cualquiera de estos tres métodos: (1) el método gráfico, (2) el método de la fórmula matemática, o (3) el método del nomograma. Mediante cualquiera de estos tres métodos se pueden calcular **tratamientos equivalentes**, es decir, tratamientos térmicos que producen el mismo efecto destructor sobre los microorganismos del alimento.

El fundamento para calcular los tratamientos térmicos es parecido en los tres métodos, pero como quiera que el método gráfico es el más sencillo de explicar, se describirá éste y se hará un breve comentario de los otros dos.

Método general para calcular la duración del tratamiento

Para calcular el tiempo en minutos (t) necesario para destruir un determinado número de microorganismos (o esporas) problema en un determinado recipiente,

mediante calentamiento a la temperatura T , conociendo los valores de z y de F , se emplean las siguientes ecuaciones (t/F = tiempo necesario para destruir el microorganismo a la temperatura T cuando $F = 1$; F/t = tasa de mortalidad*):

$$\frac{\log t - \log F}{\log 10 (= 1)} = \frac{250 - T}{z}$$

de donde se deduce:

$$\log \frac{t}{F} = \frac{250 - T}{z} \quad \text{y} \quad \frac{t}{F} = \text{antilog} \frac{250 - T}{z}$$

o bien:

$$t = F \text{ antilog} \frac{250 - T}{z}$$

Método gráfico

De forma resumida, el método gráfico, tal como lo describieron Bigelow y otros (1920), consiste en lo siguiente:

- 1 Se determina la gráfica del TDT correspondiente al microorganismo capaz de alterar el alimento que es más probable que se encuentre en el alimento que va a ser enlatado. Los TDTs de esta gráfica se convierten en **tasas de mortalidad** para las distintas temperaturas de calentamiento. La tasa de mortalidad para una temperatura determinada es el inverso del TDT; por consiguiente, si se necesitan 400 minutos para destruir, a la temperatura de 210 °F, la totalidad de las esporas de un alimento, la tasa de mortalidad es de $1/400 = 0,0025$.
- 2 Se determina la gráfica de penetración del calor (y la curva de enfriamiento) correspondiente al alimento y al tamaño de la lata utilizada.
- 3 Tal como se indica en la Figura 6.6, en la gráfica correspondiente a la penetración del calor (y en la correspondiente gráfica de enfriamiento) se representan las tasas de mortalidad a distintas temperaturas en el centro de la lata, tanto durante la fase de calentamiento como durante la de enfriamiento. En la citada figura, la longitud de un lado de los cuadrados equivale a una tasa de mortalidad de 0,01 y a un tiempo de 10 minutos. Un área bajo la curva de mortalidad igual a diez cuadrados equivale a la unidad, lo que significa que se ha conseguido la destrucción de la totalidad de las esporas (o de las células

*N. del T.: Coeficiente o índice de mortalidad.

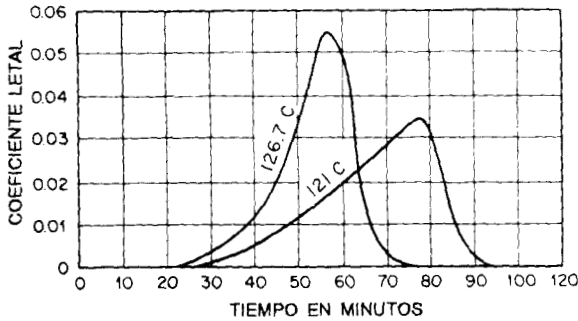


Figura 6.6. Curvas de letalidad equivalentes correspondientes a temperaturas de 126,7°C y 121°C del autoclave. Maíz en latas del n° 2; 50.000 esporas por mililitro.

vegetativas). Si esta área es menor que la de diez cuadrados, el tratamiento térmico es insuficiente; si es mayor que la de diez cuadrados, el tratamiento es de una intensidad mayor que la necesaria. El área bajo la curva se mide por medio de un planímetro. En la Figura 6.6 se comprobó que eran suficientes tanto el tratamiento térmico a 126,7°C durante 56 minutos, como el efectuado a 121°C durante 78 minutos.

Método de la fórmula matemática

Este método aplica los datos obtenidos a partir de las gráficas del TDT y de la penetración del calor, a una ecuación, por medio de la cual se calcula matemáticamente el tratamiento térmico. Para conocer con detalle este método, véase la obra de Ball y Olson (1957).

Método del nomograma

El método del nomograma es el más rápido para calcular el tiempo de los tratamientos térmicos. Supone la aplicación de los datos relativos a los TDTs y a la penetración del calor a una representación gráfica de estas relaciones numéricas, teniendo la ventaja sobre los métodos descritos anteriormente de que tiene en cuenta el «tiempo que tardan» los esterilizadores por vapor a presión en alcanzar las condiciones de trabajo. Para conocer la descripción de este método se debe consultar el artículo original de Olson y Stevens (1939). Independientemente del método utilizado para calcular el tiempo que debe durar el tratamiento térmico, dicho tiempo se contrasta mediante pruebas reales en el alimento enlatado. Se inocula un lote experimental de latas con una concentración conocida de esporas del microorganismo termorresistente causante de la alteración. Estas latas, junto con latas testigo sin inocular, se someten a tratamiento térmico durante

tiempos distintos próximos al calculado para la temperatura elegida, se incuban para comprobar si en ellas existe alteración, y a partir de su contenido se hacen siembras para comprobar su esterilidad. Cuando se hacen recomendaciones relativas a la duración del tratamiento térmico, se suele dejar un margen de seguridad por encima del tratamiento mínimo necesario para destruir las esporas del microorganismo que se está ensayando. Se debe tener presente que los tratamientos recomendados sólo darán buenos resultados para la concentración de esporas utilizadas y es posible que no sean eficaces cuando la importancia de la contaminación supere aquella concentración.

TRATAMIENTOS TERMICOS EMPLEADOS EN LA CONSERVACION DE ALIMENTOS

Tanto la temperatura que se debe utilizar como el tiempo que debe durar el tratamiento térmico de un determinado alimento, dependerán del efecto que el calor ejerza sobre el mismo y de si para conservarlo se tienen que emplear además otros procedimientos. Algunos alimentos, como la leche y los guisantes, sólo es posible someterlos a un calentamiento limitado sin que experimenten modificaciones no deseables en su aspecto o pierdan sabor, mientras que otros, como el maíz o la calabaza, son capaces de soportar un tratamiento térmico más intenso sin que aparezcan en los mismos modificaciones importantes. Cuanto más intenso sea el tratamiento térmico hasta alcanzar el calentamiento que ocasionará la esterilidad del alimento, tanto mayor será el número de microorganismos que serán destruidos. Si no resulta destruida la totalidad de los microorganismos, el calentamiento debe destruir todos los microorganismos capaces de producir alteraciones y, de no ser así, el alimento se deberá manipular posteriormente con el fin de retrasar o evitar el crecimiento de los microorganismos supervivientes capaces de producir alteraciones. En las conservas enlatadas se intenta destruir todos los microorganismos que podrían alterar el alimento durante su posterior manipulación; en la pasteurización se destruyen la mayoría de los microorganismos que producen alteraciones, aunque otros sobreviven y de aquí que, si es preciso evitar que se alteren, deben ser inhibidos mediante temperaturas bajas o mediante algún otro procedimiento de conservación. Los distintos grados de calentamiento utilizados en el tratamiento térmico de los alimentos se podrían clasificar en (1) pasteurización, (2) calentamiento a temperaturas próximas a los 100°C, y (3) calentamiento a temperaturas superiores a los 100°C.

Pasteurización

La pasteurización es un tratamiento térmico que destruye parte de los microorganismos existentes en los alimentos, aunque no todos, y generalmente supone

la aplicación de temperaturas inferiores a 100°C. El calentamiento se puede llevar a cabo con vapor, con agua caliente, con calor seco, o con corrientes eléctricas, enfriándose los alimentos inmediatamente después de haber sido sometidos a tratamiento térmico. Se utiliza la pasteurización (1) cuando tratamientos térmicos más intensos podrían perjudicar la calidad del alimento, como es el caso de la leche comercial, (2) cuando su única finalidad es destruir los microorganismos patógenos, como es el caso de la leche comercial, (3) cuando los microorganismos capaces de producir alteraciones no son muy termorresistentes, como por ejemplo las levaduras que se encuentran en los zumos de frutas, (4) cuando por quedar en el alimento cualquier microorganismo vivo capaz de alterarlo, será preciso emplear otros procedimientos de conservación, como es el caso de la refrigeración de la leche comercial, y (5) cuando es preciso destruir microorganismos competitivos para que se produzca la fermentación deseada, generalmente incorporando al alimento un cultivo estárter de microorganismos, como es el caso, por ejemplo, de la fabricación de queso.

Los procedimientos de conservación que se emplean para complementar la pasteurización incluyen (1) la refrigeración, por ejemplo, de la leche, (2) la prevención de la contaminación por microorganismos, generalmente envasando el alimento en un recipiente cerrado, (3) el mantenimiento de anaerobiosis, como en aquellos casos en los que se introduce el alimento en recipientes cerrados al vacío, (4) la adición de elevadas concentraciones de azúcar, como es el caso de la leche condensada azucarada, y (5) la existencia en el alimento o la adición al mismo de conservadores químicos, por ejemplo, la adición de ácidos orgánicos a los encurtidos.

Tanto los tiempos como las temperaturas que se utilizan en la pasteurización, dependen del procedimiento empleado y del alimento a tratar. En el procedimiento denominado temperatura alta-tiempo corto (HTST) se emplean temperaturas relativamente elevadas durante un tiempo reducido, mientras que en el procedimiento denominado temperatura baja-tiempo prolongado (LTH)*, o de mantenimiento, se emplea una temperatura más baja durante un tiempo mayor. A continuación se ofrecen algunos ejemplos de tratamientos de pasteurización utilizados en distintas clases de alimentos. El tratamiento térmico mínimo, o de mantenimiento, a que se somete la leche comercial consiste en calentarla a 62,8°C durante 30 minutos; a 71,7°C durante 15 segundos, como mínimo, en el procedimiento HTST; y a 137,8°C durante 2 segundos, como mínimo, en el procedimiento de ultrapasteurización. La elección de este tratamiento térmico se basa en la termorresistencia de la rickettsia que produce la fiebre Q, *Coxiella burnetti*, microorganismo que puede ser transmitido por la leche. Cuando la leche se tiene que destinar a otros usos, el tratamiento térmico suele ser más intenso, aunque a veces se disminuye su intensidad en la fabricación de quesos, como por ejemplo cuando se fabrican con leche no tratada, en cuyo caso al queso se le debe dejar que

*N. del T.: Low Temperature Heating, o calentamiento a una temperatura no muy elevada.

madure. La mezcla para la fabricación de helados se pasteuriza a diversas temperaturas durante tiempos diferentes, sometiéndola generalmente a un tratamiento térmico de mayor intensidad que el que se utiliza en la leche comercial, pudiéndose someter, por ejemplo, a un calentamiento a 71,1°C durante 30 minutos o a 82,2°C durante un tiempo de 16 a 20 segundos. Los vinos de uva a granel se pueden pasteurizar durante 1 minuto a una temperatura de 82 a 85°C, mientras que los vinos de frutas a veces se someten a un calentamiento a una temperatura de 62,8°C, o a temperaturas más elevadas, y se embotellan calientes. La cerveza se puede pasteurizar a 60°C o a temperaturas superiores, durante un tiempo que depende de la temperatura empleada. Los frutos secos se suelen pasteurizar, introducidos en envases, a temperaturas comprendidas entre 65,6 y 85°C durante un tiempo de 30 a 90 minutos, dependiendo del tratamiento a que se someten, del tipo de fruto y del formato del envase. El tratamiento de pasteurización a que se someten los zumos de frutas depende de su acidez y de si se encuentran a granel, o, por el contrario, están envasados en frascos o en botes. Para el mosto embotellado se recomienda un tratamiento a 76,7°C durante 30 minutos, o un tratamiento instantáneo a una temperatura comprendida entre los 80 y los 85°C cuando se encuentra a granel, mientras que para el zumo de manzana se recomienda un tratamiento de 60°C si está embotellado, y de 85 a 87,8°C, durante 30 a 60 segundos si se encuentra a granel. Para las bebidas refrescantes, el tratamiento térmico medio sería de 65,6°C durante 30 minutos. Cuando se pasteuriza el vinagre embotellado introduciendo las botellas en un baño de agua, la temperatura de toda la masa líquida contenida en las botellas se eleva, como mínimo, hasta 65,6°C. Si se emplea la pasteurización instantánea, se calienta el vinagre de forma que cuando se cierran las botellas se encuentre a una temperatura comprendida entre 65,6 y 71,1°C. Cuando se pasteuriza a granel, el vinagre se mantiene durante 30 minutos a una temperatura comprendida entre 60 y 65,6°C.

Calentamiento próximo a los 100°C

Antiguamente, quienes preparaban conservas caseras enlatadas las sometían a calentamiento a una temperatura de 100°C, o a temperaturas inferiores, durante un tiempo variable. Este tratamiento era lo suficientemente intenso como para destruir todos los microorganismos existentes en los alimentos excepto las esporas bacterianas y, con frecuencia, bastaba para conservar los de acidez baja y media. Hoy día sin embargo, para conservar los alimentos de menor acidez, la mayoría de las personas que preparan conservas caseras enlatadas utilizan ollas de presión. Muchos alimentos ácidos, como por ejemplo el sauerkraut y las frutas de elevada acidez, se pueden conservar sometiéndolos a tratamiento térmico a 100°C o a temperaturas inferiores. Sumergiendo el envase que contiene el alimento en agua hirviendo, o sometiéndolo a la acción del vapor fluyente, se consigue una temperatura de unos 100°C en el líquido en ebullición. Algunos alimentos muy ácidos, por ejemplo, el sauerkraut, se pueden precalentar a una temperatura algo

inferior a 100°C, envasarlos en caliente, y posteriormente no se someten a ningún otro tratamiento térmico. El blanqueado de las hortalizas frescas antes de su congelación o desecación supone calentarlas durante un corto tiempo a una temperatura próxima a 100°C.

Durante la cocción, la temperatura interna del pan, de los bollos, o de cualquier producto de panadería se aproxima a 100°C, aunque nunca los alcanza mientras existe humedad, a pesar de que el horno alcanza una temperatura mucho más elevada. La temperatura de los alimentos enlatados cuyos envases no se cierran, cuando se someten a calentamiento en un horno, no puede sobrepasar la del líquido que contiene el envase en que se encuentran. Según se indicará más adelante, las esporas bacterianas que resisten la temperatura de cocción del pan (temperatura máxima de unos 97°C) pueden producir viscosidad. La **ebullición a fuego lento** consiste en una ebullición incipiente o suave a una temperatura de aproximadamente 100°C.

En el **asado**, la carne alcanza una temperatura interna de unos 60°C en la de vacuno poco asada, de hasta 80°C en la de vacuno bien asada, y de 85°C en la carne de cerdo asada. La **fritura** eleva muchísimo la temperatura de la parte externa de la carne, si bien el centro de los trozos no suele alcanzar los 100°C. El término **cocción** es un término vago que tiene escaso significado. El **calentamiento** de un alimento puede significar cualquier tratamiento térmico de intensidad comprendida entre un escaso aumento de temperatura hasta el calentamiento a 100°C.

Calentamiento a temperaturas superiores a 100°C

Las temperaturas superiores a 100°C se suelen conseguir con autoclaves o con calderas de vapor a presión. En las calderas, la temperatura de los alimentos aumenta conforme se eleva la presión del vapor. Por consiguiente, sin presión, la temperatura que alcanzan a nivel del mar es de 100°C; a una presión de 5 libras alcanzan una temperatura de 109°C; a una presión de 10 libras alcanzan 115,5°C; y a una presión de 15 libras alcanzan 121,5°C. Cuando es preciso esterilizar alimentos líquidos antes de introducirlos en envases estériles, se emplean elevadas presiones de vapor con el fin de conseguir temperaturas altas en pocos segundos.

La leche se puede calentar a temperaturas superiores a 150°C mediante un tratamiento térmico con vapor por inyección o por infusión, seguido de la «evaporación instantánea» del vapor de agua condensado y su enfriamiento rápido. A los procedimientos de calentamiento como los citados para tratar la leche se les ha dado la denominación de tratamientos a temperatura ultraelevada o tratamientos UHT. Si se mantuviesen el suficiente tiempo, del orden de varios segundos, estos tratamientos «esterilizarían» la leche.

En el epígrafe siguiente se revisarán los tratamientos térmicos que se emplean en la elaboración de alimentos enlatados.

Enlatado

El **enlatado** se define como la conservación de alimentos en recipientes cerrados y generalmente supone someterlos a un tratamiento térmico como principal agente que evita su alteración. La mayoría de los alimentos se enlatan en «latas de hojalata», las cuales están hechas de acero recubierto de una capa de estaño, o en recipientes de vidrio, aunque cada vez se utilizan más los recipientes hechos parcial o totalmente de aluminio, de plásticos (en forma de bolsas o de envases consistentes), o de una mezcla de distintos materiales. Por consiguiente, el término «enlatado» es un término general que se suele sustituir por la expresión «recipientes cerrados herméticamente».

En el año 1765, Spallanzani conservó un alimento calentándolo en un recipiente cerrado. Asimismo, otros investigadores, en su empeño por evitar la alteración de los alimentos, habían empleado tratamientos térmicos, aunque fue un francés, Nicolás Appert, al que se le conoce como el «padre del enlatado», quien experimentó el calentamiento de los alimentos en recipientes cerrados y divulgó las normas de la conservación de alimentos mediante su enlatado. Sus experiencias, realizadas principalmente entre los años 1795 y 1810, tomaron auge al concederle el gobierno francés una recompensa por la publicación de un procedimiento para conservar los alimentos destinados a las fuerzas armadas. En el año 1809, Appert obtuvo una recompensa de 12.000 francos por un opúsculo, que fue publicado un año después con el título de «Libro para todos los hogares o arte para que las sustancias de origen animal y de origen vegetal se conserven durante muchos años». Appert dió normas concretas para conservar una gran variedad de alimentos en frascos de vidrio de boca ancha provistos de tapones de corcho, los cuales sometía a calentamiento durante varias horas en agua hirviendo. Si bien en aquel tiempo nada se sabía acerca de la relación existente entre los microorganismos y la alteración de los alimentos, Appert ideó procedimientos que fueron lo suficientemente satisfactorios como para ser utilizados durante años después, tanto por las personas que preparaban conservas caseras, como por las que las fabricaban para venderlas, quienes denominaron «Appertización» a este procedimiento de conservación de los alimentos.

Los perfeccionamientos conseguidos en la técnica del enlatado han afectado principalmente a los procedimientos de tratamiento térmico, a la fabricación de los recipientes y al cálculo de los tratamientos térmicos necesarios. Desde la época de Appert hasta el año 1850, los fabricantes de conservas sometían los alimentos a tratamiento térmico de la misma forma que aquél lo hacía, aunque guardaban un estricto secreto acerca de los tiempos reales que empleaban. Allá por el año 1850, los investigadores europeos empezaron a utilizar baños de aceite, salmuera, o soluciones de cloruro sódico para conseguir temperaturas superiores a 100°C, y en el año 1860 Solomon ideó el empleo del baño de cloruro cálcico en nuestro país, con lo cual la duración del tratamiento térmico disminuyó desde 5 ó 6 horas a $\frac{1}{2}$ hora, y colaboró en el enlatado de alimentos durante la Guerra Civil de Norteamérica. Appert y sus discípulos realizaron experiencias sobre el empleo del vapor a

presión para efectuar el tratamiento térmico, pero este procedimiento era peligroso debido a la falta de dispositivos de seguridad. En nuestro país, el invento de la caldera cerrada de presión regulable se atribuye a Schriver, un fabricante de conservas enlatadas de Filadelfia, quien por este invento cobró una patente en el año 1874. En el pasado cuarto de siglo, se ideó la maquinaria para llevar a cabo la rotación y la agitación de los envases durante el tratamiento térmico, habiéndose adaptado al tratamiento de distintos alimentos. Cada día han sido objeto de mayor atención los procedimientos de calentamiento en los que se emplean temperaturas elevadas durante un tiempo reducido, como es el caso del procedimiento de Martin.

El recipiente inicialmente empleado por Appert, el frasco de vidrio de boca ancha provisto de tapón de corcho, siguió empleándose en muchas de las primeras conservas envasadas. La lata de hojalata, a la que en Norteamérica se le denomina de forma abreviada «tin can»¹, fue patentada en Inglaterra por Peter Durand en el año 1810 y desde entonces se ha empleado cada vez más. Las primeras latas eran de fabricación manual tosca, sus juntas eran soldadas y estaban provistas de pequeñas aberturas en la tapa superior. Un especialista tardaba un día en hacer 60–70 latas; las máquinas de hoy día son capaces de producir 300–400 latas por minuto. La actual lata higiénica, o lata abierta por la parte superior, con su tapa provista de engatillado² doble e insertado³ lateral con ribete rizado, se inventó en los últimos años del S. XIX; desde entonces se han perfeccionado tanto los precintos como los componentes de cierre.

Las latas más modernas se fabrican con láminas de acero recubierto con estaño. Existe la tendencia a emplear un revestimiento de estaño cada vez más fino y más uniforme. Para evitar la corrosión de la lata o la decoloración de los alimentos, antes de fabricar las latas se esmaltan las láminas con las cuales se fabrican las tapas. El esmalte higiénico o estándar se emplea para fabricar las latas que han de contener frutos o bayas de color intenso y remolacha de mesa⁴, con el fin de evitar la disminución de la intensidad de color ocasionada por la lámina de hojalata. El esmalte C contiene óxido de zinc, de forma que cuando se enlatan alimentos de baja acidez que contienen azufre, como por ejemplo el maíz, en lugar de formarse SFe que es de color negro, se forma SZn que es blanco, evitándose de este modo el ennegrecimiento del interior de la lata. Este esmalte no se puede emplear en las latas que han de contener carne, ya que la grasa lo ablandaría y se desconcharía a pedacitos. En el enlatado de determinados alimentos, como por ejemplo, la leche, las carnes, el vino y la cerveza, las sopas y los entremeses, y algunos zumos de frutas, se emplean esmaltes especiales.

¹N. del T.: Abreviatura de «tin canister» (lata de hojalata).

²N. del T.: Este sistema de cierre de la tapa superior de las latas o botes metálicos, recibe también otras denominaciones: gancho, agrafadura, pestaña, y cierre.

³N. de T.: Como sinónimos de insertado se utilizan los términos sertido, costura, junta, y sutura.

⁴N. del T.: De color morado intenso.

En el enlatado de muchos alimentos se emplean recipientes de vidrio, los cuales se han perfeccionado mucho desde la época de Appert.

Existen recipientes de vidrio, aunque todavía no soportan fuerzas mecánicas intensas, razón por la cual se emplean principalmente para alimentos que no requieran un elevado vacío ni un tratamiento térmico a temperaturas elevadas, como por ejemplo la cerveza, las frutas congeladas, los concentrados de zumos congelados, y el queso. A veces, las tapas de los recipientes de fibra o de los metálicos están hechas de aluminio, como es el caso de las latas de cerveza provistas de dispositivo abre-fácil; y algunos alimentos, por ejemplo, los destinados a los astronautas, se introducen en tubos plegables de aluminio.

Los saquitos o bolsas flexibles, hechos de plástico o de plástico laminado con chapa de metal, se están empleando principalmente para envasar alimentos congelados, alimentos desecados y alimentos que no han sido sometidos a ningún tipo de tratamiento. También se emplean para alimentos que se pueden envasar calientes, aunque también se ha conseguido esterilizar con vapor a presión alimentos introducidos en bolsas. A continuación, se estudiarán los alimentos enlatados bajo presión.

Técnica del enlatado

Aquí sólo se describirán de forma resumida las técnicas generales del enlatado de alimentos. Para conocer los detalles técnicos, se debe consultar la bibliografía relativa a la tecnología de los alimentos o al enlatado, como por ejemplo la obra de López (1981). Los alimentos frescos que han de ser enlatados, antes de introducirlos en las latas, deben ser recién cosechados, se deben preparar de modo apropiado, se deben inspeccionar, se deben clasificar por tamaños, si se desea, y se deben lavar escrupulosamente. Muchos alimentos de origen vegetal se **blanquean** o se escaldan ligeramente con agua caliente o con vapor antes de su envasado. El blanqueo completa el lavado del alimento, «fija» el color, ablanda los tejidos, circunstancia que facilita su envasado, contribuye a que se produzca el vacío, y destruye algunos microorganismos. A algunas hortalizas enlatadas se les añade una salmuera a base de una solución de sal o de una solución de sal y azúcar; y a las frutas se les pueden añadir jarabes azucarados. Se hace el vacío antes de cerrar el recipiente, generalmente calentando el espacio de cabeza, o parte del recipiente que queda sin llenar, aunque muchas veces se realiza por medios mecánicos.

Tratamiento térmico

En este mismo Capítulo se han estudiado antes los distintos métodos para calcular los tratamientos térmicos de los alimentos enlatados. El fabricante de conservas persigue la total esterilización de la mayoría de los alimentos, aunque

no siempre la consigue. En lugar de destruir la totalidad de los microorganismos del alimento, es posible que el fabricante de conservas consiga la destrucción de todos aquéllos que podrían alterarlo en condiciones normales de almacenamiento y es posible que en el alimento queden algunos que son incapaces de multiplicarse, convirtiendo a la lata de alimento en «comercialmente estéril», «prácticamente estéril» o «bacteriológicamente inactiva».

Los tratamientos térmicos necesarios para conseguir la conservación de los alimentos enlatados dependen tanto de los factores que influyen en la termorresistencia del microorganismo dotado de mayor grado de termorresistencia capaz de alterarlos, como de aquéllos que influyen en la penetración del calor. El Research Laboratory of the National Food Processors Association¹ publica boletines que recomiendan el empleo de tratamientos térmicos mínimos en distintos alimentos envasados en recipientes de vidrio o metálicos de distintos tamaños. (El Boletín 26-L se ocupa de los alimentos de acidez baja).

Cuanto más elevada fuese la temperatura de la caldera, tanto más corta sería la duración del tratamiento térmico y los tratamientos variarían según los distintos alimentos a enlatar, las salsas empleadas, la forma y tamaño de las latas, la temperatura inicial del alimento y otros parámetros. El tiempo de tratamiento necesario para esterilizar un alimento formado por una mezcla de partículas de distinto tamaño y de un componente distribuido de forma homogénea en agua o en salmuera, se puede acortar con el tratamiento denominado «Strata-Cook»². Los distintos componentes del alimento, por ejemplo, la pasta de maíz, los granos enteros de maíz y la salmuera, se disponen en estratos en el interior del recipiente y se mantienen separados durante el calentamiento. Este procedimiento tiene la ventaja de que las pequeñas diferencias existentes en cuanto al contenido de agua de un alimento que se calienta por conducción no influyen de forma importante en la penetración del calor y de que una capa fina de dicho alimento se calentará con mayor rapidez que una capa de mayor grosor. El almidón, al no coagularse, también favorece la penetración del calor. Según se indica en la Tabla 6.10, los alimentos que se enlatan con un líquido libre necesitan menos calor que aquéllos que se enlatan sin líquido alguno. Los alimentos ácidos necesitan menos calor que aquéllos cuyo pH se encuentra próximo a la neutralidad. Algunos alimentos muy ácidos, como por ejemplo el sauerkraut, se pueden envasar calientes y, una vez envasados, no es preciso someterlos a un posterior calentamiento. Otros alimentos, por ejemplo, los corazones de alcachofas, que pueden resultar dañados por la acción de las temperaturas elevadas, son acidificados y posteriormente se someten a tratamiento térmico empleando temperaturas más bajas.

El calentamiento se suele llevar a cabo en calderas, bajo presión o sin ella, según el alimento de que se trate. Los tratamientos térmicos HTST, empleados en la actualidad en algunos alimentos líquidos, requieren un equipo especial si se

¹N. del T.: Laboratorio de Investigación de la Asociación Nacional de Fabricantes de Alimentos.

²N. del T.: Cocción por estratos.

Tabla 6.10. Tiempos de tratamiento recomendados para algunas hortalizas enlatadas en latas de 307 x 409.

Alimento	Temperatura, °C		Minutos a la temperatura de la caldera
	Mínima inicial	Caldera	
Tallos de espárragos (puntas hacia abajo, en salmuera)	48,9	115,6	26
Judías de Lima (en salmuera)	48,9	115,6	36
Judías en salsa espesa	60,0	115,6	115
Maíz en forma de crema	60,0	115,6	105
Maíz, grano entero (en salmuera)	60,0	115,6	46
Batatas, enlatado compacto	65,6	115,6	100
Calabaza	60,0	115,6	86

Fuente: Resumido del National Cannery Association Research Laboratory Bulletin 26-L, 1976.

esterilizan a granel, ya que primeramente se esterilizan los recipientes y sus tapas, y, después de ello, se llenan y se cierran en condiciones de asepsia. El procedimiento de Dole, es un ejemplo de tratamiento HCF¹, o procedimiento de llenado-calentamiento-enfriamiento. En el sistema HTST de enlatado estéril de Martin se calientan directamente, tanto el líquido como las piezas sólidas del alimento, por contacto con vapor a temperatura elevada, antes del enlatado aséptico. Cuando se teme la presencia de un determinado microorganismo capaz de alterar el alimento, se le puede someter a un tratamiento HTST antes de enlatarlo y, una vez enlatado, a un tratamiento de menor intensidad. El zumo de tomate, por ejemplo, antes de enlatarlo, se puede someter a una esterilización previa a una temperatura comprendida entre 121 y 132°C para destruir las esporas de *B. coagulans*, y después, las latas de zumo cerradas se someten a un calentamiento más suave. En el procedimiento SC², o procedimiento de esterilización seguida de cierre, la esterilización del alimento se consigue antes de proceder al cierre de las latas. En el sistema PFC³, o sistema cocción-llenado-presión, el alimento se esteriliza mediante vapor a elevada presión y se introduce en la lata; a continuación se cierra la lata y, antes de proceder a su enfriamiento, se continúa el tratamiento térmico durante el tiempo que sea necesario. En el sistema de enlatado con deshidratación⁴, por ejemplo de las rodajas de manzana, el alimento se deseca hasta que se reduce a la mitad del peso que tenía antes de envasarlo.

¹N. del T.: HCF = heat-cool-fill.

²N. del T.: SC = sterilizing and closing.

³N. del T.: PFC = pressure-filler-cooker.

⁴N. del T.: Dehydrocanning method.

Otros procedimientos de calentar las latas consisten en utilizar la llama directa de un gas, la inyección de vapor de agua, el calentamiento en un lecho licuado de sólidos granulares, y el autoclave hidrostático, el cual está formado por un tanque vertical provisto de cintas transportadoras sin fin que hacen pasar las latas a través de un baño de agua en sentido descendente, a continuación las elevan para someterlas a la acción del vapor de agua a alta temperatura, y por último las dirigen hacia arriba y al exterior del tanque a través de un segundo baño de agua¹. En el procedimiento denominado «Flash 18»², el enlatado se realiza en una cámara bajo elevada presión (18 lb/pulgada cuadrada)³. El alimento se somete a un tratamiento HTST para que su temperatura se eleve hasta alcanzar la adecuada para el tratamiento a que se está sometiendo, y, a continuación se llenan las latas, se cierran y se enfrían parcialmente en la misma cámara.

También se está combinando el calor con otros procedimientos de conservación, por ejemplo, con el empleo de antibióticos, de radiaciones, o de agentes químicos, como por ejemplo el peróxido de hidrógeno. Hasta ahora, casi todos estos procedimientos de conservación se han empleado de forma experimental.

Alimentos envasados bajo presión

Los líquidos y las pastas envasados bajo presión, denominados aerosoles, se envasan bajo la presión de un gas propelente, normalmente dióxido de carbono, nitrógeno, u óxido nítrico, de manera que el alimento sale del envase en forma de espuma, en forma de aerosol, o en estado líquido. Actualmente se están envasando muchos alimentos mediante este procedimiento, como por ejemplo la nata batida y otras coberturas utilizadas en pastelería, bebidas concentradas, salsas para ensaladas, condimentos, aceites, gelatinas, y sustancias saborizantes. Los alimentos envasados bajo presión están expuestos a ser alterados por microorganismos, a no ser que se empleen procedimientos apropiados para conservarlos. Los alimentos ácidos se pueden someter a calentamiento, se pueden enlatar, y, a continuación, se les puede añadir un gas propelente, si bien la incorporación del gas puede contaminarlos. Cuando se trata de alimentos de acidez baja o media, el

¹N. del T.: En este tipo de autoclaves, las latas pasan sucesivamente por distintas columnas o zonas. Tras su entrada por la boca de carga, las latas atraviesan la columna de precalentamiento (en la que entra agua a 80–85°C), en cuya parte inferior el agua alcanza una temperatura de 105–120°C; a continuación recorren la cámara de vapor (su parte superior contiene vapor de agua a 115–130°C), cuya parte inferior contiene agua (110–130°C); posteriormente, pasan por una columna fría (de la misma sale el agua a 85–95°C); y, finalmente, las latas pasan por un baño de agua con el fin de enfriarlas (baño de enfriamiento) antes de salir por la boca de descarga.

²N. del T.: Se trata de un tratamiento rápido, o tratamiento relámpago (flash); es decir, de corta duración.

³N. del T.: 18 lb/pulgada cuadrada (18-psi) equivalen a 1,26553 kg/cm² (aprox. 1,27 kg/cm²).

envasado aséptico es una alternativa para que se conserven. El tratamiento que necesitan los alimentos pasteurizados, por ejemplo la nata batida y otras coberturas utilizadas en pastelería, es parecido tanto si se envasan con gas a presión, como si se envasan sin él. El gas empleado como propelente puede influir en los tipos de microorganismos que es probable que crezcan en los alimentos envasados mediante este procedimiento. El nitrógeno, por ejemplo, no inhibiría el crecimiento de los aerobios si en el interior del envase existiese una pequeña cantidad de oxígeno, aunque, bajo las mismas condiciones, el dióxido de carbono a presión los inhibiría. El dióxido de carbono bajo presión inhibe a muchos microorganismos, incluso a las bacterias aerobias y a los mohos, pero no inhibe ni a las bacterias lácticas, ni a *Bacillus coagulans*, ni a *Streptococcus faecalis*, ni a las levaduras. El óxido nítrico retarda el crecimiento de los hongos.

Enfriamiento

Después de la aplicación del calor, los recipientes que contienen el alimento se enfrían lo más rápidamente posible. Las latas se pueden enfriar en la misma caldera o en tanques, sumergiéndolas en un baño de agua fría o rociándolas con ella. Las conservas en recipientes de vidrio y en latas de formato grande se enfrían de forma más gradual con el fin de evitar fisuras indebidas e incluso su rotura. Este tratamiento de atemperación supone emplear un baño (o un rociado) con agua caliente, cuya temperatura se va disminuyendo conforme los recipientes se van enfriando. El enfriamiento final de los recipientes se suele llevar a cabo mediante corrientes de aire.

La filtración del agua utilizada en el enfriamiento a través de defectos de los envases o de su cierre y las alteraciones que se producen en el alimento como consecuencia de ello, se estudiarán más adelante (Capítulo 19).

Preparación de conservas caseras

Las personas que preparan conservas caseras han empleado durante muchos años procedimientos parecidos a los que empleó Appert, sometiendo los alimentos a temperaturas de calentamiento que no sobrepasan los 100°C. Esto se conseguía mediante uno de estos tres procedimientos: (1) mediante un baño de agua hirviendo, en el cual se sumergían los recipientes, (2) mediante un generador de vapor, en cuyo interior las conservas envasadas se exponían al vapor de agua fluyente, o (3) mediante el calor de un horno. Cuando se calientan en el horno conservas envasadas en frascos de vidrio, la temperatura no puede sobrepasar el punto de ebullición del alimento a no ser que los recipientes estén cerrados herméticamente y en su interior aumente la presión, lo cual tiene el peligro de que estallen. Estos tratamientos son suficientes para conservar los alimentos ácidos, como por ejemplo las frutas, pero no se consideran apropiados para conservar

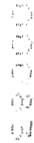
alimentos de baja acidez, como por ejemplo los guisantes, el maíz y las carnes. Los actuales procedimientos empleados en la preparación de conservas caseras emplean la olla de presión para someter a tratamiento térmico los alimentos de acidez baja, según las normas vigentes publicadas en los boletines estatales y federales acerca de la preparación de conservas caseras.

En el procedimiento casero de **envasado en frío**, el alimento no se somete a calentamiento antes de colocarlo en el frasco de vidrio o en cualquier otro tipo de envase, en contraposición a lo que se hace en el procedimiento de **envasado en caliente** en el que el alimento se precocina, está caliente cuando se introduce en el envase, e inmediatamente se somete a tratamiento térmico. Como es natural, un alimento que ha sido envasado en frío, una vez introducido en el envase, necesitará un tratamiento térmico de mayor intensidad que uno que haya sido envasado en caliente. El procedimiento de envasado en frío no se recomienda para conservar ni hortalizas ni carnes.

BIBLIOGRAFIA

- American Can Company. 1947. The canned food reference manual. 3d ed. American Can Company, New York.
- Anonymous. 1964. HTST and aseptic techniques gain. *Food Eng.* 36(11):79.
- Anonymous. 1973. Thermally processed low-acid foods packaged in hermetically sealed containers. *Fed. Regist.* 38(16):2398-2410.
- Ball, C. O., and F. C. W. Olson. 1957. *Sterilization in food technology*. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Bean, P. G. 1983. Developments in heat treatment processes for shelf-stable products. In T. A. Roberts and F. A. Skinner (ed.), *Food microbiology: advances and prospects*. Academic Press, Inc., New York.
- Bigelow, W. D., and J. R. Esty. 1920. Thermal death point in relation to time of typical thermophilic organisms. *J. Infect. Dis.* 27:602-610.
- Bigelow, W. D., G. S. Bohart, A. C. Richardson, and C. O. Ball. 1920. Heat penetration in processing canned foods. *Natl. Canners Assoc. Bull.* no. 162.
- Brighton, K. W., D. W. Riester, and O. G. Braun. 1963. Technical problems presented by new containers and materials. *Food Technol.* 17(9):22-31.
- Cameron, E. J. 1940. Report on canned vegetables. *J.A.O.A.C.* 23:607-608.
- Curran, H. R. 1935. The influence of some environmental factors upon the thermal resistance of bacterial spores. *J. Infect. Dis.* 56:196-202.
- Esty, J. R., and K. F. Meyer. 1922. The heat resistance of spores of *Clostridium botulinum* and allied anaerobes. *J. Infect. Dis.* 31:650-658.
- Food Engineering Staff. 1962. Advances in processing methods. *Food Eng.* 34(2):37-52.
- Gelber, P. 1963. Numerous refinements in aseptic processing. *Food Process.* 24(4):61-66.
- Goldblith, S. A., M. A. Joslyn, and J. T. R. Nickerson (eds.). 1961. *An introduction to the thermal processing of foods*. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn. (This volume contains most of the classic papers on canning referred to in this chapter. Therefore, these papers are not listed separately here.)

- Halvorson, H. O. 1959. Symposium on initiation of bacterial growth. IV. Dormancy, germination, and outgrowth. *Bacteriol. Rev.* 23:267-272.
- Hansen, N. H., and H. Riemann. 1963. Factors affecting the heat resistance of non-sporing organisms. *J. Appl. Bacteriol.* 26:314-333.
- Hays, G. L., and D. W. Riester. 1958. Microbiological aspects of pressure packaged foods. *Soap Chem. Spec.* 34(9):113, 115-119, 121.
- Herson, A. C., and E. D. Hulland. 1964. Canned foods: an introduction to their microbiology. Chemical Publishing Company, Inc., New York.
- Lechowich, R. V., and Z. J. Ordal. 1962. The influence of the sporulation medium on heat resistance, chemical composition, and termination of *Bacillus megaterium* spores. *Can. J. Microbiol.* 8:287-295.
- Levinson, H. S., and M. T. Hyatt. 1964. Effect of sporulation medium on heat resistance, chemical composition, and germination of *Bacillus megaterium* spores. *J. Bacteriol.* 87:876-886.
- Lopez, A. 1981. A complete course in canning: basic information on canning. Canning Trade, Inc., Baltimore.
- Lopez, A. 1981. A complete course in canning: processing procedures for canned food products. Canning Trade, Inc., Baltimore.
- Mayer, P. C., K. Robe, and J. B. Klis. 1961. "Canning" without cans. *Food Process.* 22(1):36-39.
- Nair, J. H. 1964. Hydrostatic sterilizers. *Food Eng.* 35(12):37-42.
- National Canners Association. 1968. Laboratory manual for food canners and processors. 3d ed. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- National Canners Association. 1976. Processes for low-acid canned foods in metal containers. 11th ed. Natl. Canners Ass. Bull. 26-L.
- Nickerson, J. T., and A. J. Sinskey. 1972. Microbiology of foods and food processing. American Elsevier Publishing Co., New York.
- Olson, J. C., and P. M. Nottingham. 1980. Temperature. In J. H. Silliker (ed.), *Microbial ecology of foods. Volume 1. Factors affecting life and death of microorganisms.* Academic Press, Inc., New York.
- Olson, F. C. W., and H. P. Stevens. 1939. Nomograms for graphic calculation of thermal processes for non-acid canned foods exhibiting straight-line semilogarithmic heating curves. *Food Res.* 4:1-20.
- Perkins, W. E., D. H. Ashton, and G. M. Evancho. 1975. Influence of the z value of *Clostridium botulinum* on the accuracy of process calculations. *J. Food Sci.* 40:1189-1192.
- Pflug, I. J. 1960. Thermal resistance of microorganisms to dry heat: design of apparatus, operational problems and preliminary results. *Food Technol.* 14:483-487.
- Pflug, I. J., J. H. Bock, and F. E. Long. 1963. Sterilization of food in flexible packages. *Food Technol.* 17:1167-1172.
- Pflug, I. J., J. E. Odlang, and R. Christensen. 1985. Computing minimum public health sterilizing value for food with pH values from 4.6 to 6.0. *J. Food Prot.* 48:848-850.
- Pigott, G. M. 1963. Fluidized-bed heat processing of canned foods. *Food Process.* 24(11):79-82.
- Sachsel, G. F. 1963. Fluidized-bed cooking. *Food Process.* 24(11):77-78.
- Schott, D. 1964. Latest developments in the sterilization of canned foods. *Food Can.* 24(1):28-29.
- Stumbo, C. R. 1964. Heat processing. *Food Technol.* 18:1373-1375.



- Stumbo, C. R. 1972. Thermobacteriology in food processing. 2d ed. Academic Press, Inc., New York.
- Townsend, C. T., J. R. Esty, and J. C. Baselt, 1938. Heat resistance studies on spores of putrefactive anaerobes in relation to determination of safe processes for canned foods. *Food Res.* 3:323-330.
- Walters, A. H. 1964. Microbial resistance. *Food Eng.* 36(11):57.
- Williams, O. B. 1929. The heat resistance of bacterial spores. *J. Infect. Dis.* 44:421-465.
- Witter, L. D. 1983. Elevated temperature preservation. In A. H. Rose (ed.), *Food microbiology*. Academic Press, Inc., New York.
- Xezones, H., and I. J. Hutchings. 1965. Thermal resistance of *Clostridium botulinum* (62A) spores as affected by fundamental food constituents. I. Effect of pH. *Food Technol.* 19:1003-1005.
- Ziemba, J. V. 1964. "Flash 18" sequel to aseptic canning. *Food Eng.* 36(3):122-126.

Conservación mediante el empleo de temperaturas bajas

Las temperaturas bajas se emplean para retardar las reacciones químicas y la actividad de los enzimas de los alimentos así como para retardar o detener la multiplicación y la actividad de los microorganismos existentes en los mismos. Cuanto más baja sea la temperatura, tanto más lentas serán las reacciones químicas, la actividad enzimática y la multiplicación de los microorganismos; una temperatura suficientemente baja impedirá la multiplicación de cualquier microorganismo.

Se supone que cualquier alimento fresco, tanto si es de origen vegetal como si es de origen animal, contiene varias especies de bacterias, de levaduras y de mohos que lo único que necesitan para ocasionar en él modificaciones indeseables son condiciones favorables para multiplicarse. Cada microorganismo existente en el alimento tiene una temperatura óptima, o más apropiada, para multiplicarse y una temperatura mínima, por debajo de la cual es incapaz de multiplicarse.

Conforme desciende la temperatura desde esta temperatura óptima hacia la mínima, la velocidad de multiplicación de los microorganismos disminuye, siendo mínima a la temperatura mínima de crecimiento. Temperaturas más bajas que la mínima, inhibirán el crecimiento, aunque es posible que continúe su actividad metabólica a un ritmo más lento. Por consiguiente, la refrigeración de un alimento a una temperatura inferior a las normales, ejerce una influencia distinta en los diferentes microorganismos existentes en él. Un descenso de la temperatura de 10°C puede detener la multiplicación de algunos microorganismos y retardar la de otros, aunque hasta un determinado grado que dependerá de la especie de microorganismo de que se trate. Un ulterior descenso de otros 10°C detendría la multiplicación de mayor cantidad de microorganismos y retardaría todavía más la

**Tabla 7.1.** Tipos de bacterias que alteran la carne de pollo.

	Flora alterante a cada temperatura, %		
	1 °C	10 °C	15 °C
<i>Pseudomonas</i>	90	37	15
<i>Acinetobacter</i>	7	26	34
<i>Enterobacteriaceae</i>	3	15	27
<i>Streptococcus</i>		6	8
<i>Aeromonas</i>		4	6
Otros		12	10

Fuente: Tompkin (1973).

Tabla 7.2. Índice de crecimiento de *Pseudomonas fragi* a varias temperaturas.

Temperatura, °C	Tiempo medio de generación, min.
0	667
2,5	462
5,0	300
7,5	207
10,0	158
20,0	65

Fuente: Nickerson y Sinskey (1972).

multiplicación de otros. Por consiguiente, tal como se indica en la Tabla 7.1, el almacenamiento de un determinado alimento a baja temperatura puede representar un importante factor ambiental que influya en el tipo de flora predominante capaz de alterarlo.

Tanto la multiplicación como las reacciones metabólicas de los microorganismos, dependen de enzimas, y de aquí que la velocidad de las reacciones enzimáticas esté influida directamente por la temperatura. Según se puede observar en la Tabla 7.2, el aspecto más importante de esta influencia ejercida por la temperatura, se refleja en la disminución de la velocidad de multiplicación de los microorganismos al descender aquéila.

Tabla 7.3. Crecimiento a bajas temperaturas de algunas bacterias patógenas transmitidas por los alimentos.

Microorganismo	Temperatura mínima de crecimiento, °C	Referencia
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1-5	Eddy (1960)
<i>Bacillus cereus</i>	7	Chung y otros (1976)
<i>Campylobacter jejuni</i>	27	Kreig (1984)
<i>Clostridium botulinum</i> (E)	3,3	Schmidt y otros (1961)
<i>Clostridium perfringens</i>	20 (la mayoría de las cepas)	
	6 (rara vez)	Kreig (1984)
<i>Escherichia coli</i>	4	Olsvik y Kapperud (1982)
<i>Listeria monocytogenes</i>	3	Gray y Killinger (1966)
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	8	Kreig (1984)
<i>Salmonella</i>	5,2	Matches y Liston (1968)
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	Genigeorgis y otros (1969)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	5	Beuchat (1975)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1-7	Hanna y otros (1977)

MULTIPLICACION DE LOS MICROORGANISMOS A TEMPERATURAS BAJAS

En general, la congelación impide la multiplicación de la mayoría de los microorganismos transmitidos por los alimentos, mientras que las temperaturas de refrigeración disminuyen su velocidad de multiplicación. Las temperaturas de refrigeración que se emplean en el comercio, es decir, inferiores a los 5 a 7,2°C, retardan realmente la multiplicación de muchos microorganismos patógenos transmitidos por los alimentos. Una notable excepción la constituye *C. botulinum* de tipo E, cuya temperatura mínima de crecimiento es de aproximadamente 3,3°C (Tabla 7.3). *Yersinia enterocolitica* es capaz de sobrevivir y de multiplicarse a temperaturas tan bajas como son las comprendidas entre 0 y 3°C (Stern y Pierson, 1979). Una anterior referencia bibliográfica señalaba para este microorganismo una temperatura mínima de crecimiento comprendida entre 1 y 7°C. Si bien se ha mostrado interés en conocer los límites que alcanza la temperatura mínima de crecimiento de distintas cepas de especies pertenecientes al género *Salmonella* (Tabla 7.3), Mossel y otros (1981) estudiaron la posibilidad de multiplicación de una gran cantidad de cepas y comprobaron que solamente una, la cepa R IV 1917 de *S. panama*, era capaz de multiplicarse a 4°C. Otras bacterias patógenas transmitidas por los alimentos tienen una temperatura mínima de crecimiento inferior a 7,2°C, y, por consiguiente, la refrigeración de los alimentos no puede depender del hecho de tener que impedir indefinidamente que se multipliquen abundantemente en los mismos. Son de interés algunos ejemplos, señalados por algunos autores, de microorganismos que crecen a temperaturas bajas. Entre los mohos, se han encontrado especies de *Cladosporium* y de *Sporotrichum* que crecen en los alimentos a una temperatura de -6,7°C y especies de *Penicillium* y de *Monilia* que crecen a -4°C. Se ha encontrado una levadura creciendo a -34°C, y otras dos que crecieron a -18°C (Michener y Elliott, 1964). Se han señalado casos de bacterias que han crecido a temperaturas tan bajas como las de -5°C en la superficie de carnes, de -10°C en la superficie de carnes curadas, de -11°C en la superficie del pescado, de -12,2°C en la superficie de hortalizas (guisantes), y de -10°C en el interior de los helados; asimismo, se han señalado casos de levaduras que han crecido a -5°C en la superficie de carnes y a -17,8°C en la superficie de ostras; y de mohos que han crecido a una temperatura de -7,8°C en la superficie de carnes y de hortalizas, y a -6,7 en la superficie de bayas.

TEMPERATURAS EMPLEADAS EN EL ALMACENAMIENTO A BAJA TEMPERATURA

Muchos de los términos que se emplean en relación con el almacenamiento de los alimentos a temperaturas bajas se aplican de una forma un tanto inexacta;

el término «almacenamiento en frío», por ejemplo, se puede referir al empleo de temperaturas tanto por encima como por debajo de la temperatura de congelación, aunque, esto sí, supone la aplicación de refrigeración mecánica. Con mayor frecuencia se considera que se trata de un almacenamiento a temperaturas superiores a 0°C. El término «almacenamiento en congelación» es más exacto: el alimento se almacena en estado de congelación, aunque la temperatura exacta dependería del tipo de alimento. La mayoría de los congeladores de almacenamiento que se emplean en el comercio se encuentran a una temperatura de -18°C o inferior.

Almacenamiento habitual o de bodega

En el almacenamiento habitual o de bodega la temperatura no suele ser muy inferior a la existente en la atmósfera exterior y rara vez es inferior a 15°C. Las raíces, las patatas, la col, el apio, las manzanas y alimentos parecidos, se pueden almacenar durante un tiempo limitado. La alteración de estas frutas y hortalizas por sus propios enzimas y por los microorganismos que se encuentran en las mismas, no se evita, pero es más lenta que a las temperaturas ambientales. Una humedad excesivamente baja en la bodega donde se almacenan, ocasiona una pérdida de agua en los alimentos, mientras que una humedad excesivamente elevada favorece las alteraciones por microorganismos. En aquellos lugares en los que no se dispone de refrigeración, lo normal es almacenar todos los alimentos de esta forma.

Refrigeración o «almacenamiento en frío»

El almacenamiento en **refrigeración** se lleva a cabo a temperaturas no muy superiores a las de congelación y suele suponer el empleo de hielo o de medios mecánicos. Se puede emplear como principal medio de conservación de alimentos o como procedimiento para su conservación temporal hasta tanto no se aplique otro tratamiento para conseguir conservarlos. La mayoría de los alimentos más perecederos, entre los que se incluyen los huevos, los productos lácteos, las carnes, los alimentos marinos, las hortalizas y las frutas, se pueden mantener almacenados bajo refrigeración durante un tiempo limitado sin que su naturaleza original experimente modificaciones importantes. Con ello, no se evitan las modificaciones de los alimentos debidas a enzimas y a microorganismos, pero sí se retardan considerablemente.

Los parámetros a tener en cuenta en relación con el almacenamiento bajo refrigeración son: la temperatura de refrigeración, la humedad relativa, la velocidad de circulación y la composición del aire de la atmósfera existente en la cámara donde se almacenan, y el posible empleo de rayos ultravioleta o de otras radiaciones.

Temperatura. Cuanto más baja es la temperatura a la que se mantienen los alimentos, tanto mayor es el coste de la refrigeración. Por consiguiente, si bien los alimentos se conservarán mejor a una temperatura inmediatamente por encima de la correspondiente a su punto de congelación, no es necesario mantenerlos a una temperatura tan baja. En lugar de ello, la temperatura de refrigeración se selecciona teniendo en cuenta tanto el tipo de alimento como el tiempo que ha de durar su almacenamiento y las circunstancias que concurren en el mismo. Algunos alimentos tienen una temperatura óptima de conservación o un intervalo óptimo de conservación muy por encima del punto de congelación, pudiendo ser dañados por temperaturas más bajas. Un ejemplo muy conocido son los plátanos, los cuales no se deben guardar en la nevera; se conservan mejor si se mantienen a una temperatura comprendida entre 13,3 y 16,7°C. Algunas variedades de manzanas experimentan una «disminución de calidad debida al frío», cuando se conservan a temperaturas próximas a la de su punto de congelación, y las batatas* se conservan mejor a una temperatura comprendida entre 10 y 12,8°C.

La temperatura de las neveras se regula de forma automática, aunque varía en las distintas zonas de la misma, generalmente entre 0 y 10°C.

Humedad relativa. En el almacenamiento bajo refrigeración, la humedad relativa óptima de la atmósfera varía según el alimento que se mantenga almacenado y según una serie de factores ambientales, como por ejemplo la temperatura, la composición de la atmósfera interior, y los tratamientos con radiaciones. Una humedad relativa excesivamente baja ocasiona una pérdida de agua, y por lo tanto de peso, en los alimentos, así como también el marchitamiento y ablandamiento de las hortalizas, y el arrugamiento de las frutas. Una humedad relativa excesivamente elevada favorece la multiplicación de microorganismos capaces de producir alteraciones. La mayoría de las bacterias que crecen en la superficie de los alimentos necesitan un grado de humedad muy elevado, próximo a la saturación; las levaduras necesitan un grado de humedad relativa menor, aproximadamente entre el 90 y el 92 por cien, y todavía es menor el que necesitan los mohos, los cuales son capaces de crecer en ambientes con una humedad relativa comprendida entre el 85 y el 90 por cien. Los cambios de humedad, así como también los de temperatura, mientras permanecen almacenados los alimentos, pueden ocasionar la «exudación» o condensación de agua en la superficie del alimento. La superficie húmeda del alimento favorece la presentación de alteraciones debidas a microorganismos, como por ejemplo la formación de mucílago en la superficie húmeda de los embutidos.

En la Tabla 7.4 se ofrecen ejemplos de cómo la humedad relativa y la temperatura óptimas del almacenamiento bajo frío son distintas para cada alimento.

Ventilación. La ventilación o regulación de la velocidad de circulación del aire de la cámara de conservación es importante para mantener una humedad relativa

*N. del T.: El término «sweet potatoes» podría incluir también a los boniatos, tubérculo que tiene caracteres parecidos a las batatas.

Tabla 7.4. Humedad relativa óptima y temperatura de almacenamiento de algunos alimentos crudos.

<i>Alimento</i>	<i>Temperatura, °C</i>	<i>Humedad relativa, %</i>
Albaricoques	-0,5-0	85-90
Plátanos	11,7-15,6	85-90
Judías verdes partidas, pimientos	7,2	85-90
Col, lechuga, zanahorias	0	90-95
Limonos	12,8-14,4	85-90
Melones (cantalupos)	4,4-10	80-85
Nueces	0-2,2	65-70
Cebollas	0	70-75
Tomates (maduros)	4,4-10	85-90

Fuente: Tomado de USDA Handb. 66.

constante en todo el recinto de la misma, para eliminar olores, y para evitar la aparición del olor y sabor a «rancio». La velocidad de circulación del aire influye en la velocidad con que se secan los alimentos. Si la ventilación no es apropiada, los alimentos que se encuentran en las zonas en las que existe mayor humedad pueden experimentar alteraciones debidas a microorganismos.

Composición de la atmósfera de almacenamiento. Tanto la cantidad total como el porcentaje relativo de los distintos gases existentes en la atmósfera de la cámara donde se almacenan los alimentos, influyen en su conservación por refrigeración. Generalmente no se intenta controlar la composición de la citada atmósfera, aunque los alimentos vegetales almacenados continúan respirando, utilizando oxígeno y eliminando dióxido de carbono. No obstante, en los últimos años se ha prestado una creciente atención al «almacenamiento en gas» de los alimentos, en cuyo caso se ha controlado la composición de la atmósfera mediante la introducción de dióxido de carbono, de ozono (experimentalmente) o de cualquier otro gas, o mediante la eliminación de la misma del dióxido de carbono. El almacenamiento en gas (véase la pág. 272) normalmente se combina con el almacenamiento bajo refrigeración. En presencia de concentraciones óptimas de dióxido de carbono o de ozono, se ha comprobado (1) que un determinado alimento permanecerá sin alterarse durante más tiempo, (2) que se puede mantener una humedad relativa más elevada sin perjudicar la calidad de conservación de ciertos alimentos, y (3) que se puede emplear una temperatura de almacenamiento más elevada sin que se acorte el tiempo de conservación del alimento, si se compara este tiempo con el que es posible conservarlo cuando se emplea el almacenamiento normal bajo refrigeración. Resulta especialmente ventajoso poder mantener una humedad relativa elevada sin el riesgo adicional de que los microorganismos alteren el alimento, ya que muchos alimentos conservan mejor sus propiedades originales si pierden algo de humedad.

La concentración óptima de dióxido de carbono de la atmósfera controlada depende del alimento almacenado, oscilando desde un 2,5 por cien aproximadamente, concentración que se ha señalado como la más apropiada para los huevos, y de un 10 por cien para la carne de vacuno refrigerada, hasta el 100 por cien para el bacon. Cuando se trata de conservar algunos alimentos, manzanas por ejemplo, es importante la concentración de oxígeno, lo mismo que lo es la de dióxido de carbono, y de aquí que se busque una determinada proporción relativa de estos gases. Es posible que las células de las plantas que respiran desprendan una cantidad de dióxido de carbono excesiva para algunos alimentos existentes en la cámara donde se almacenan aquéllas, en cuyo caso se debe eliminar parte del citado gas.

Irradiación. La combinación de la radiación ultravioleta con el almacenamiento bajo refrigeración sirve para conservar algunos alimentos y puede permitir el empleo de una humedad o de una temperatura de almacenamiento más elevadas que las que es posible emplear cuando se almacenan sólo bajo refrigeración. En las cámaras que se emplean para almacenar carne y queso se han instalado lámparas de luz ultravioleta.

Congelación o «almacenamiento bajo congelación»

En aquellas latitudes en las que existían temperaturas de congelación al aire libre, el almacenamiento de los alimentos en estado de congelación ha sido durante siglos un importante procedimiento de conservación. Con el descubrimiento de la refrigeración mecánica y de los tratamientos de congelación rápida, la industria de la congelación de alimentos ha experimentado un rápido desarrollo. En la actualidad, al ser fácilmente asequibles los frigoríficos caseros de congelación profunda, la congelación de alimentos incluso ha llegado a las casas particulares. En las condiciones bajo las cuales se almacenan normalmente los alimentos congelados, el crecimiento de los microorganismos es inhibido totalmente y se retarda de forma importante la actividad de los enzimas existentes en los alimentos. Cuanto más baja es la temperatura de almacenamiento, tanto más lenta será cualquier reacción química o enzimática, aunque la mayoría de estas reacciones seguirán transcurriendo lentamente a cualquiera de las temperaturas de almacenamiento que se emplean en la actualidad. Esta es la razón de que sea una práctica corriente, siempre que sea posible llevarla a cabo, inactivar los enzimas de las hortalizas mediante el escaldado o blanqueado antes de proceder a su congelación.

Selección y preparación de los alimentos antes de su congelación. La calidad del alimento a congelar tiene una importancia primordial, ya que todo alimento congelado no puede tener una calidad mejor que la que tenía antes de ser congelado. Las frutas y las hortalizas se seleccionan teniendo en cuenta su

idoneidad para ser congeladas y su estado de madurez y también se lavan, se mondan, se trocean o se someten a otros tratamientos previos según se desee. La mayoría de las hortalizas se escaldan o se blanquean, mientras que las frutas se suelen envasar en almíbar. Las carnes y los alimentos marinos se seleccionan de acuerdo con su calidad y se manipulan de forma que las modificaciones debidas a enzimas y a microorganismos se reduzcan al mínimo. La mayoría de los alimentos se envasan antes de congelarlos, aunque otros, cuyas piezas son de pequeño tamaño, como por ejemplo las fresas, se pueden congelar antes de proceder a su envasado.

El escaldado o blanqueado de las hortalizas se suele realizar con agua a elevada temperatura o con vapor de agua, dependiendo del tipo de alimento la intensidad del tratamiento a que se someten. Se supone que con este tratamiento térmico de corta duración se consigue lo siguiente: (1) la inactivación de la mayoría de los enzimas de la planta, los cuales, si no se inactivasen, podrían endurecerlos, modificar su color, provocar su enranciamiento, hacerles perder sabor, ablandarlos, y ocasionar la disminución de su valor nutritivo, (2) la disminución (del orden del 99 por cien) del número de microorganismos existentes en la superficie de los alimentos, (3) la intensificación del color verde de hortalizas tales como los guisantes, el brócoli y las espinacas, (4) el marchitamiento de las hojas de hortalizas tales como las espinacas, con lo cual se facilita su envasado, y (5) la eliminación del aire que queda entre sus tejidos.

Congelación de los alimentos. La velocidad con que se congelan los distintos alimentos depende de un determinado número de factores, como son el procedimiento de congelación empleado, la temperatura de congelación, la velocidad de circulación del aire o del refrigerante, el tamaño y forma del envase que contiene el alimento, y el tipo de alimento. Se suele denominar **congelación penetrante** a la congelación que se lleva a cabo en una atmósfera en la que solamente existe circulación natural de aire o, en el mejor de los casos, el aire es impulsado por ventiladores eléctricos. La temperatura suele ser de $-23,3^{\circ}\text{C}$ o inferior, aunque puede oscilar desde -15 a -29°C , y la congelación suele durar de 3 a 72 horas. A este procedimiento de congelación se le suele denominar **congelación lenta** en contraposición a la **congelación rápida**, en la cual el alimento se congela en un tiempo relativamente corto. La congelación rápida se define de formas distintas, pero en general supone un tiempo de congelación de 30 minutos o menos y, normalmente, la congelación del alimento en envases o piezas de pequeño tamaño. La congelación rápida se lleva a cabo mediante uno de estos tres procedimientos generales: (1) por inmersión directa del alimento o del alimento envasado en un refrigerante, como es el caso de la congelación del pescado en salmuera o de las bayas en almíbares especiales, (2) por contacto indirecto con el refrigerante, en cuyo caso el alimento o el envase que lo contiene está en contacto con el conducto por el cual circula el refrigerante a una temperatura comprendida entre $-17,8$ y $-45,6^{\circ}\text{C}$, o (3) por congelación mediante inyección de aire, en cuyo caso se hace pasar a través de los alimentos a congelar una corriente de aire frío a una temperatura comprendida entre $-17,8$ y $-34,4^{\circ}\text{C}$.

Un procedimiento de congelación empleado en los envíos a ultramar de alimentos envasados y congelados supone la congelación mediante nitrógeno de los alimentos, los cuales, una vez envasados en cajas de cartón, se introducen en cajas de gran tamaño fabricadas con un aluminio especial que se almacenan en el barco de la forma habitual. La baja temperatura inicial y el aislamiento garantizan que el alimento permanezca en estado de congelación durante el tiempo deseado. Ciertas frutas y hortalizas, el pescado, los camarones, y los champiñones, en la actualidad se están congelando mediante nitrógeno líquido. En la **congelación con deshidratación**, antes de proceder a su congelación, las frutas y las hortalizas han eliminado aproximadamente la mitad de su contenido de agua.

Las ventajas que se atribuyen a la congelación rápida comparada con la congelación lenta son las siguientes: (1) que se forman cristales de hielo de menor tamaño, y por lo tanto existe una menor destrucción mecánica de las células intactas del alimento, (2) que el tiempo que tarda el alimento en solidificarse es más corto y, por lo tanto, es menor el tiempo del cual disponen las sustancias solubles para difundir y el hielo para separarse, (3) que se inhibe antes el crecimiento de los microorganismos, y (4) que es más rápido el retardamiento de la actividad de los enzimas. Por consiguiente, se supone que si se comparan con alimentos que han sido sometidos a congelación lenta, los alimentos congelados mediante el procedimiento de congelación rápida, al descongelarlos, recuperan un estado más parecido al que tenía el alimento original. Parece ser que en algunos alimentos esto es cierto, por ejemplo en las hortalizas, aunque no lo es necesariamente en todos los alimentos. Una investigación realizada en el pescado, por ejemplo, ha puesto de manifiesto que la congelación rápida tiene pocas ventajas sobre la congelación lenta.

Modificaciones durante la preparación previa a la congelación. Tanto la velocidad de las alteraciones que experimenten los alimentos como el tipo de las mismas antes de proceder a su congelación, dependerán del estado en que se encontraban en el momento de su recolección los de origen vegetal o en el momento del sacrificio de los animales los de origen animal, y de los sistemas de manipulación a que se someten después. La temperatura a las cuales se mantiene el alimento y otros factores ambientales, determinarán las especies de microorganismos que crecerán en él y las modificaciones que experimentará. El estado en que se encuentra el alimento en el momento de congelarlo determinará la posible calidad del alimento congelado.

Modificaciones durante la congelación. El tratamiento de congelación rápida retarda rápidamente las reacciones que tienen lugar en los alimentos, tanto las químicas como las enzimáticas, y detiene la multiplicación de los microorganismos. La congelación profunda o lenta produce el mismo efecto, aunque con menor rapidez. Los efectos físicos de la congelación tienen gran importancia. El alimento congelado aumenta de volumen, y se forman cristales de hielo que aumentan de tamaño. Estos cristales suelen ser de mayor tamaño que los que se



forman en la congelación lenta, y entre las células de los tejidos se acumula mayor cantidad de hielo que en la congelación rápida y de aquí que sea posible que destruya las células. El agua que forma este hielo es extraída de las células y, como consecuencia de ello, aumenta la concentración de solutos en el líquido celular, y, de esta forma, su punto de congelación va disminuyendo constantemente hasta alcanzar la estabilidad. A los cristales de hielo se les atribuye la rotura de las células de los tejidos e incluso las de los microorganismos, aunque algunos autores conceden menor importancia a este efecto. El aumento de la concentración de solutos en el interior de las células acelera la precipitación, la deshidratación y la desnaturalización de las proteínas y provoca cambios irreversibles en los sistemas coloidales, como por ejemplo la sinéresis de los coloides hidrófilos. Además, se cree que es la causa de la destrucción de los microorganismos.

Modificaciones durante el almacenamiento. Durante el período de almacenamiento del alimento en estado de congelación, las reacciones químicas y enzimáticas transcurren con lentitud. Las proteínas de la carne, de la carne de ave, y del pescado se pueden deshidratar de forma irreversible, la mioglobina roja de la carne puede ser oxidada –sobre todo en la superficie del alimento– a metamioglobina de color pardo, y es posible que las grasas, tanto las de la carne como las del pescado, se oxiden e hidrolicen. Es posible que durante el almacenamiento las soluciones concentradas de azúcares, de sales, etc. que no se congelan rezumen de los envases de frutas o de los concentrados en forma de un líquido viscoso denominado **líquido metacrístico**. Las variaciones de temperatura durante el almacenamiento ocasionan un aumento tanto del tamaño de los cristales de hielo, como del daño físico al alimento. Durante el almacenamiento es probable que tenga lugar la desecación de la superficie del alimento. Cuando los cristales de hielo se subliman en la superficie de una determinada zona del alimento, en las frutas, en las hortalizas, en la carne, en las canales de aves y en el pescado, aparece un defecto llamado **quemadura del congelador**. La zona afectada suele tener un aspecto seco, granuloso y de color parduzco; en esta zona del alimento suelen tener lugar las modificaciones químicas citadas anteriormente, y los tejidos se resecan y endurecen.

Modificaciones durante la descongelación. La mayoría de las modificaciones de los alimentos que parece ser que se presentan durante la descongelación, son consecuencia de la congelación y del almacenamiento, si bien no se manifiestan antes de descongelarlos. Cuando se funden los cristales de hielo, el agua de fusión es absorbida de nuevo al interior de las células de los tejidos, o sale al exterior del alimento. La descongelación lenta y bien controlada suele tener como consecuencia la restitución de mayor cantidad de agua a las células que la descongelación rápida, razón por la cual se obtiene un alimento más parecido al alimento original que se congeló. Al líquido de color rosado o rojizo que se desprende de la carne al descongelarla se le denomina **goteo** o **sangría**, mientras que al líquido que rezuma de las frutas o de las hortalizas al descongelarlas se le

denomina fuga. Tanto el marchitamiento o ablandamiento de las hortalizas como la esponjosidad de las frutas, modificaciones que aparecen tras su descongelación, son debidas principalmente al daño físico que experimentan estos alimentos durante su congelación. Durante la descongelación aumentará el grado de actividad enzimática en el alimento, aunque esta actividad durará relativamente poco tiempo si éste se utiliza enseguida.

Si la descongelación fuese medianamente rápida y el alimento se utilizase enseguida, existiría escaso peligro de que los microorganismos se multiplicasen, ya que la temperatura del alimento sería excesivamente baja para que tuviese lugar cualquier grado de crecimiento visible. Los microorganismos tienen la posibilidad de multiplicarse abundantemente y de desarrollar una actividad importante solamente cuando la descongelación es muy lenta o cuando el alimento se deja a temperatura ambiente. Las especies de microorganismos que se multiplican dependen de la temperatura a la que se realizó la descongelación y del tiempo que el alimento, una vez descongelado, se dejó expuesto a la temperatura ambiente.

Destino de los alimentos descongelados. A veces, las averías en la red de suministro de energía eléctrica son la causa de que los alimentos existentes en los congeladores se descongelen parcial o totalmente. Las frutas descongeladas se pueden congelar de nuevo. Los alimentos carnosos se pueden volver a congelar si los envases contienen todavía algo de hielo. Los alimentos recongelados contendrán cristales de hielo de gran tamaño y pueden presentar fuga de líquido (sinéresis) y reblandecimiento. Si están descongelados, los alimentos carnosos se pueden utilizar si su temperatura es inferior a 3,3°C. En caso de duda, se deben desechar.

Alimentos precocinados congelados. Los alimentos precocinados congelados incluyen tal variedad de tipos de alimentos y de productos alimenticios, que es más conveniente estudiarlos conjuntamente. La mayoría de estos alimentos son productos derivados de la carne, del pescado o de la carne de aves de corral, como por ejemplo sopas, productos cremosos, guisados, empanadas, trozos de pescado o de pollo fritos, empanadas chinas*, carnes asadas, carne picada incluida en moldes de gelatina, y pollo guisado al estilo king. No obstante, algunos productos de panadería, las frutas y las hortalizas se pueden cocer y después congelarlos. El tratamiento del precocinado suele ser suficiente para destruir todos los microorganismos patógenos en el alimento crudo y reduce extraordinariamente el número total de microorganismos existentes en el mismo. La mayoría de las muestras de alimentos precocinados congelados analizadas por distintos autores indican que es posible preparar este tipo de alimentos a

*N. del T.: Se trata de un plato de la cocina china denominado «chow mein», que consiste en una empanada de notable grosor, preparada a base de pollo desmenuzado, champiñones, cebolla, apio, etc., y una pasta de forma alargada parecida a los tallarines.

escala comercial con recuentos totales inferiores a los 50.000 microorganismos por gramo. El tratamiento de la cocción no destruiría la toxina estafilocócica que pudiera haberse originado en el alimento. Los enterococos resisten la congelación, permaneciendo en los alimentos almacenados durante más tiempo que las bacterias coliformes, y de aquí que se recomiende utilizarlos como «bacterias indicadoras» de la posible contaminación fecal.

Es especialmente importante evitar que el alimento se contamine una vez precocinado, ya que cualquier microorganismo patógeno o capaz de alterarlo que después del citado tratamiento llegase hasta él, encontraría muy disminuido el número de microorganismos competitivos y de aquí que, si se les concediese la oportunidad de multiplicarse, probablemente el alimento cocido sería para los microorganismos contaminantes un medio de cultivo más apropiado que el alimento crudo originario. Por consiguiente, también es importante que tanto la refrigeración como la congelación de los alimentos se realicen inmediatamente después de su cocción con el fin de no conceder a los citados microorganismos la oportunidad de que se multipliquen.

Si estos alimentos precocinados congelados se mantienen calientes durante un tiempo excesivo una vez descongelados, es posible que los microorganismos causantes de intoxicaciones alimentarias se multipliquen en los mismos y elaboren toxinas, aunque se ha señalado que esto no ocurre siempre. La cocción definitiva o «calentamiento final» de este tipo de alimentos en las casas particulares o en los restaurantes no siempre es un tratamiento térmico suficiente para reducir de forma importante el número de microorganismos existentes ni para garantizar que serán destruidos la totalidad de los patógenos y de las toxinas que contengan.

EFFECTO DE LAS TEMPERATURAS DE CONGELACION E INFERIORES A LA DE CONGELACION SOBRE LOS MICROORGANISMOS

Resulta difícil estudiar las consecuencias de la congelación sobre los microorganismos debido a la gran cantidad de variables y efectos que se conocen. Un claro inconveniente que surge cuando se trata de tales investigaciones es la imposibilidad de estudiar el efecto de la congelación sobre las células sin tener en cuenta los efectos de la refrigeración (disminución de la temperatura hasta 0°C) y de la descongelación. Marth (1973) ha resumido la secuencia del proceso de congelación de los microorganismos en las siguientes fases: (1) enfriamiento de las células hasta 0°C, (2) enfriamiento adicional con formación de cristales de hielo intracelulares y posiblemente extracelulares, (3) concentración de los solutos intracelulares y extracelulares, (4) aumento del número de células en estado de congelación, y (5) descongelación de las células y del sustrato.

La congelación suele ir acompañada de una importante disminución del número de microorganismos viables existentes en el alimento. Esta disminución observada en el número de microorganismos aislables puede ser debida a los efectos letales y subletales que ejerce la congelación sobre los mismos.

Efectos letales

La congelación destruye muchas células microbianas, aunque de por sí no es un procedimiento de esterilización. Una de las técnicas más universalmente utilizadas para la *conservación* de cultivos microbianos consiste en congelarlos y guardarlos congelados, normalmente en nitrógeno líquido. Se cree que los efectos letales son debidos a la desnaturalización y precipitación de las proteínas o de los enzimas indispensables para las células microbianas, posiblemente como consecuencia del aumento de la concentración de solutos en el agua que queda sin congelar, o, tal vez en parte, como consecuencia de las lesiones físicas que les ocasionan los cristales de hielo. El enfriamiento rápido de las células microbianas desde una temperatura óptima para las mismas hasta 0°C también puede producir su muerte. A este efecto observado se le denomina **choque frío** y se cree que está relacionado con modificaciones experimentadas por los lípidos de la membrana celular junto con la modificación de la permeabilidad de la célula o con la liberación de enzimas inhibidores del restablecimiento de la integridad celular, como, por ejemplo, el enzima inhibidor de la ribonucleasa.

Efectos subletales

Cuando se realizan recuentos de microorganismos en los alimentos congelados, la disminución de su número no siempre significa la muerte real de un determinado número de individuos de la población. De hecho, algunas células microbianas pueden estar dañadas o lesionadas de tal forma, que su estado impide que se restablezcan y se puedan contar. De las células microbianas que se encuentran en este estado se dice que están dañadas por la congelación, dañadas por el hielo, o dañadas en el aspecto metabólico. Por consiguiente, la congelación de los microorganismos existentes en un determinado alimento puede ocasionarles lesiones debidas a la acción directa del frío sobre los mismos. Como quiera que estas células microbianas son capaces de restablecer su integridad celular si se les concede tiempo para ello, o si a los medios que se utilizan para su recuento se les añaden más factores nutritivos, en realidad no se trata de microorganismos muertos.

La importancia que se concede a las lesiones que el frío produce en los microorganismos existentes en los alimentos congelados, está relacionada con la determinación del significado de los patrones bacteriológicos en este tipo de alimentos, con la adecuación de los procedimientos de recuento, con la patogenicidad de los

microorganismos patógenos dañados, y con la interpretación de los recuentos del número de microorganismos viables en los alimentos congelados.

Respuesta de los microorganismos a la congelación

Durante la congelación concurren las variables o factores que se revisan a continuación, los cuales tal vez sean los responsables de que algunos microorganismos mueran, de que otros resulten dañados, y de que otros no experimenten daño alguno.

- 1 *Especie de microorganismo y su estado.* La resistencia a la congelación varía para cada una de las especies de microorganismos, es de grado diferente en las distintas fases de su crecimiento y depende de si se trata de células vegetativas o de esporas. Teniendo en cuenta su sensibilidad a la congelación, Christophersen (1973) ha clasificado los microorganismos en: (a) sensibles, (b) medianamente resistentes, y (c) insensibles. Las células vegetativas de las levaduras y de los mohos y muchas bacterias gramnegativas estarían en el primer grupo. Los microorganismos grampositivos, entre los que se encuentran los estafilococos y los enterococos, estarían en el segundo grupo. El tercer grupo estaría formado principalmente por microorganismos esporógenos, ya que las esporas de los bacilos y de los clostridios son muy resistentes a la congelación. Las bacterias que se encuentran en la fase logarítmica de crecimiento serían destruidas con mayor facilidad que las que se encuentran en las demás fases de crecimiento.
- 2 *Velocidad de congelación.* Parece ser que existe un intervalo de temperaturas (véase más adelante) que produce efectos letales; por consiguiente, las velocidades de congelación más rápidas tenderían a ser menos letales ya que transcurriría con mayor rapidez el tiempo durante el cual los microorganismos permanecerían sometidos a la acción de las temperaturas letales.
- 3 *Temperatura de congelación.* Las temperaturas de congelación menos bajas son más letales. A temperaturas de congelación comprendidas entre -4 y -10°C , se inactiva una cantidad de microorganismos mayor que a temperaturas comprendidas entre -15 y -30°C .
- 4 *Duración del almacenamiento en congelación.* Durante la congelación, al principio la velocidad de destrucción de los microorganismos es rápida, aunque a continuación tiene lugar una destrucción gradual de los mismos a la que se conoce como **destrucción debida al almacenamiento**. El número de microorganismos viables disminuye conforme se prolonga el tiempo de almacenamiento. El almacenamiento de los alimentos congelados a temperaturas incluidas en el intervalo de temperaturas letales daría lugar a una disminución del número de microorganismos más rápida que si se almacenasen a temperaturas de congelación más altas o más bajas que aquellas.
- 5 *Tipo de alimento.* La composición del alimento influye en la velocidad de destrucción de los microorganismos, tanto durante su congelación como

durante su almacenamiento. Es posible que el azúcar, la sal, las proteínas, los coloides, la grasa y otras sustancias ejerzan un efecto protector sobre los microorganismos, mientras que el elevado contenido de humedad y los valores bajos del pH es posible que aceleren su destrucción.

6 *Influencia de la descongelación.* La respuesta de los microorganismos a la velocidad de descongelación es variable. Se ha comprobado que el calentamiento rápido es nocivo para algunas bacterias.

7 *Congelaciones y descongelaciones sucesivas.* Se ha señalado que las congelaciones y descongelaciones sucesivas aceleran la destrucción de los microorganismos, aunque al parecer esto no ocurre siempre.

8 *Fenómenos que es posible que se presenten durante la congelación de la célula.* Conforme desciende la temperatura, cada vez se congela mayor cantidad de agua. Por consiguiente, el agua que permanece libre o sin congelar a cada temperatura cada vez contiene mayor cantidad de solutos (sales, proteínas, ácidos nucleicos, etc.). Esta circunstancia puede modificar el pH de la sustancia celular, aumentar la concentración de electrólitos, modificar los coloides, desnaturalizar las proteínas, y aumentar la viscosidad. Los cristales de hielo se pueden formar fuera de la célula («hielo extracelular») y hacer salir agua al exterior de la misma, con el consiguiente efecto de deshidratación o concentración. Es posible que se formen cristales intracelulares que aumenten de tamaño, o que cristalicen precisamente atravesando la célula, dando lugar a una modificación de la permeabilidad celular o la producción de «orificios» tanto en la membrana citoplásmica como en la pared celular. Se cree que el hielo intracelular es más nocivo para las células que los cristales extracelulares de hielo.

BIBLIOGRAFIA

- American Society of Refrigeration Engineers. 1951. The refrigeration data book, New York.
- Anonymous. 1961a. Relative stabilities of frozen foods. *Food Process.* 22(1):41-43.
- Anonymous. 1961b. Super cold for ultra-quick freezing. *Food Process.* 22(6):48-50.
- Anonymous. 1964. Nitrogen freezing arrives. *Food Eng.* 36(11):73-74.
- Arpai, J. 1964. The recovery of bacteria from freezing. *Z. Allg. Mikrobiol.* 4:105-113.
- Beuchat, L. R. 1975. Environmental factors affecting survival and growth of *Vibrio parahaemolyticus*: a review. *J. Milk Food Technol.* 38:476-480.
- Christophersen, J. 1973. Basic aspects of temperature action on microorganisms. In H. Precht et al., *Temperature and life*, chap. 1. Springer-Verlag, New York.
- Chung, B. H., R. Y. Cannon, and R. C. Smith. 1976. Influence of growth temperature on glucose metabolism of a psychrotrophic strain of *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 31:39-45.
- Doebbler, G. F., and A. P. Rinfret. 1963. Survival of microorganisms after ultrarapid freezing and thawing. *J. Bacteriol.* 85:485.



- Eddy, B. P. 1960. Cephalotrichous, fermentative gram-negative bacteria: the genus *Aeromonas*. *J. Appl. Bacteriol.* 23:216-249.
- Elliott, R. P., and H. D. Michener. 1960. Review of microbiology of frozen foods. *In* Conference on frozen food quality. USDA Agric. Res. Serv. ARS-74-21.
- Elliott, R. P., and H. D. Michener. 1965. Factors affecting the growth of psychrophilic micro-organisms in foods: a review. USDA Agric. Res. Serv. Tech. Bull. 1320.
- Fisher, F. E. (Chairman). 1962. Report of the committee on frozen food sanitation. *J. Milk Food Technol.* 25:55-57.
- Genigeorgis, C., H. Riemann, and W. W. Sadler. 1969. Production of enterotoxin B in cured meats. *J. Food Sci.* 34:62-68.
- Goldblith, S. A., L. Rey, and W. W. Rothmayr. 1975. Freeze drying and advanced food technology. Academic Press, Inc., London.
- Gray, M. L., and A. H. Killinger. 1966. *Listeria monocytogenes* and listeria infections. *Bacteriol. Rev.* 30:309-382.
- Gray, R. J. H., and T. Sorhaug. 1983. Response, regulation and utilization of microbial activities at low temperatures. *In* A. H. Rose (ed.), Food microbiology. Academic Press, Inc., New York.
- Gunderson, M. F. 1961. Mold problem in frozen foods, pp. 299-310. *In* Proceedings low temperature microbiology symposium (Campbell Soup Co.).
- Haines, R. B. 1935-1936. The freezing and death of bacteria. *Rep. Food Invest. Board [Br.]*. 1934:47; 1935:31-34.
- Haines, R. B. 1938. The effect of freezing on bacteria. *R. Soc. (Lond.) Proc.* B124:451-463.
- Hanna, M. O., J. C. Stewart, D. L. Zink, Z. L. Carpenter, and C. Vanderzant. 1977. Development of *Yersinia enterocolitica* on raw and cooked beef and port at different temperatures. *J. Food Sci.* 42:1180-1184.
- Hucker, G. J., and E. R. David. 1957a. The effect of alternate freezing and thawing on the total flora of frozen chicken pies. *Food Technol.* 11:354-356.
- Hucker, G. J., and E. R. David. 1957b. The effect of alternate freezing and thawing on the total flora of frozen vegetables. *Food Technol.* 11:381-383.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 1980. Microbial ecology of foods. Volume 1. Factors affecting life and death of microorganisms. Academic Press, Inc., New York.
- King, C. J. 1971. Freeze-drying of foods. Butterworth & Co. (Publishers), Ltd., London.
- Krieg, N. R. (ed.). 1984. Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 1. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- Marth, E. H. 1973. Behavior of food microorganisms during freeze-preservation. *In* O. R. Fennema, W. D. Powrie, and E. H. Marth (eds.), Low-temperature preservation of foods and living matter, chap. 8. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Matches, J. R., and J. Liston. 1968. Low temperature growth of *Salmonella*. *J. Food Sci.* 33:641-645.
- Michener, H. D., and R. P. Elliot. 1964. Minimum growth temperatures for food-poisoning, fecal-indicator, and psychrophilic microorganisms. *Adv. Food Res.* 13:349-396.
- Mossel, D. A. A., M. Jansma, and J. de Waart. 1981. Growth potential of 114 strains of epidemiologically most common *Salmonellae* and *Arizonae* between 3 and 17c. *In*

- Psychrotrophic microorganisms in spoilage and pathogenicity. T. A. Roberts, G. Hobbs, J. H. Christian, and N. Skovgaard (eds.). Academic Press, Inc., New York.
- Nickerson, J. T., and A. J. Sinskey. 1972. Microbiology of foods and food processing. American Elsevier Publishing Co., New York.
- Olsvik, O., and G. Kapperud. 1982. Enterotoxin production in milk at 22 and 4°C by *Escherichia coli* and *Yersinia enterocolitica*. Appl. Environ. Microbiol. 43:997-1000.
- Pennington, M. E., and D. K. Tressler. 1951. Food preservation by temperature control. In M. B. Jacobs (ed.), The chemistry and technology of food and food products, chap. 34. 2d ed. Interscience Publishers (Division of John Wiley & Sons, Inc.), New York.
- Rogers, J. L. 1958. Quick frozen foods. Food Trade Press, London.
- Schmidt, C. F., R. V. Lechowich, and J. F. Folinazzo. 1961. Growth and toxin production by type E *Clostridium botulinum* below 40°F. J. Food Sci. 26:626-630.
- Simunovic, J., J. L. Oblinger, and J. P. Adams. 1985. Potential for growth of non-proteolytic types of *Clostridium botulinum* in pasteurized restructured meat products: a review. J. Food Prot. 48:265-276.
- Stern, N. J., and M. D. Pierson. 1979. *Yersinia enterocolitica*: A review of the psychrotrophic water and foodborne pathogen. J. Food Sci. 44:1736-1742.
- Straka, R. P., and J. L. Stokes. 1959. Metabolic injury to bacteria at low temperatures. J. Bacteriol. 78:181-185.
- Tompkin, R. B. 1973. Refrigeration temperature as an environmental factor influencing the microbial quality of food: a review. Food Technol. 27(12):54-58.
- Tressler, D. K., and C. F. Evers. 1968. The freezing preservation of foods. Volume I. Freezing of fresh foods. Volume II. Freezing of precooked and prepared foods. Volume III. Commercial freezing of fresh foods. Volume IV. Freezing of precooked frozen foods. 4th ed. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Woolrich, W. R., and E. R. Hallowell. 1970. Cold and freezer storage manual. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Wolstenholme, G. E. W., and M. O'Conner. 1970. The frozen cell. J. A. Churchill, Publishers, London.
- Wright, R. C., D. H. Rose, and T. M. Whiteman. 1954. The commercial storage of fruits, vegetables, ornamentals and nursery stock. USDA Handb. 66.

Conservación por desecación

La conservación de alimentos por desecación se ha practicado durante siglos. En el momento de su recolección, algunos alimentos, como por ejemplo los granos de cereales, están lo suficientemente secos como para que con una ligera desecación permanezcan inalterables durante mucho tiempo si se almacenan en condiciones apropiadas. La mayoría de los alimentos, no obstante, contienen una cantidad de humedad suficiente para permitir la actividad de sus propios enzimas y la de los microorganismos, de forma que para conservarlos por desecación es necesario que su humedad sea eliminada o fijada (por ej., mediante solutos). La Tabla 8.1 establece la comparación entre los contenidos de humedad de varios alimentos antes y después de su desecación con el fin de conseguir el grado de humedad que los convertiría en estables.

La desecación se suele conseguir eliminando el agua, si bien cualquier procedimiento que reduzca, en un determinado alimento, la cantidad de humedad disponible, por ejemplo, las sustancias que disminuyen la a_w , constituye una forma de desecación. Así, por ejemplo, para desecar el pescado se le puede añadir abundante sal con el fin de que la humedad que contienen los tejidos sea extraída de los mismos y sea fijada por el soluto y, por consiguiente, no esté a disposición de los microorganismos. Para reducir la cantidad de humedad disponible de los alimentos también se les puede añadir azúcar, como es el caso de la leche condensada azucarada.

La humedad de los alimentos se puede eliminar mediante varios procedimientos, que van desde la antigua práctica de desecarlos mediante la acción de los rayos solares hasta los procedimientos artificiales que se emplean en la actualidad. Muchos de los términos que se emplean en relación con la desecación de

Tabla 8.1. Contenido de humedad de varios alimentos antes y después de su desecación.

<i>Alimento</i>	<i>Humedad antes de la desecación</i> %	<i>Humedad después de la desecación</i> %
Leche		
Entera	87	5,0
Desnatada	90	5,0
Huevos		
Completos	74	2,9
Clara	88	7,3
Yema	51	1,1
Carne asada		
de vaca, magra	60	1,5
Pollo asado	61	1,6
Judías verdes cocidas	92	11,5
Maíz dulce cocido	76	3,2
Patatas hervidas	80	4,0
Zumo de manzana	86	6,2
Higos frescos	78	3,6
Perejil	84	5,3

Fuente: Resumido de Van Arsdel y otros (1973).

Tabla 8.2. Tipos de desecadores utilizados para varios alimentos, subproductos y productos de desecho.

<i>Producto</i>	<i>Tipo de desecador</i>
Hortalizas, confitería, frutas, pectina	De compartimentos y bandeja perforada
Hierba, granos, hortalizas, frutas, frutos secos, cereales para desayuno	Cinta transportadora
Hierba, granos, bagazo de manzana, lactosa, estiércol de ave, turba, almidón (al vacío)	Rotatorio
Leche, café, té, purés de frutas	Aerosol
Leche, almidón, alimentos infantiles predigeridos, sopas, subproductos de fábricas de cerveza y destilerías	Rodillo de película
Almidón, pulpa de frutas, residuos de destilerías, cultivos	Neumático
Café, esencias, extractos de carne, malteados y otros productos de confitería	Desecadores de congelación y desecadores al vacío

Fuente: Williams-Gardner (1971).

alimentos son un tanto imprecisos. A un alimento **desechado al sol** se le ha eliminado su humedad exponiéndolo a los rayos solares sin necesidad de aplicarle calor artificial ni de controlar las variaciones de la temperatura, de la humedad relativa o de la velocidad del aire. Un alimento **deshidratado** o **desechado** se ha secado mediante calor producido artificialmente bajo condiciones controladas de temperatura, de humedad relativa y de circulación de aire. El término **condensado** suele significar que la humedad se ha eliminado de un alimento líquido, mientras que el término **evaporado** puede tener un significado parecido o bien se puede emplear como sinónimo de deshidratado.

PROCEDIMIENTOS DE DESECACION

Los distintos procedimientos empleados para desecar los alimentos sólo se describirán sucintamente; si es necesario conocerlos con detalle se debe consultar la bibliografía relativa a la tecnología de los alimentos. En los Capítulos que tratan de la conservación de cada uno de los alimentos se revisarán los correspondientes procedimientos de desecación. En la Tabla 8.2 se ofrecen resumidos distintos procedimientos de desecación aplicados a varios alimentos.

Desecación solar

La desecación solar se limita a los climas de sol ardiente y atmósfera seca y a ciertas frutas, como por ejemplo las uvas, las ciruelas, los higos, los albaricoques, las nectarinas*, las peras, y los melocotones. Las frutas a desecar se extienden sobre bandejas y durante la desecación se les puede dar la vuelta. Los pescados, el arroz y otros granos también se pueden desecar al sol. Más adelante se revisarán otros tratamientos especiales.

Desecación mediante desecadores mecánicos

La mayoría de los procedimientos de desecación artificial consisten en dirigir sobre el alimento a desecar una corriente de aire caliente y de humedad controlada, o bien en hacer pasar el alimento a través de aire que reúne las citadas condiciones. Se han ideado numerosos dispositivos para regular la circulación del aire y para volver a emplearlo en otros tratamientos. El desecador más sencillo es el **evaporador** u **horno de desecación**, a veces empleado en las casas de

*N. del T.: Variedad de melocotones.

campo, en el que las corrientes naturales de aire que se originan al elevarse el aire caliente producen la desecación del alimento. Los procedimientos de desecación mediante corrientes de aire forzado emplean corrientes de aire caliente que pasan a través del alimento, generalmente en túneles. Otro procedimiento consiste en hacer pasar a través del aire caliente el alimento colocado sobre cintas transportadoras o sobre bandejas colocadas en carretillas.

Los alimentos líquidos, como la leche, los zumos, y las sopas, se pueden **evaporar** empleando temperaturas relativamente bajas y vacío en un tanque de vacío o en un aparato parecido; se pueden **desecar en cilindros** haciéndolos pasar sobre la superficie externa de un cilindro caliente, con vacío o sin vacío; o se **pueden desecar por pulverización**, pulverizando el líquido sobre una corriente de aire caliente seco.

Liofilización

La liofilización o desecación por congelación al vacío, que consiste en la sublimación del agua de un alimento congelado, mediante vacío y aplicación de calor a la bandeja de desecación, se está empleando en algunos alimentos, entre los que se incluyen carnes, canales de aves, alimentos marinos, frutas y hortalizas. Las finas capas congeladas de los alimentos de bajo contenido en azúcar, se pueden desecar sin vacío mediante la sublimación de la humedad durante el paso de un gas seco que la absorbe.

Desecación durante el ahumado

Según se ha señalado en el Capítulo 9, la mayor parte del efecto conservador del ahumado es consecuencia de la desecación que experimenta el alimento durante este tratamiento. De hecho, algunos autores sostienen que la desecación es el principal factor de conservación, sobre todo por lo que se refiere a la desecación de la superficie del alimento.

Otros procedimientos de desecación

Se ha propuesto el calentamiento electrónico para eliminar todavía mayor cantidad de humedad de un alimento de por sí ya bastante desecado. En la actualidad se presta atención a la desecación en forma de espuma, en la que los alimentos líquidos se batan hasta formar espuma, se desecan con aire caliente, y finalmente se muelen, de la misma forma que también se presta atención a la insuflación de los alimentos sólidos mediante un tubo de aire a presión con el fin de obtener una estructura porosa que facilita su ulterior desecación. En los concentrados de tomate, en la leche, y en las patatas, ha dado buenos resultados la desecación en

torres con una atmósfera desprovista de humedad a temperaturas de 30°C o a temperaturas inferiores.

FACTORES QUE REGULAN LA DESECACION

El estudio de la adecuada regulación de la desecación incluye los siguientes factores:

- 1 *Temperatura empleada.* Esta temperatura depende del alimento y del procedimiento de desecación que se utilice.
- 2 *Humedad relativa del aire.* También depende del alimento y del procedimiento de desecación que se utilice y, además, del estado de desecación de aquél.
- 3 *Velocidad del aire.*
- 4 *Duración de la desecación.*

La regulación inadecuada de estos factores puede ocasionar el **endurecimiento superficial** del alimento como consecuencia de que la evaporación de humedad a nivel de la superficie es más rápida que la difusión de la misma desde el interior, lo que da como resultado la formación de una película superficial dura, queratinizada e impermeable que impide que el alimento se siga desecando.

TRATAMIENTOS A LOS CUALES SE SOMETEN LOS ALIMENTOS ANTES DE SU DESECACION

Según se indicará más adelante, la mayoría de los tratamientos previos a los cuales se someten los alimentos a desecar tienen importancia por su efecto sobre la población de microorganismos. Entre estos tratamientos previos se pueden incluir (1) la selección y clasificación de los alimentos teniendo en cuenta su tamaño, estado de madurez e integridad, (2) el lavado, sobre todo de las frutas y hortalizas, (3) el pelado de las frutas y hortalizas a mano, con máquinas, con una solución de lejía, o por abrasión, (4) el troceado en mitades, a rodajas, en fragmentos o en dados, (5) la inmersión en un baño alcalino, tratamiento que se emplea principalmente en las pasas, uvas, y ciruelas (cuando se desecan mediante la acción directa de los rayos solares), empleándose para ello una solución caliente de lejía o de carbonato sódico de concentración comprendida entre el 0,1 y el 1,5 por cien, (6) el blanqueado o escaldado de las hortalizas y de algunas frutas (albaricoques, melocotones), y (7) la sulfuración de los frutos ligeramente colo-

reados y de ciertas hortalizas. Las frutas se sulfuran exponiéndolas al dióxido de azufre gaseoso que se desprende en la combustión del azufre, de forma que sea absorbida una proporción de 1.000 a 3.000 p.p.m., según de qué fruta se trate. Las hortalizas se pueden sulfurar de forma parecida tras ser blanqueadas, o bien se pueden sumergir en una solución de sulfito o rociarlas con esta solución. La sulfuración contribuye a mantener en las frutas un color ligero y llamativo, conserva su contenido en vitamina C y tal vez el de vitamina A y ahuyenta a los insectos; también destruye la mayoría de los microorganismos existentes.

TRATAMIENTOS DESPUES DE LA DESECACION

Los tratamientos a los cuales se someten los alimentos una vez desecados, son distintos según de qué alimento se trate.

Exudación

La «exudación», referida a los alimentos, consiste en almacenarlos, generalmente en cestones o en cajas, con el fin de que se equilibre su humedad o con el fin de añadirse la hasta el grado deseado. Se emplea principalmente en algunos frutos secos y en algunos frutos en nuez (almendras, nueces inglesas).

Envasado

La mayoría de los alimentos se envasan inmediatamente después de su desecación para protegerlos de la humedad, de la contaminación con microorganismos, y de la infestación por insectos, aunque algunos alimentos desecados (p. ej., las frutas y las nueces) se pueden conservar incluso un año antes de proceder a su envasado.

Pasteurización

La pasteurización, que se limita en su mayor parte a los frutos secos, destruye cualquier microorganismo patógeno que pudiera existir en los mismos y también los microorganismos capaces de alterarlos. Los frutos secos se suelen pasteurizar envasados y la duración del tratamiento térmico a que se someten, que es distinta según de qué fruto se trate, oscila desde 30 a 70 minutos, empleando temperaturas comprendidas entre 65,6 y 85°C, a una humedad relativa entre el 70 y el 100 por cien.

MICROBIOLOGIA DE LOS ALIMENTOS DESECADOS

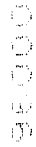
Antes de su recepción en la planta de desecación

La microbiología de los alimentos antes de su recepción en la planta de tratamiento es probable que sea parecida tanto si tienen que ser desecados, como si tienen que ser refrigerados, congelados, enlatados, o sometidos a cualquier otro tratamiento. En la superficie de las frutas y de las hortalizas existen microorganismos del suelo y del agua más su propia flora natural, y las zonas alteradas contienen los microorganismos que producen la alteración. Si los factores ambientales lo permiten, antes de que los alimentos lleguen a la planta donde van a ser desecados, puede tener lugar la multiplicación de algunos de estos microorganismos. Así, las hortalizas apiladas pueden experimentar un calentamiento y sustentar en su superficie la multiplicación de microorganismos que producen mucosidad, de otros que comunican a los alimentos sabores desagradables, e incluso de microorganismos responsables de su putrefacción. Las carnes y las canales de las aves de corral se contaminan con microorganismos procedentes del suelo, del contenido intestinal, de los manipuladores y del equipo. Los pescados se contaminan con microorganismos procedentes del agua, de sus propio mucílago y contenido intestinal, y también con los procedentes de los manipuladores y del equipo, y de aquí que todos estos microorganismos puedan multiplicarse antes de que los pescados lleguen a la planta de desecación. Los huevos son ensuciados por la gallina, por los nidales, y por las personas que los manipulan, y de aquí que puedan sustentar una cierta multiplicación microbiana, a no ser que sean correcta y puntualmente manipulados. La leche está expuesta a contaminación desde el momento de ser segregada por la vaca hasta su recepción en la planta donde va a ser desecada, pudiendo sustentar la multiplicación de algunas bacterias psicrotomas.

En la planta desecadora, antes de su desecación

La multiplicación de los microorganismos que se ha iniciado en los alimentos con anterioridad a su llegada a la planta de desecación, puede continuar en la propia planta hasta que llegue el momento de ser desecados. Asimismo, el equipo y los obreros de la planta los pueden contaminar. Como se indicará más adelante, algunos tratamientos previos reducen el número de microorganismos, mientras que otros lo incrementan, si bien los alimentos se pueden contaminar tras haber sido sometidos a cualquiera de estos tratamientos previos.

La calibración, la selección y la clasificación de los alimentos, sobre todo de aquéllos como, por ejemplo, las frutas, las hortalizas, y la leche, influirán tanto en las especies como en el número de microorganismos existentes en los mismos. La eliminación de las frutas y hortalizas alteradas, o de sus partes deterioradas,



reducirá el número de microorganismos en el alimento a desecar. El rechazo de los huevos rotos, de los sucios y de los que presentan alteraciones tiene el mismo objeto, de igual forma que el rechazo de la leche que no se ajusta a los patrones bacteriológicos de calidad.

El lavado de las frutas y de las hortalizas elimina la tierra y otras partículas y tiene por objeto eliminar los microorganismos. También existe la posibilidad de que se añadan microorganismos si el agua es de mala calidad, ya que la humedad superficial puede favorecer la multiplicación de los microorganismos si se les concede oportunidad para ello. Es posible que el lavado de los huevos resulte más perjudicial que beneficioso, a no ser que se empleen enseguida, ya que la humedad facilita la penetración de las bacterias a través de la cáscara.

El pelado de las frutas y de las hortalizas, sobre todo con vapor de agua o con lejía, debe reducir el número de microorganismos, ya que la mayoría de los microorganismos se suelen encontrar en la superficie externa de estos alimentos. Tanto su división como su troceado no deben incrementar el número de microorganismos, si bien lo aumentarán en el caso de que el equipo no esté suficientemente limpio y desinfectado.

La inmersión en soluciones alcalinas, que se emplea en algunas frutas antes de desecarlas al sol, puede reducir la población microbiana.

El blanqueado o escaldado de las hortalizas reduce de forma importante el número de bacterias, representando esta reducción incluso un 99 por cien en algunos casos. Es posible que después del blanqueado aumente el número de bacterias como consecuencia de la contaminación del equipo y de que se les concede la oportunidad de multiplicarse.

El tratamiento con dióxido de azufre de las frutas y hortalizas también ocasiona una importante reducción del número de microorganismos y tiene por objeto inhibir su multiplicación en el alimento desecado.

Durante la desecación

El calor que se aplica en todo tratamiento de desecación de un determinado alimento ocasiona una reducción del número total de microorganismos, aunque su eficacia depende tanto de las especies y del número de los mismos inicialmente existentes en el alimento en cuestión, como del procedimiento de desecación que se emplee. Normalmente resultan destruidas todas las levaduras y la mayoría de las bacterias y también las células vegetativas de unas pocas especies de bacterias termorresistentes. Según se indicará a continuación, las condiciones inadecuadas durante la desecación pueden incluso permitir la multiplicación de los microorganismos.

En el tratamiento de los alimentos por liofilización, la congelación destruye un número de microorganismos mayor que el que destruye la deshidratación. Cualquier procedimiento de desecación que suponga cambios de temperatura bruscos e importantes, tanto si se trata de su aumento durante la desecación por

aplicación de calor como si se trata de su disminución durante la liofilización, es probable que ocasione trastornos del metabolismo de algunos microorganismos, haciéndolos más exigentes en cuanto a necesidades nutritivas.

Después de la desecación

Si el tratamiento de desecación y las condiciones de almacenamiento son apropiados, en el alimento desecado no habrá multiplicación microbiana. Durante el almacenamiento, tiene lugar una ligera disminución del número de microorganismos, más rápida al principio y más lenta después. Los microorganismos resistentes a la desecación sobrevivirán más fácilmente; por consiguiente, el porcentaje de estos microorganismos aumentará. Las esporas de las bacterias y las de los mohos, algunos micrococos, y las microbacterias son especialmente resistentes al almacenamiento bajo condiciones de sequedad. Durante el envasado y durante cualquier otra manipulación del alimento una vez desecado, puede existir cierta posibilidad de que se contamine.

Los tratamientos especiales a los que se someten algunos alimentos desecados harán variar el número de microorganismos que contienen. La exudación de los frutos secos con el fin de equilibrar la humedad puede permitir cierto grado de multiplicación microbiana. La pasteurización de los frutos secos reducirá el número de microorganismos. Algunos alimentos secos son envasados de nuevo para su venta al por menor, por ejemplo, los higos en el Oriente Próximo, en cuyo caso están expuestos a contaminación.

Tanto el contenido microbiano de los alimentos desecados como la temperatura del agua que se emplea para rehidratarlos, influirán en la calidad de conservación del alimento rehidratado. En la carne de pollo liofilizada, el número de bacterias se reduce todavía más si se rehidrata con agua a 50°C y desaparecen casi totalmente si el agua de rehidratación está a una temperatura comprendida entre 85 y 100°C. En la carne rehidratada existirá multiplicación bacteriana a temperaturas favorables, si bien a 4°C su vida útil (tiempo de conservación) es considerable. Se ha comprobado que *Staphylococcus aureus* resiste la liofilización y la rehidratación a 60°C, siendo ésta la razón de que se recomiende la rehidratación de la carne a 100°C.

Microbiología de algunos alimentos desecados

Frutas desecadas. En la superficie externa de la mayoría de las frutas frescas, el número de microorganismos oscila desde relativamente pocos a muchos, en función de los tratamientos previos a los que se hayan sometido, mientras que en la superficie externa de las frutas desecadas su número oscila desde unos cientos a varios millares por gramo de fruta; en las frutas enteras desecadas, los microorganismos se encuentran principalmente en la superficie

externa. Es probable que tanto las esporas bacterianas como las esporas de los mohos existan en mayor número. Cuando ha habido crecimiento de mohos en alguna parte de la fruta, antes o después de la desecación, sus esporas se pueden encontrar en elevado número.

Hortalizas desecadas. En las hortalizas desecadas, los recuentos de microorganismos oscilan desde cifras insignificantes a varios millones por gramo. En las hortalizas, inmediatamente antes de ser desecadas, el número de microorganismos puede ser elevado debido a su contaminación y a la multiplicación de los microorganismos una vez blanqueadas, mientras que el porcentaje de los destruidos por la desecación suele ser inferior al de los destruidos en los alimentos de mayor acidez. Si las bandejas de desecación no se cargan adecuadamente, durante la desecación, puede tener lugar el agriado por las bacterias lácticas de algunas hortalizas, como por ejemplo las cebollas y las patatas, y un notable aumento del número de bacterias. Este riesgo es mayor en las cebollas debido a que no se blanquean.

En las hortalizas desecadas se encuentran principalmente bacterias. Algunos investigadores han identificado los géneros de bacterias aislados en estos alimentos (recogidos por Vaughn, 1951) entre los que figuran *Escherichia*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, y *Streptococcus*. Vaughn comprobó que las especies predominantes en muchas muestras de hortalizas desecadas pertenecían a los géneros *Lactobacillus* y *Leuconostoc*.

Huevos desecados. Los huevos desecados pueden contener desde unos cientos de microorganismos por gramo, principalmente bacterias, hasta más de cien millones, dependiendo de que en la elaboración de este producto se empleen huevos rotos y de los procedimientos utilizados para desecarlos. Como quiera que en el contenido de los huevos frescos de buena calidad normalmente no existen microorganismos o solamente existen unos pocos, en los recuentos de microorganismos de los huevos desecados se deben obtener cifras bajas. No obstante, el aprovechamiento de huevos mal lavados, de aquéllos a los que se les ha dejado exudar, de los sucios y de los rotos, y de los que ya están invadidos por microorganismos, puede añadir a este producto un elevado número de microorganismos; asimismo, la contaminación y la subsiguiente multiplicación de los microorganismos contaminantes, puede tener lugar durante la operación de separación de la cáscara y durante otras manipulaciones previas a su desecación. Es posible que la desecación reduzca la carga microbiana a la décima o a la centésima parte, aunque todavía permite que sobreviva un elevado número de microorganismos. En los huevos desecados se ha encontrado una gran variedad de especies de microorganismos entre las que se incluyen micrococos, estreptococos, coliformes, esporógenos y mohos. Cuando la clara de los huevos ha sido sometida a un tratamiento previo de fermentación, es posible que los recuentos en el producto desecado den cifras elevadas. La yema de huevo es un medio de cultivo más rico en nutrientes que la clara, razón por la cual es posible que, en el momento de

romper el huevo para separar la cáscara, los recuentos en la yema sean más elevados que en la clara, y que, antes de proceder a la desecación de los huevos, la multiplicación de los microorganismos sea más abundante en aquélla.

Leche en polvo. El número de microorganismos existentes en la leche en polvo puede oscilar desde unos pocos cientos a varios millones por gramo, dependiendo de la leche que se está desecando y del procedimiento de desecación que se emplee. El procedimiento de los cilindros o tambores giratorios destruye un número de microorganismos más elevado que el procedimiento de desecación por pulverización. Las especies de microorganismos predominantes son las especies de estreptococos termodúricas, las de micrococos y las esporógenas.

ALIMENTOS CON UN CONTENIDO DE HUMEDAD INTERMEDIO

Se ha adjudicado la denominación de **alimentos de humedad intermedia** a una gran cantidad de alimentos preparados para su venta en el comercio cuyo contenido de humedad está comprendido entre el 20 y el 40 por cien y cuya estabilidad se mantiene sin necesidad de almacenarlos bajo refrigeración. En este tipo de alimentos se incluyen varios pasteles blandos, las compotas, las gelatinas, la miel, muchas frutas desecadas, algunos productos de panadería y, por definición, incluso algunos productos cárnicos como la mortadela italiana conocida con el nombre de «pepperoni»*, el jamón del país, la cecina, y algunos pescados desecados. Estos alimentos tienen un bajo contenido de humedad, se pueden consumir sin tener que prepararlos ni rehidratarlos previamente y, aun así, su sabor no se parece al de los correspondientes alimentos deshidratados. Desde hace muy poco tiempo, la industria de alimentos para los animales de compañía ha puesto de manifiesto los buenos resultados conseguidos con este tipo de alimentos que han despertado el interés de toda la industria de alimentos de consumo humano.

La estabilidad de estos alimentos es consecuencia, en parte, de la disminución de su a_w . Para designarlos de forma totalmente correcta, se trata de **alimentos de actividad agua reducida**.

Según se indicó en el Capítulo 1, todos los microorganismos tienen una actividad agua de crecimiento óptima y una actividad agua de crecimiento mínima. Ajustando la a_w del producto fabricado, mediante la adición de solutos o eliminando agua, a un nivel inferior a la a_w mínima correspondiente a la flora microbiana que normalmente lo altera, se obtiene un alimento microbiológicamente estable.

*N. del T.: Elaborada con una mezcla de carnes de vacuno y de cerdo, picadas groseramente, a la que se añade una gran cantidad de pimienta, otras varias especias, azúcar y nitrito sódico.



Se debe tener en cuenta que muchos alimentos de este tipo contienen microorganismos y esporas viables, que no son capaces de multiplicarse o de germinar debido a la escasa actividad agua existente en los mismos. Al fabricar un alimento con una a_w reducida, se deben tener en cuenta otros factores que podrían influir en la multiplicación de los microorganismos existentes en el mismo, ya que la influencia de la a_w sobre los microorganismos está influida, a su vez, por el pH, por la concentración de oxígeno, por la temperatura, por la cantidad de nutrientes, y posiblemente por los conservadores, tanto si son naturales como si son añadidos. A escala comercial, la estabilidad de un alimento no depende exclusivamente de que se disminuya solamente su a_w . Por ejemplo, si el único factor determinante de su estabilidad fuese la reducción de la a_w , los alimentos tendrían que tener valores de actividad agua comprendidos entre 0,65 y 0,70 que los asemejarían a los alimentos deshidratados. La a_w de la mayoría de los alimentos con un contenido de humedad intermedio tendría valores comprendidos entre 0,75 y 0,85. La a_w de los alimentos se suele ajustar mediante su desecación, mediante aditivos (solutos, como por ejemplo, el azúcar, la sal, e incluso el glicerol), o mediante la combinación de la desecación y el empleo de aditivos. Los alimentos húmedos para animales de compañía envasados en bolsa flexible y comercializados en todas las naciones, pone de manifiesto el éxito de la tecnología de los alimentos con un contenido de humedad intermedio. Este peculiar alimento tiene una a_w cuyo valor está comprendido entre 0,83 y 0,85, ha sido pasteurizado, contiene un agente antimicótico, por ejemplo sorbato potásico, y tiene un contenido de humedad aproximado comprendido entre el 25 y el 27 por cien.

Brockmann (citado en la obra de Van Arsdel y otros, 1973) ha resumido las posibilidades de reducir la actividad agua con el fin de conservar los alimentos en los siguientes asertos: (1) Una a_w de valor 0,85 inhibe a la mayoría de los patógenos que normalmente contienen los alimentos, (2) la germinación de las esporas bacterianas resulta inhibida a valores de a_w relativamente elevados, (3) los microorganismos asporógenos, los cuales son capaces de crecer a valores de a_w inferiores a 0,95, son sensibles a las temperaturas de la pasteurización, (4) las condiciones subóptimas de crecimiento determinan la inhibición a valores de actividad agua más elevados, (5) los microorganismos que crecerán a valores bajos de actividad agua se multiplicarán muy lentamente, y (6) las levaduras y los mohos se pueden eliminar con agentes antimicóticos.

BIBLIOGRAFIA

- Anonymous. 1962. Tumbling freeze drying. *Food Process.* 23(10):67.
- Cruess, W. V. 1958. Commercial fruit and vegetable products, chaps. 17-19. 4th ed. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Fry, R. M., and R. I. N. Greaves. 1951. The survival of bacteria during and after drying. *J. Hyg.* 49:220-246.

- Goldblith, S. A. 1963. Microbiological considerations in freeze-dehydrated foods. In S. A. Goldblith (ed.), *Exploration in future food-processing techniques*. The M.I.T. Press, Cambridge, Mass.
- Goldblith, S. A., M. Karel, and G. Lusk. 1963. The role of food science and technology in the freeze dehydration of foods. *Food Technol.* 17:139-144, 258-264.
- Gooding, E. G. B. 1962. The storage behaviour of dehydrated foods. *Recent Adv. Food Sci.* 2:22-40.
- Great Britain Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. 1961. *The accelerated freeze-drying (AFD) method of food preservation*. H.M. Stationery Office, London.
- Harper, J. C., and A. L. Tappel. 1957. Freeze-drying of food products. *Adv. Food Res.* 7:172-234.
- Hunziger, O. F. 1949. *Condensed milk and milk powder*. 7th ed. Published by author, La Grange, Ill.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 1980. *Microbial ecology of foods. Volume 1. Factors affecting life and death of microorganisms*. Academic Press, Inc., New York.
- Keey, R. B. 1972. *Drying: principles and practice*. Pergamon Press, Oxford.
- Lazar, M. E., E. J. Bartha, and G. S. Smith. 1963. Dry-blanch-dry method for drying fruit (DBD). *Food Technol.* 17:1200-1202.
- Masters, K. 1973. *Spray drying*. Leonard Hill Books, London.
- May, K. N., and L. E. Kelly. 1965. Fate of bacteria in chicken meat during freeze-dehydration, rehydration, and storage. *Appl. Microbiol.* 13:340-344.
- Rey, Louis. 1966. *Advances in freeze-drying*. Hermann Publishers, Paris.
- Rockwell, W. C., E. Lowe, A. I. Morgan, Jr., R. P. Graham, and L. F. Ginnette. 1962. How foam-mat dryer is made. *Food Eng.* 34(8):86-88.
- Scott, W. J. 1957. Water relations of food spoilage microorganisms. *Adv. Food Res.* 7:83-127.
- Silverman, G. J., and S. A. Goldblith. 1965. The microbiology of freeze-dried foods. *Adv. Appl. Microbiol.* 7:305-334.
- Van Arsdel, W. B., M. J. Copley, and A. I. Morgan (eds.). 1973. *Food dehydration. Volume I. Drying methods and phenomena*. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Vaughn, R. H. 1951. The microbiology of dehydrated vegetables. *Food Res.* 16:429-438.
- Williams-Gardner, A. 1971. *Industrial drying*. CRC Press, Cleveland, Ohio.
- Woodward, H. T. 1963. Freeze-drying without vacuum. *Food Eng.* 35(6):96-97.
- Ziembra, J. V. 1962. Now—drying without heat. *Food Eng.* 35(7):84-85.

Conservación de alimentos mediante aditivos

«Un aditivo alimentario es una sustancia, o mezcla de sustancias, distinta a la materia prima básica del alimento, que se encuentra en éste como resultado de cualquier fase de su producción, de su tratamiento, de su almacenamiento o de su envasado. Este término no incluye la contingencia de su contaminación» (OMS, 1965). Esta definición pone de relieve la única interpretación de todo aditivo alimentario; es decir, que se trata de una sustancia añadida al alimento de forma intencionada. A aquellos aditivos alimentarios que se añaden a los alimentos concretamente para evitar que se alteren o que se contaminen, se les ha dado la denominación de **conservadores químicos**. Las alteraciones experimentadas por los alimentos pueden ser ocasionadas por microorganismos, por enzimas, o por reacciones puramente químicas. La inhibición de la multiplicación y de la actividad de los microorganismos es uno de las principales objetivos del empleo de conservadores químicos. Los conservadores pueden inhibir a los microorganismos por dañar su membrana celular, o por obstaculizar la actividad de sus enzimas o sus mecanismos genéticos. Otros conservadores se pueden emplear como antioxidantes con el fin de impedir la oxidación de las grasas insaturadas, como neutralizadores de la acidez, como estabilizadores con el fin de evitar modificaciones físicas, como agentes para dar consistencia a los alimentos, y como revestimiento o envoltura con el fin de mantener a los alimentos exentos de microorganismos, para evitar que pierdan agua, o con el fin de impedir reacciones microbianas, enzimáticas y químicas indeseables.

Además de los compuestos químicos que se añaden a los alimentos de forma intencionada y de los que se colocan sobre su superficie o se emplean para envolverlos con el fin de contribuir a que se conserven, existen muchos compues-

tos químicos que llegan a los alimentos durante su producción, durante su tratamiento o durante su envasado. Es probable que sean transferidos a los alimentos residuos de pesticidas, de herbicidas y de fungicidas cuando se trata de frutas y hortalizas; residuos de los detergentes utilizados para lavar los alimentos; y residuos de los detergentes y de los desinfectantes empleados en los utensilios y equipo.

Los factores que influyen en la eficacia de los conservadores químicos para destruir los microorganismos o para inhibir tanto su multiplicación como su actividad metabólica, son parecidos a los factores estudiados en el Capítulo 6 con relación a la eficacia del tratamiento térmico: (1) la concentración de la sustancia química, (2) la especie, el número y la edad, y los antecedentes de los microorganismos existentes en el alimento, (3) la temperatura, (4) momento en el cual se añade el conservador al alimento, y (5) las propiedades químicas y físicas del sustrato en el cual se encuentran los microorganismos (grado de humedad, pH, clase y concentración de solutos, tensión superficial, y existencia de coloides y otras sustancias protectoras). Un determinado agente químico puede ser bactericida a una determinada concentración, solamente inhibidor a una concentración más baja, e inoperante a diluciones todavía mayores.

EL CONSERVADOR ANTIMICROBIANO IDEAL

La creciente necesidad de recursos alimenticios exige que las pérdidas de alimentos debidas a su alteración se mantengan en un nivel mínimo. Por desgracia, los países afectados tanto por la escasez de alimentos como por la baja calidad de los que consumen, son países que no cuentan con la tecnología apropiada para conservarlos. En los citados países, el empleo de conservadores químicos causaría un gran impacto.

A pesar de que muchos países cuentan con una tecnología avanzada para la conservación de alimentos, los procedimientos que para ello emplean no se aplican al máximo de sus posibilidades, o no son totalmente eficaces. Los conservadores químicos, tanto si se emplean solos como si se emplean junto con otros sistemas de conservación, tienen por objeto mantener el estado original de los alimentos y evitar las pérdidas excesivas debidas a su alteración. En el aspecto ideal, por consiguiente, un conservador químico debería tener una actividad antimicrobiana de amplio espectro; no debería ser tóxico para las personas ni para los animales; no debería influir en el sabor, ni en la palatabilidad, ni en el aroma del alimento original; no debería ser inactivado por el alimento ni por ninguna sustancia existente en el mismo; no debería estimular la aparición de cepas de microorganismos resistentes; y, en lugar de inhibir a los microorganismos, debería destruirlos. La mayoría de los conservadores que se estudian en el presente Capítulo son inhibidores a concentraciones aceptables, ya que solamente son

letales para los microorganismos, a las concentraciones que normalmente se emplean, los óxidos de etileno y el de propileno, y el pirocarbonato de dietilo. Ni que decir tiene, que el conservador químico ideal todavía no se ha descubierto. De hecho, muchas de las sustancias químicas más universalmente utilizadas son también los conservadores más antiguos. En la actualidad, son pocos los conservadores nuevos, inocuos e «ideales» cuyo empleo se está proponiendo y, muchos de los que se proponen, por una u otra razón, no llegan a alcanzar la categoría de aditivos comercialmente aceptables.

CONSERVADORES QUE SE AÑADEN A LOS ALIMENTOS

La Federal Food, Drug, and Cosmetic Act¹, reformada por la Food Additives Amendment² del año 1958, define al conservador químico como

cualquier sustancia química que, cuando se añade a un alimento, contribuye a evitar o retardar la alteración del mismo; aunque no incluye ni la sal común, ni los azúcares, ni los vinagres, ni las especias, ni los aceites extraídos de las especias, ni las sustancias añadidas por... el humo de la madera.

El Code of Federal Regulations³ del año 1985 (Epígrafe 21, 1985) definió los aditivos alimentarios de la forma siguiente:

todas las sustancias no excluidas por los subtítulos del artículo 201 de la ley, cuyo uso intencionado dé como resultado, o es posible esperar racionalmente que dé como resultado, directa o indirectamente, que se convierta en componente del alimento o que, por el contrario, influya en las propiedades del mismo. Cualquier material que se emplee en la fabricación de los envases está comprendido en esta definición si existe la posibilidad de esperar racionalmente que se convierta en componente, o que influya, directa o indirectamente, en las propiedades del alimento que se encuentra dentro del envase. La «influencia sobre las propiedades del alimento» no incluye factores físicos tales como la protección del contenido de los envases, la conservación de la forma de éstos y la evitación de la pérdida de humedad. Si un determinado componente del envase no pasa desde éste al alimento, no se convierte en componente de este último, en cuyo caso no es un aditivo alimentario. Una sustancia que no se convierte en componente de un determinado alimento, pero que se emplea, pongamos por caso, para preparar un ingrediente de este alimento con el fin de comunicarle un sabor y una textura distintos y otras propiedades diferentes a las típicas de dicho alimento, puede ser un aditivo alimentario.

¹N. del T.: Ley Federal sobre Alimentos, Fármacos y Cosméticos.

²N. del T.: Enmienda relativa a Aditivos Alimentarios.

³N. del T.: Código (o Compilación) de Disposiciones Federales.

Los conservadores antimicrobianos que se añaden a los alimentos se pueden incluir en los grupos siguientes:

- 1 *Aquellos que se añaden a los alimentos sin estar definidos como tales por la ley*: los ácidos orgánicos naturales (láctico, málico, acético, etc.) y sus sales (el ácido acético es un ácido natural), el cloruro sódico, los azúcares, las especias y sus aceites, el humo de la madera, el dióxido de carbono, y el nitrógeno.
- 2 *Sustancias generalmente admitidas como inocuas (GRAS)¹ para ser añadidas a los alimentos*: el ácido propiónico y los propionatos sódico y potásico, el ácido caprílico, el ácido sórbico y los sorbatos potásico, sódico y cálcico, el ácido benzoico y los benzoatos y derivados del ácido benzoico tales como el metilparabeno y el propilparabeno², el diacetato sódico, el dióxido de azufre y los sulfitos, los sulfitos y metabisulfitos sódicos y potásicos, y el nitrito sódico. (Más adelante se expondrán las limitaciones del uso de algunos conservadores incluidos en este grupo).
- 3 *Compuestos químicos considerados aditivos alimentarios*, que incluirían todos los no citados en los dos primeros grupos. Sólo se pueden utilizar cuando se ha comprobado que son inocuos tanto para las personas como para los animales, en cuyo caso se incluyen en el grupo 4.
- 4 *Compuestos químicos cuya inocuidad se ha comprobado y que están autorizados por la Food and Drug Administration*.

Los conservadores que se añaden a los alimentos para inhibir o para destruir los microorganismos se pueden clasificar según otros criterios, por ejemplo teniendo en cuenta su composición química, su modo de acción, su especificidad, su eficacia y su legalidad. Algunos, por ejemplo el azúcar, deben su eficacia a su acción física; otros, por ejemplo el benzoato sódico, a su actividad química; y otros, por ejemplo, el cloruro sódico, como consecuencia de la combinación de ambos modos de acción. Algunos conservadores que se añaden a los alimentos suelen comportarse más como antisépticos que como bactericidas, mientras que otros sólo se emplean para tratar la superficie externa de los alimentos y es posible que destruyan los microorganismos o que los inhiban. Otros se han incorporado al hielo que se emplea para refrigerar alimentos tales como el pescado. Los conservadores pueden tener una clara especificidad frente a los microorganismos; por ejemplo, pueden ser eficaces frente a los mohos o frente a las levaduras y ser menos eficaces frente a las bacterias, o viceversa, y pueden ejercer su acción conservadora frente a grupos o especies concretos de bacterias o de otros microorganismos.

¹N. del T.: GRAS = generally recognized as safe.

²N. del T.: El metilparabeno y el propilparabeno son los ésteres metílico y propílico, respectivamente, del ácido *p*-hidroxibenzoico.

Tabla 9.1. Utilización de aditivos antimicrobianos en varios alimentos*.

Tipo de alimento	Acido						Epóxidos		
	benzoico y benzoato sódico	Metil- y propil-paraben	Sorbatos	Propionatos	Sulfitos	Acetatos y diacetatos	Nitritos y nitratos	Oxido de etileno	Oxido de propileno
Bebidas carbonicas	+	+	+		+				
Jarabes	+	+							
Bebidas de frutas	+	+	+						
Zamos de frutas	+	+	+		+				
Vino y cerveza									
Queso y productos derivados			+	+					
Margarina	+		+						
Corteza de empanadas y pasteles		+	+	+		+			
Rellenos de empanadas	+	+	+	+					
Embutidos		+	+				+		
Pescado conservado			+						
Ensaladas, salsas para ensaladas	+	+	+			+			
Frutas y hortalizas desecadas		+	+						
Frutas y hortalizas frescas					+				
Encurtidos, entremeses, aceitunas y sauerkraut	+	+	+						
Espicias					+			+	
Almidón									+

*Las concentraciones máximas permisibles varían.
Fuente: Resumido del Handbook of Food Additives, T. E. Furia. The Chemical Rubber, Co., 1972. Utilizado con licencia de The Chemical Rubber Co.

Tabla 9.2. Concentraciones máximas de agentes antimicrobianas permitidas en los alimentos.

<i>Conservador</i>	<i>Concentración permitida</i>
Acido benzoico	0,1%, incluido en los métodos correctos de fabricación (GMPs)
Metilparabeno	0,1%, incluido en los GMPs
Propilparabeno	0,1%, incluido en los GMPs
Etilparabeno	No autorizado
Nitrato sódico	500 ppm
Nitrito sódico	200 ppm
Sorbatos	Incluidos en los GMPs
Acetatos (ác. acético)	Incluidos en los GMPs con concentraciones desde el 0,25 al 9,0%
Oxido de propileno (excepto cacahuetes)	300 p.p.m. en el cacao, gomas de mascar, especias, frutos secos
Oxido de etileno	Sus residuos no deben superar las 50 p.p.m.
Sulfitos	Incluidos en los GMPs
Natamicina	De 200 a 300 p.p.m. en forma de baño, aerosol, o solución

Fuente: Tomado del Code of Federal Regulations, Título 21, varios subtítulos, recopilado en Enero de 1986.

En la Tabla 9.1 se ofrece una relación de la mayoría de los aditivos antimicrobianos más usuales que se emplean en los alimentos. En la Tabla 9.2 se indica la concentración tolerable en la actualidad de algunos conservadores.

Acidos orgánicos y sus sales

Los ácidos láctico, acético, propiónico, y cítrico se pueden añadir a los alimentos u originarse en los mismos. Su producción en los propios alimentos se tratará en un epígrafe posterior. El ácido cítrico se emplea en los jarabes, en las bebidas, en las mermeladas, y en las gelatinas, como sustitutivo de los sabores a frutas y como conservador. Los ácidos láctico y acético se añaden a distintos tipos de salmuera, a las aceitunas verdes, etc.

Propionatos. Los propionatos sódico y cálcico son muy utilizados para impedir el crecimiento de mohos y evitar la aparición de viscosidad en los productos de panadería, así como para inhibir el crecimiento de mohos en algunos quesos y en las pastas de queso fundido para extender. Experimentalmente, o a escala limitada, se han empleado como conservadores en la mantequilla, en las mermeladas, en las jaleas, en los higos, en las rodajas de manzana, y en el extracto de malta.

Son eficaces frente a los mohos, aunque poseen un escaso poder inhibidor de las levaduras y de las bacterias. Su eficacia disminuye conforme aumenta el pH, con un límite superior de eficacia óptima alrededor de los valores comprendidos entre 5 y 6, que varía en función del pH del alimento.

Parece ser que son los conservadores ideales para el pan y productos de panadería. A pesar de que el calor de la cocción destruye la mayoría de los mohos, las rebanadas de pan se pueden contaminar al cortarlas o al envolverlas, y de aquí que sea necesario añadirle propionatos. Como quiera que tienen un escaso poder inhibidor de las levaduras, se pueden añadir a la masa de los productos de panadería en cuya fabricación se emplea levadura sin que inhiban su fermentación. El ácido propiónico es un ácido graso de cadena corta ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$) y, lo mismo que otros ácidos grasos, tal vez actúe sobre la permeabilidad de la membrana celular de los microorganismos, aunque no se conoce de forma exacta su modo de acción como fungistático. El ácido propiónico se encuentra de forma natural en el queso suizo, como conservador que se origina en el propio queso en el que alcanza una concentración que puede llegar a ser incluso del 1 por cien.

‡ **Benzoatos.** La sal sódica del ácido benzoico se ha utilizado mucho en los alimentos como agente antimicrobiano. Se ha incorporado a las mermeladas, a las jaleas, a la margarina, a las bebidas carbónicas, a las macedonias de frutas, a los encurtidos, a los entremeses, a los zumos de frutas, etc. El benzoato sódico es relativamente inactivo a valores de pH próximos a la neutralidad, aumentando su actividad conforme aumenta la acidez, lo cual indica que el agente eficaz es el ácido no disociado. El pH al cual el benzoato sódico tiene mayor eficacia (2,5 a 4,0) es de por sí suficiente para inhibir el crecimiento de la mayoría de las bacterias, aunque algunas especies de levaduras y de mohos (pero no todas) son inhibidas por el benzoato a valores de pH que, en ausencia del benzoato sódico, permitirían su crecimiento.]

Dos ésteres del ácido *p*-hidroxibenzoico, el metilparabeno¹ y el propilparabeno² también se emplean mucho en los alimentos, y, con menor frecuencia, los ésteres butílico y propílico. Estos compuestos químicos tienen una eficacia parecida a la del ácido benzoico. Tienen la ventaja de que tienden a ser más eficaces a valores de pH más elevados que aquéllos a los que son eficaces los demás benzoatos, ya que la esterificación del grupo carboxilo significa que la molécula se mantiene sin disociar a una escala más amplia de valores de pH; como quiera que es la molécula no disociada la que ejerce la inhibición de los microorganismos, de aquí que los ésteres sean eficaces a valores de pH más elevados.

El mecanismo de acción no se conoce del todo; se sabe, no obstante, que la eficacia, tanto del ácido benzoico como de sus ésteres, aumenta conforme aumenta la longitud de la cadena del radical éster.

Sorbatos. El ácido sórbico, lo mismo que sus sales cálcica, sódica y potásica, se emplean directamente en los alimentos como aditivos antimicrobianos y en las formas de aerosol, solución, o como revestimiento de los materiales de los

¹N. del T.: Metil *p*-hidroxibenzoato.

²N. del T.: Propil *p*-hidroxibenzoato.

envases de alimentos. Se utiliza mucho como conservador en los quesos, en los productos derivados del queso, en los productos de panadería, en las bebidas, en los jarabes, en los zumos de frutas, en las jaleas, en las mermeladas, en las macedonias de frutas, en las frutas desecadas, en los encurtidos y en la margarina. Se sabe que el ácido sórbico y sus sales inhiben a las levaduras y a los mohos, aunque son menos eficaces frente a las bacterias. Son más eficaces a valores bajos de pH, empleándose con mayor frecuencia en alimentos cuyo pH tiene un valor próximo a 6,5. A valores de pH superiores a 4,0, estos compuestos químicos son más eficaces que el benzoato sódico.

Acetatos. Se ha recomendado emplear como conservadores derivados del ácido acético, por ejemplo, el ácido monocloroacético, el ácido dehidroacético y el diacetato sódico, aunque no todos ellos están autorizados por la Food and Drug Administration. El ácido dehidroacético se ha empleado para impregnar las envolturas de los quesos con el fin de inhibir el crecimiento de los mohos y como conservador provisional del calabacín. El ácido acético en forma de vinagre, se emplea como conservador en la mahonesa, en los encurtidos, en la salsa de tomate, en los embutidos con encurtidos, y en las manos de cerdo. El ácido acético es más eficaz frente a las levaduras y frente a las bacterias que frente a los mohos, aumentando su eficacia como conservador conforme desciende el pH, circunstancia que favorecería la existencia de ácido no disociado.

El diacetato sódico se ha empleado en las pastas de queso fundido para extender y en los jarabes de malta, y también para tratar las envolturas de la mantequilla.

Nitritos y nitratos

En la conservación de las carnes se han empleado soluciones y mezclas de estas sales. Los nitritos se descomponen para dar óxido nitroso, el cual, al reaccionar con los hemopigmentos de la carne da lugar a nitrosomioglobina, comunicando de este modo un color rojo permanente a las carnes. Los nitratos probablemente sólo desempeñen el papel de reservorio de nitritos, y de aquí que se empleen cada vez menos. Los nitritos son capaces de reaccionar con aminas secundarias y terciarias para dar nitrosaminas, compuestos conocidos por sus propiedades cancerígenas. La valoración de la inocuidad de los nitritos en los alimentos ha sido revisada (Anónimo, 1981, 1982). El inconveniente de la posible acción cancerígena de las nitrosaminas puede ser máximo en el bacon, y de aquí que en un futuro lejano el empleo de los nitritos en los alimentos probablemente será polémico. Se suelen añadir a los alimentos bajo las formas de nitrito sódico, nitrito potásico, nitrato sódico y nitrato potásico.

Investigaciones recientes han puesto de relieve la propiedad inhibidora de los nitritos hacia *Clostridium botulinum* en los productos cárnicos, sobre todo en el bacon y en los jamones enlatados o tratados. Los nitratos ejercen una acción

limitada sobre un reducido número de microorganismos, razón por la cual no se deben considerar buenos conservadores químicos,

Dióxido de azufre y sulfitos

Los egipcios y los romanos quemaban azufre para obtener dióxido de azufre como medio de desinfección del equipo que empleaban en la elaboración del vino y de los toneles en los que lo almacenaban. En la actualidad, el dióxido de azufre y los sulfitos se emplean en la industria vinícola para desinfectar el equipo y para reducir la flora normal del mosto de uva. En solución acuosa, el dióxido de azufre y varios sulfitos, entre los que se incluyen el sulfito sódico, el sulfito potásico, el bisulfito sódico, el bisulfito potásico, el metabisulfito sódico, y el metabisulfito potásico, producen ácido sulfuroso, que es el compuesto químico activo como antimicrobiano. La eficacia del ácido sulfuroso aumenta a valores bajos del pH. Para explicar el modo de acción del ácido sulfuroso sobre las células microbianas, se han propuesto varios mecanismos, que incluyen la reducción de los enlaces disulfuro, la formación de compuestos de carbonilo, la reacción con los grupos cetona, y la inhibición de los mecanismos respiratorios.

Los humos de la combustión del azufre se emplean para tratar la mayoría de las frutas deshidratadas ligeramente coloreadas, mientras que las hortalizas deshidratadas, antes de desecarlas, se tratan exponiéndolas a un aerosol de bisulfitos y sulfitos neutros. El dióxido de azufre también se ha empleado en los jarabes y en los zumos de frutas y, naturalmente, en la elaboración del vino. En algunos países está autorizado el empleo de los sulfitos en las carnes y en el pescado.

Además de utilizarse por su acción antimicrobiana, los sulfitos, también se emplean en algunos alimentos para impedir las modificaciones, tanto de origen enzimático como de origen no enzimático, y la modificación de su color.

Oxido de etileno y óxido de propileno

A diferencia de los demás compuestos químicos estudiados, estos dos gases son esterilizantes. El óxido de etileno destruye todos los microorganismos; el óxido de propileno, aunque destruye gran cantidad de microorganismos, no es tan eficaz. Se cree que actúan como potentes agentes alquilantes que rompen los enlaces hidrógeno débiles. Se han utilizado principalmente para esterilizar los materiales que se emplean en el envasado de alimentos, para fumigar almacenes, y en la «esterilización fría» de plásticos, de productos químicos, de productos farmacéuticos, de jeringas, y de material hospitalario. También se han empleado con buenos resultados en las frutas desecadas, en los huevos desecados, en la gelatina, en los cereales, en la levadura desecada, y en las especias.

La FDA sólo permite usar el óxido de etileno en las especias y en los demás condimentos naturales tratados, excepto en las mezclas que contienen sal añadi-

da. El empleo del óxido de propileno sólo está permitido para fumigar los envases de las ciruelas desecadas o los de las frutas glaseadas y para fumigar los cocos, los chicles, las especias, el almidón, y las nueces sin cáscara que han sido sometidas a otros tratamientos (pero no está permitido utilizarlo en los cacahuetes).

Azúcar y sal

Estas sustancias reducen la a_w y, de este modo, ejercen una acción perjudicial sobre los microorganismos. El cloruro sódico se emplea en las salmueras y en las soluciones conservadoras, o se aplica directamente a los alimentos. Se puede añadir la cantidad suficiente para retardar o impedir la multiplicación de los microorganismos, o sólo la cantidad suficiente que permita que en el alimento tenga lugar una fermentación ácida. Se ha indicado que el efecto conservador de la sal se debe a los siguientes mecanismos: (1) Produce una elevada presión osmótica y, por consiguiente, la plasmólisis de las células microbianas, siendo distinto para cada microorganismo el porcentaje de sal necesario para inhibir su multiplicación o para dañar sus células, (2) deshidrata los alimentos por extraer y fijar su humedad, de la misma forma que deshidrata las células microbianas, (3) se ioniza para dar el ion cloro, que es perjudicial para los microorganismos, (4) reduce la solubilidad del oxígeno en la humedad, (5) sensibiliza a las células microbianas frente al dióxido de carbono, y (6) obstaculiza la actividad de los enzimas proteolíticos. La eficacia del NaCl es directamente proporcional a su concentración y a la temperatura.

Los azúcares, como por ejemplo la glucosa y la sacarosa, deben su eficacia como conservadores a su propiedad para convertir el agua de los alimentos en agua no disponible para los microorganismos y a su influencia sobre la presión osmótica. La leche condensada azucarada, las frutas en almíbar, las jaleas y los bombones, son ejemplos de alimentos conservados mediante concentraciones elevadas de azúcar.

Alcohol

El etanol, agente que coagula y desnaturaliza las proteínas de las células, es más germicida a concentraciones comprendidas entre el 70 y el 95 por cien. Los extractos de saborizantes, por ejemplo, los extractos de vainilla y de limón, se conservan gracias a su contenido alcohólico. El porcentaje de alcohol de la cerveza, de la cerveza inglesa*, y del vino no reforzado no es lo suficientemente elevado para evitar que los microorganismos los alteren, aunque limita los tipos

*N. del T.: La cerveza inglesa o «ale» tiene un grado alcohólico inferior al de las demás cervezas de Europa.

que son capaces de multiplicarse en estos alimentos. Tanto los licores como los licores destilados, suelen contener la cantidad suficiente de alcohol que garantiza que se libren de la invasión por microorganismos. El metanol es tóxico y, por lo tanto, no se debe añadir a los alimentos; las trazas que el ahumado añade a los alimentos no son suficientes para que resulten perjudiciales. El glicerol es antiséptico a elevadas concentraciones debido a su efecto de deshidratación, si bien carece de importancia como conservador de alimentos. El propilenglicol se ha empleado como inhibidor de los mohos y, en forma de aerosol, para destruir microorganismos transmitidos por el aire.

Formaldehído

La adición de formaldehído a los alimentos no está permitida, excepto como constituyente secundario del humo de madera, aunque este compuesto es eficaz frente a los mohos, frente a las bacterias y frente a los virus, pudiéndose emplear en aquellos casos en los que su carácter tóxico y sus propiedades irritantes no representen un inconveniente. Por lo tanto, es útil para tratar paredes, estanterías, suelos, etc., con el fin de eliminar los mohos y sus esporas. El paraformaldehído se puede emplear para controlar la multiplicación de las bacterias y de los hongos en los orificios que se practican en el tronco de los meples para obtener su savia. El formaldehído probablemente se combina con los grupos amino libres de las proteínas del protoplasma de las células microbianas, produce lesiones en el núcleo y coagula las proteínas.

Humo de madera

El ahumado de los alimentos suele tener dos finalidades principales: añadirles sabores agradables y conseguir su conservación. No obstante, puede producir otros efectos deseables, por ejemplo, en las carnes, mejora el color, tanto el de la parte interna como el del acabado, o «brillo», de la superficie externa, y ejerce una acción de ablandamiento. El tratamiento del ahumado favorece la conservación de los alimentos por impregnar la parte próxima a su superficie con los conservadores químicos contenidos en el humo, tanto mediante la acción conjunta del calor y la de los citados conservadores durante su exposición al humo, como mediante el efecto de desecación que produce, sobre todo en su parte superficial. El humo se obtiene generalmente quemando madera, preferentemente maderas duras como, por ejemplo, la de nogal americano, aunque también se puede obtener quemando el zuro de las mazorcas de maíz u otros materiales. Otras maderas que se emplean son, la de manzano, la de roble, la de arce, la de haya, la de abedul, la de nogal, y la de caoba. Para obtener un humo espeso se añade serrín al fuego. La temperatura y la humedad del humo se gradúan para que sean las convenientes al alimento que se está ahumando, dependiendo del tipo de alimento la duración del tratamiento. En el ahumado de carnes, la temperatura del humo oscila entre

43 y 71 °C, y el período de ahumado tiene una duración que varía desde unas pocas horas a varios días.

El humo de madera contiene una gran cantidad de compuestos volátiles que pueden tener acción bacteriostática y bactericida. Se cree que el formaldehído es el más eficaz de los citados compuestos, siguiéndole en importancia los cresoles y los fenoles. Otros compuestos existentes en el humo son: ácidos alifáticos con distinto número de átomos de carbono, que van desde el ácido fórmico al ácido caproico; alcoholes primarios y secundarios, cetonas, y acetaldehído y otros aldehídos; ceras; resinas; guayacol y sus isómeros metilguayacol y etilguayacol; y catecol, metilcatecol, y pirogalol y su éster metílico. A estos compuestos a veces se les agrupa bajo la denominación de ácido piroleñoso. Como cabría suponer, frente a las células vegetativas, el humo de madera es más eficaz que frente a las esporas bacterianas, aumentando la velocidad de su acción germicida conforme aumenta su densidad y su temperatura, y la citada velocidad es distinta según la clase de madera que se emplee. Se ha señalado que el efecto residual del humo en los alimentos es mayor frente a las bacterias que frente a los mohos. La concentración de sustancias micostáticas procedentes del humo de madera, necesarias para evitar el crecimiento de los mohos en los alimentos, aumenta conforme aumenta la humedad de la atmósfera del local donde se almacenan una vez ahumados.

La aplicación en la superficie externa de los alimentos del denominado «humo líquido», solución de compuestos químicos parecidos a los que contiene el humo de madera, tiene escasa o ninguna acción conservadora, aunque contribuye a darles sabor.

Especies y demás condimentos

Las especies y los demás condimentos carecen de una acción bacteriostática definida a las concentraciones que habitualmente se emplean, aunque pueden cooperar con otros agentes para impedir la multiplicación de los microorganismos en los alimentos. Los distintos lotes de especias tienen una eficacia de distinto grado, el cual depende de su procedencia, de su frescura, y del hecho de que hayan estado almacenadas enteras o finamente molidas. El efecto inhibitorio de las especias es diferente para cada una de ellas y para cada microorganismo frente al cual se ensayan. La harina de mostaza y el aceite volátil de mostaza, por ejemplo, son muy eficaces frente a *Saccharomyces cerevisiae*, aunque, frente a la mayoría de las bacterias, no son tan eficaces como la canela y el clavo. Los aceites esenciales de las distintas especias tienen un poder inhibitorio mayor que las correspondientes especias molidas.

La canela y el clavo, que contienen aldehído cinámico y eugenol, respectivamente, suelen tener una acción bactericida mayor que las demás especias. La pimienta molida y el calicanto* tienen menor poder inhibitorio, mientras que la

*N. del T.: Fruto del árbol *Eugenia pimenta*; también se conoce con el nombre de cimonanto.

mostaza, la macis, la nuez moscada, y el jengibre, todavía tienen menor poder inhibitor. El tomillo, las hojas de laurel, la mejorana, la ajedrea, el romero, la pimienta negra y otras especias, solamente tienen un débil poder inhibitor frente a la mayoría de los microorganismos e incluso pueden estimular el crecimiento de algunos, como por ejemplo el de las levaduras y el de los mohos. Las concentraciones medianamente elevadas de las especias más eficaces permiten el crecimiento del micelio de algunos mohos, pero inhiben la formación de esporas asexuales. De todos los aceites esenciales ensayados, el más eficaz frente a las levaduras es el aceite volátil de mostaza; los aceites esenciales de canela y de clavo son medianamente eficaces, mientras que los aceites de tomillo y de hojas de laurel son menos eficaces. A no ser que las especias hayan sido tratadas con el fin de reducir su carga microbiana, es posible que añadan un elevado número y especies perjudiciales de microorganismos a los alimentos de cuya composición entran a formar parte.

Otras sustancias de origen vegetal que se utilizan para condimentar los alimentos, como por ejemplo el rábano picante, el ajo, y la cebolla, pueden ser bacteriostáticas o germicidas. Se ha comprobado que los extractos de estas plantas, y también los extractos de la col y del colinabo inhiben a *Bacillus subtilis* y a *Escherichia coli*. Se supone que el principio activo de la cebolla y del ajo es la acroleína, y que el del rábano picante es el tiocianato de butilo. Por exposición al aire, estos compuestos volátiles desaparecen del condimento, con la consiguiente pérdida de sus propiedades bacteriostáticas.

Otros conservadores

Los halógenos se añaden al agua que se emplea para lavar los alimentos o el equipo, al agua que se emplea en la refrigeración, y al agua que se añade a algunos alimentos, por ejemplo, al agua que se emplea para lavar la mantequilla; el agua de bebida se puede clorar mediante la adición directa de cloro, o para ello se pueden emplear hipocloritos o cloraminas. Las envolturas impregnadas de yodo se han empleado para prolongar el tiempo de conservación de las frutas. Los yodóforos, que son combinación del yodo con agentes humectantes no iónicos y un ácido, se están empleando en la desinfección de los utensilios de las lecherías. Los halógenos destruyen los microorganismos por oxidación, por dañar su membrana celular, o por unirse directamente a sus proteínas celulares.

Los hipocloritos, normalmente se emplean el cálcico y el sódico, liberan ácido hipocloroso, potente agente oxidante, y de aquí que sean unos eficaces agentes germicidas; su eficacia disminuye en presencia de una importante cantidad de materia orgánica. Los hipocloritos se emplean para tratar el agua que utilizan las industrias alimentarias como agua de bebida, para tratar la que se utiliza tanto en los tratamientos térmicos como en la refrigeración, y para tratar la que se utiliza para lavar el equipo de la industria. Se han incorporado al hielo de refrigeración del pescado durante su transporte y al agua que se emplea para lavar la superficie externa de las frutas y hortalizas.

Los microorganismos resultan dañados por oxidación o por cloración directa de las proteínas celulares.

El ácido fosfórico se emplea en algunas bebidas refrescantes, por ejemplo, en las colas.

El agente oxidante peróxido de hidrógeno se ha empleado como conservador de alimentos, generalmente junto con la aplicación de calor. Un procedimiento que se utiliza para pasteurizar la leche destinada a la fabricación de queso consiste en añadirle H_2O_2 y emplear una temperatura de pasteurización relativamente baja. La catalasa descompone el exceso de peróxido de hidrógeno. Cuando se trata el azúcar combinando la aplicación de calor con la adición de H_2O_2 se destruyen los microorganismos termófilos. En los alimentos se emplean otros peróxidos, pero no para inhibir la multiplicación de los microorganismos.

En el Capítulo 7 se mencionó el almacenamiento de los alimentos en una atmósfera de gas, combinada con la conservación por refrigeración, procedimiento de conservación que se estudiará más adelante en los Capítulos que tratan de la conservación de alimentos concretos. El gas que se emplea con mayor frecuencia en combinación con la refrigeración es el dióxido de carbono. El empleo de oxígeno, o de aire a presión, se combina con la refrigeración, procedimiento que se emplea, por ejemplo, en el tratamiento de la leche mediante el sistema de Hofius. El nitrógeno se emplea para crear una atmósfera inerte alrededor de los alimentos que no deben exponerse al aire atmosférico.

En algunos países todavía se emplean como conservadores el ácido bórico y los boratos, pero en los Estados Unidos está prohibido emplearlos. Algunos alimentos, por ejemplo, las carnes, se han espolvoreado con ácido bórico en polvo, pero es un agente antiséptico muy débil y se cree que no es saludable. El bórax (tetraborato sódico) se ha empleado para lavar hortalizas y frutas enteras, como por ejemplo las naranjas.

Otros grupos de agentes químicos

En otros epígrafes se han citado la mayoría de los agentes oxidantes que se emplean para conservar los alimentos. Estos agentes incluyen los peróxidos, el bromo, el cloro, el yodo, los hipocloritos, las cloraminas, y el ozono. Los agentes oxidantes que se emplean para blanquear la harina, como son los óxidos de nitrógeno, el cloro, el cloruro de nitrosilo, y el peróxido de benzoilo, pueden ser bacteriostáticos o incluso bactericidas, aunque no existe motivo para añadirlos a la harina.

En el Capítulo 27 se estudiará el empleo de agentes oxidantes para lavar y desinfectar el equipo. La mayoría de estos compuestos químicos son antisépticos, y algunos son germicidas a las concentraciones con que se emplean, aunque su función principal en la conservación de alimentos consiste en reducir su

contaminación con microorganismos procedentes del equipo con el cual entran en contacto aquéllos. Para que estos agentes químicos tuviesen cierta importancia como conservadores, en el alimento al cual se añaden no debería existir una reserva suficiente de residuos de los mismos. Algunos de estos agentes químicos se emplean tanto para eliminar la suciedad como para eliminar o destruir los microorganismos existentes en las superficies externas de algunos alimentos, por ejemplo de las frutas, de las hortalizas y de los huevos, aunque ninguno de estos detergentes o desinfectantes se debe añadir a los alimentos como conservadores.

Ya se ha indicado anteriormente que los conservadores químicos se pueden agrupar teniendo en cuenta su especificidad frente a determinados microorganismos. Se ha prestado gran atención a los compuestos químicos que son eficaces frente a los mohos y hongos emparentados. Los micostáticos citados anteriormente incluyen el ácido propiónico y los propionatos, el ácido caprílico, el ácido acético, el ácido dehidroacético, el ácido monocloroacético, el ácido sórbico y los sorbatos, y el propilenglicol. De todos ellos, solamente los propionatos y los sorbatos se han añadido a los alimentos en cantidades relativamente elevadas. Los conservadores químicos frente a los mohos se han aplicado en forma líquida en la superficie externa de los alimentos, o se han empleado en forma de vapor para tratar la atmósfera de su entorno. El propilenglicol, el dióxido de carbono, el bromuro de metilo, y varios derivados del fenol, son ejemplos de agentes químicos micostáticos que se han ensayado en forma de vapor o de gas para tratar la atmósfera que rodea a los alimentos. Los antibióticos antifúngicos incluyen la griseofulvina, la pimarcina, la fulcina, la actidiona, la rimocidina, y la nistatina. Los antimicóticos autorizados en los materiales que se emplean para envasar los alimentos (en determinadas condiciones), son los propionatos sódico y cálcico, el benzoato sódico, el ácido sórbico y los sorbatos, y los ésteres metílico y propílico del ácido para-hidroxibenzoico. El ácido caprílico se puede emplear en las envolturas de los quesos. El yodo, los sulfitos, el *o*-fenilfenol o el *o*-fenilfenato sódico, el difenilo, la dimetilolurea, y otras muchas sustancias, también se han recomendado para impregnar las envolturas de los alimentos. Se ha recomendado el empleo de numerosos agentes químicos (la lista de estos agentes es demasiado larga para citarlos todos aquí) con el fin de tratar la superficie externa de las frutas, de las hortalizas, de los huevos, del queso, de las carnes y del pescado. Estos compuestos pueden ser desde compuestos inorgánicos sencillos, como por ejemplo los nitritos y el dióxido de azufre (ácido sulfuroso), pasando por ácidos orgánicos (crotonico, sórbico, levulínico, etc.) y ésteres de ácidos orgánicos (p. ej., los ésteres del ácido vanílico o benzoico), hasta compuestos fenólicos complejos. El difenilo y el *o*-fenilfenato sódico en combinación con el amoníaco, por ejemplo, se han empleado para reducir las alteraciones fúngicas de los frutos cítricos. La mayoría de estos compuestos no se pueden emplear sin la autorización de la Food and Drug Administration.

Aditivos del agua de las calderas

Las sustancias que se añaden al agua de las calderas que han sido autorizadas por la Food and Drug Administration, se deben emplear para tratar el vapor de agua que entra en contacto con los alimentos (Anónimo, 1960).

Antibióticos

En los alimentos crudos, sobre todo en los proteicos, como por ejemplo las carnes, el pescado, y las canales de las aves de corral, se han ensayado la mayoría de los antibióticos mejor conocidos con el fin de intentar prolongar la duración de su almacenamiento a temperaturas de refrigeración. Se ha comprobado que la aureomicina (clortetraciclina) aventaja a los demás antibióticos ensayados por su amplio espectro de acción. La terramicina (oxitetraciclina) resulta casi tan útil como la aureomicina para prolongar la duración de la conservación de los alimentos. Se dice que en algunos casos también se han obtenido buenos resultados con el empleo de la cloromicetina (cloranfenicol). Estos tres antibióticos inhiben la síntesis proteica de las células microbianas. Cuando se emplean con la citada finalidad, la estreptomocina, la neomicina, la polimixina, la nisina, la subtilina, la bacitracina, y otros antibióticos no dan resultados satisfactorios, mientras que la penicilina se emplea poco. En Europa se ha empleado la nisina para eliminar los microorganismos anaerobios en el queso y productos derivados del queso. La natamicina es eficaz frente a las levaduras y frente a los mohos; se emplea, o se ensaya, en el zumo de naranja, en las frutas frescas, en los embutidos, y en el queso.

Experimentalmente, se ha combinado el empleo de antibióticos con el empleo del calor para intentar reducir la intensidad del tratamiento térmico necesario para conseguir la conservación de los alimentos enlatados de acidez baja y media. En la mayoría de las pruebas experimentales se han empleado la subtilina y la nisina, pertenecientes al grupo de los antibióticos peptídicos, y la tilosina. Se ha propuesto que los alimentos enlatados se sometan a cocción botulínica, es decir, a un tratamiento térmico de intensidad suficiente para inactivar todas las esporas de *Clostridium botulinum*, combinándolo con la adición de la cantidad suficiente de antibiótico con el fin de inhibir tanto la germinación de las esporas supervivientes de las bacterias termófilas dotadas de mayor grado de termorresistencia capaces de alterar el alimento, como la posterior multiplicación de las formas vegetativas resultantes de la citada germinación y la de los anaerobios causantes de putrefacción. Se cree que la subtilina no influye en la termorresistencia de las esporas bacterianas, pero sí inhibe la multiplicación en el interior de la lata de las células dañadas por el calor, mientras que, al parecer, la nisina inhibe la germinación de las esporas por impedir la lisis de su envoltura externa. Es posible que la tilosina inhiba la multiplicación de las células microbianas.

Si bien los bacteriólogos especialistas en alimentos tienen en cuenta las ventajas que reporta la conservación de los alimentos frescos con un antibiótico atóxico, o combinando el empleo de uno de estos antibióticos con un tratamiento térmico de poca intensidad en caso de tratarse de alimentos enlatados, ellos mismos se cuestionan el empleo de antibióticos como conservadores. Todos ellos coinciden en que el empleo de antibióticos nunca debe ser el sustitutivo de una higiene esmerada. Se sabe que el efecto producido por un determinado antibiótico sobre los microorganismos depende de la especie e incluso de la cepa de éstos; por consiguiente, es posible que el antibiótico sea eficaz frente a algunos microorganismos causantes de alteraciones en los alimentos, pero no frente a otros, o frente a parte de la población de un cultivo, pero no frente a todos los microorganismos existentes en el cultivo. Se sabe que los microorganismos terminan por adaptarse a concentraciones cada vez más elevadas de un determinado antibiótico, de forma que es posible que aparezcan cepas nuevas, resistentes concretamente a este antibiótico. También existe la posibilidad de que otros microorganismos, que en la actualidad carecen de importancia como agentes capaces de alterar los alimentos, pero resistentes al antibiótico en cuestión, puedan adquirir nueva importancia en las alteraciones que experimentan los alimentos. Además, en tal caso, en las personas que consumen alimentos tratados con el antibiótico, éste puede producir efectos tales como la sensibilización al mismo, la modificación de su flora intestinal, y la aparición en su organismo de cepas resistentes a aquel antibiótico, aunque probablemente estos efectos quedarían reducidos a su mínima expresión gracias a las concentraciones de antibióticos extraordinariamente bajas que se emplean en los alimentos si se comparan con las dosis que se emplean en terapéutica. Se ha recomendado que los antibióticos que se elijan para emplearlos como conservadores de alimentos no sean los mismos que los que se están empleando para tratar las enfermedades del hombre. Los fabricantes de conservas son conscientes de que, cuando se emplean para tratar los alimentos enlatados, el antibiótico más el tratamiento térmico deben destruir todas las esporas de *Clostridium botulinum* y dejar un margen de seguridad, y, de que, preferentemente, este tratamiento debe destruir la totalidad de los microorganismos responsables de la alteración de los alimentos y la totalidad de sus esporas. Si las esporas resisten el tratamiento, en el alimento debe existir la suficiente concentración de antibiótico que impida la germinación de las esporas y la posterior multiplicación, o crecimiento vegetativo, de las células originadas a partir de las esporas. Esto supone que en los alimentos enlatados debe existir una concentración bacteriostática o esporostática de antibiótico durante todo el tiempo que permanecen almacenados.

Se ha intentado comprobar el efecto bactericida de los extractos de algunas plantas comestibles, por ejemplo, de los extractos de las plantas de zanahoria, de las plantas de judías, de las plantas de tomate, y de las plantas de apio, empleándolos en combinación con un tratamiento térmico de intensidad menor que la del tratamiento térmico habitual, para destruir bacterias y esporas diversas. De esta forma, el empleo de los extractos de plantas soslayaría la mayoría de los inconvenientes que se acaban de exponer.

La Food and Drug Administration ha autorizado el tratamiento por inmersión en un baño con una solución de clortetraciclina o de oxitetraciclina, para conservar las canales de las aves de corral, fijando como nivel de tolerancia para estos antibióticos la concentración de 7 p.p.m. en las canales de las aves evisceradas no cocinadas. Parece ser que se ha concedido esta autorización porque se aportaron pruebas que demostraron (1) que el empleo de estos antibióticos proporciona mayor protección al consumidor, (2) que este procedimiento de conservación no es un sustitutivo de las medidas higiénicas básicas, y (3) que durante la cocción de la carne de ave, el antibiótico se destruye dejando en la misma productos residuales que no son perjudiciales. La FDA ha anulado esta autorización para emplear los citados antibióticos. En la actualidad está permitido emplear estas tetraciclinas, a la concentración de 5 p.p.m., solamente en el pescado fresco, en las veneras¹ sin concha, y en los camarones² sin pelar. El antibiótico se puede aplicar en forma de baño en el que se sumergen los citados alimentos en la solución de tetraciclinas, o añadiéndolo al agua con la cual se fabrica el hielo que se emplea para refrigerarlos.

CONSERVADORES QUE SE ORIGINAN EN LOS PROPIOS ALIMENTOS

Las fermentaciones que tienen lugar en los alimentos pueden resultar útiles para una de las siguientes finalidades o para ambas: (1) para producir sabores y propiedades físicas deseables y que antes no tenían, y, por consiguiente, para producir un alimento diferente, y (2) para favorecer la conservación de los alimentos. La importancia relativa de ambas finalidades es distinta en cada alimento y es difícil valorarla. Indudablemente, las primeras leches fermentadas y el sauerkraut fueron consecuencia de hallazgos empíricos que resultaron útiles, principalmente, para guardar almacenadas durante un tiempo prolongado la leche y la col, aunque, posteriormente, el paladar del hombre se inclinó hacia el consumo de alimentos fermentados, y de aquí que en la actualidad se elaboren tanto por su sabor especial como porque se conservan fácilmente.

Los conservadores que se originan en los propios alimentos como consecuencia de la actividad de microorganismos, son, en su mayor parte, ácidos (principalmente ácido láctico) y alcohol. El efecto conservador de estas sustancias se complementa casi siempre por uno o más agentes conservadores auxiliares, como son la temperatura, el calor, la anaerobiosis, el cloruro sódico, el azúcar, o la adición de un ácido.

¹N. del T.: Conocidas también con las denominaciones de vieiras o conchas de peregrino.

²N. del T.: Crustáceos del género *Palemon*, a los que también se les denomina quisquillas, pertenecientes a las especies *P. serratus* y *P. squillas*.

La acidez que se origina interviene en la conservación del sauerkraut, de los encurtidos, de las aceitunas verdes, de la leche fermentada, del queso, y de ciertos embutidos, y también en la conservación de varios alimentos fermentados de origen vegetal. En los encurtidos y en las aceitunas verdes, se puede dejar que se origine toda la cantidad de ácido que es posible que se produzca a partir del azúcar existente en los citados alimentos, o bien, cuando se trata de otros alimentos, se puede detener la fermentación enfriándolos o enlatándolos antes de que se obtenga la acidez máxima, procedimiento que se sigue en la fabricación del sauerkraut y de las leches fermentadas. La acidez que se origina en algunos de estos alimentos, expresada en ácido láctico, alcanza los siguientes porcentajes: el 1,7 por cien en el sauerkraut; el 0,9 por cien en los encurtidos conservados con sal o con eneldo, y en las aceitunas verdes; y el 0,6 al 0,85 por cien en la leches fermentadas. La acidez del queso se suele expresar como concentración de iones hidrógeno; la mayoría de los quesos recién fabricados tienen un pH alrededor de 5,0 a 5,2, mientras que durante su curación se vuelve más básico.

El contenido alcohólico de la cerveza, de la cerveza inglesa, de los zumos de frutas fermentados, y de los licores destilados, ejerce una acción conservadora, aunque la finalidad principal del alcohol que contienen estas bebidas no es la de facilitar su conservación.

BIBLIOGRAFIA

- Anonymous. 1960. FDA names 182 safe additives. *Food Eng.* 32(1): 81-82.
- Anonymous. 1981. The health effects of nitrate, nitrite, and N-nitroso compounds. Assembly of Life Sciences, National Research Council, National Academy Press, Washington, D.C.
- Anonymous. 1982. Alternatives to the current use of nitrite in foods. Assembly of Life Sciences, National Research Council, National Academy Press, Washington, D.C.
- Bosund, O. 1962. The action of benzoic and salicylic acids on the metabolism of microorganisms. *Adv. Food Res.* 11:331-353.
- Branen, A. L., and P. M. Davidson. 1983. *Antimicrobials in foods*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Campbell, L. L., Jr., and R. T. O'Brien. 1955. Antibiotics in food preservation. *Food Technol.* 9:461-465.
- Draudt, H. N. 1963. The meat smoking process: a review. *Food Technol.* 17:1557-1562.
- Farber, L. 1959. Antibiotics in food preservation. *Annu. Rev. Microbiol.* 13:125-140.
- Fine, S. D. 1970, 1973. Ethylene oxide, part 121, food additives, sec. 121.1231, Fed. Reg. 35(145):12062; sec. 121.1232, Fed. Reg. 38:5342.
- Food Additives Amendment of 1958. Pub. L. 85-929, 85th Congr. H.R. 13254, Sept. 6, 1958.
- Fulton, K. R. 1981. Surveys of industry on the use of food additives. *Food Technol.* 35:80.
- Furia, T. E. 1972. *Handbook of food additives*. The CRC Press, Cleveland, Ohio.

- Goldberg, H. S. 1964. Nonmedical uses of antibiotics. *Adv. Appl. Microbiol.* 6:91-117.
- Gould, G. A. 1964. Gas sterilization of packaged, dried ingredients. *Food Process.* 25(9):96-97, 104-106.
- Ingram, M., E. M. Barnes, and J. M. Shewan. 1956. Problems in the use of antibiotics for preserving meat and fish. *Food Sci. Abstr.* 28:121-136.
- Mahoney, J. F. 1958. Food additives amendment enacted. *Food Technol.* 12:637-640.
- Molin, N., and A. Erichsen (eds.). 1965. Microbial inhibitors in food. In IVth International Symposium on Food Microbiology. Almqvist and Wiskell, Stockholm.
- Roberts, A. C., and D. J. McWeeny. 1972. The uses of sulphur dioxide in the food industry: a review. *J. Food Technol.* 7:221-238.
- Title 21: Food and Drug. CFR, pts. 170-199, rev. Apr. 1, 1985.
- Vandegrift, E. E., C. W. Hesseltine, and O. L. Shotwell. 1975. Grain preservatives: effect on aflatoxin and ochratoxin production. *J. Cereal Chem.* 52:79-84.
- Vaughn, R. H., H. Ng, G. F. Stewart, C. W. Nagel, and K. L. Simpson. 1960. Antibiotics in poultry meat preservation: development *in vitro* of bacterial resistance to chlortetracycline. *Appl. Microbiol.* 8:27-30.
- World Health Organization. 1965. Specifications of the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation. WHO Tech. Rep. Ser. 38, Geneva.
- World Health Organization. 1974. Toxicological evaluation of certain food additives with a review of general principles and of specifications. WHO Tech. Rep. Ser. 539, Geneva.

Conservación por irradiación

Durante su investigación encaminada a descubrir procedimientos nuevos y más eficaces para conservar los alimentos, los investigadores han prestado especial atención al posible empleo de radiaciones de distinta frecuencia, que se extienden desde la corriente eléctrica de baja frecuencia, hasta los rayos gamma de alta frecuencia (Figura 10.1). Muchas de estas investigaciones se han centrado en el empleo de los rayos ultravioleta, de las radiaciones ionizantes, y del calentamiento mediante microondas.

En el espectro total de radiaciones se suelen distinguir dos clases distintas de las mismas, situadas una a cada lado del espectro visible. La radiación de baja frecuencia, de gran longitud de onda, y de escasa cantidad de energía cuántica*, se extiende desde las ondas de la radio hasta el espectro infrarrojo. El efecto de estas radiaciones sobre los microorganismos está relacionado tanto con su propia perturbación térmica como con la que experimenta el alimento. Por el contrario, las radiaciones de alta frecuencia y de longitud de onda más corta, poseen una gran cantidad de energía cuántica y, de hecho, excitan, o, por el contrario, destruyen, tanto a los compuestos orgánicos como a los microorganismos, sin calentar el alimento. La destrucción de microorganismos sin producción de temperaturas elevadas sugirió el término «esterilización fría».

* N. del T.: A principios del siglo actual, PLANCK, para interpretar la distribución de la energía entre las diferentes radiaciones del espectro, estableció la *teoría de los cuantos*, según la cual, la energía radiante no se emite ni se absorbe de un modo continuo, sino por cantidades discretas o *cuantos* cuya magnitud depende de la frecuencia de la radiación (ν) y de una constante h llamada *constante de acción* ($h = 6,55 \times 10^{-27}$ erg/seg), siendo el valor de la energía (ϵ) igual a un cuanto: $\epsilon = h \cdot \nu$

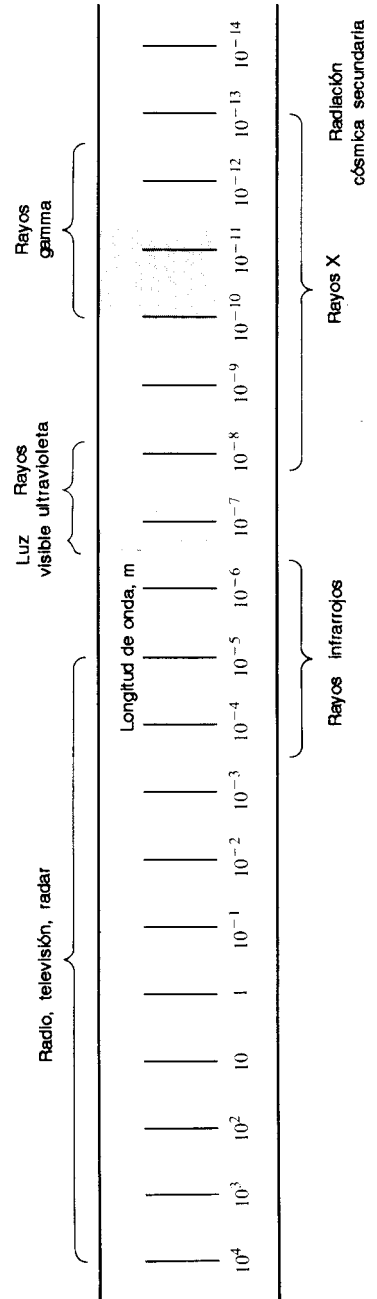


Figura 10.1. Esquema del espectro electromagnético en el que se puede observar la situación de los distintos tipos de radiación (*Gentileza de Westinghouse Electric Corporation, Bloomfield, N.J.*)

Aplicada a la industria alimentaria, la radiación de longitud de onda más corta se puede a su vez dividir en dos clases. La radiación de frecuencia más baja y de menor energía, por ejemplo la zona ultravioleta del espectro, sólo tiene la energía suficiente para excitar las moléculas. Esta zona del espectro se emplea en la industria alimentaria y se trata de la misma en el epígrafe correspondiente a los rayos ultravioleta. Las radiaciones de frecuencia más alta contienen una gran cantidad de energía y, de hecho, son capaces de romper las moléculas en iones, y de aquí que se emplee el término radiación ionizante para aludir a esta clase de radiaciones.

RADIACION ULTRAVIOLETA

De las diversas radiaciones electromagnéticas, la radiación ultravioleta ha sido la que más se ha empleado en la industria alimentaria. La radiación con longitudes de onda próximas a los 260 nm es absorbida en gran cantidad por las purinas y por las pirimidinas y, por lo tanto, es la más bactericida. La radiación ultravioleta de longitud de onda en torno a los 200 nm es absorbida en gran cantidad por el oxígeno, puede dar lugar a la producción de ozono, y carece de eficacia frente a los microorganismos.

Lámparas germicidas

En la industria alimentaria, la fuente usual de radiación ultravioleta son las lámparas de cuarzo con vapor de mercurio o lámparas de mercurio a baja presión, las cuales emiten una radiación cuya longitud de onda es de 254 nm. La radiación de estas lámparas incluye rayos del espectro visible y los correspondientes a la zona del espectro que produce eritema, los cuales irritan la piel y las mucosas. Existen lámparas de tamaño, forma, y potencia diferentes. Los tipos más modernos sólo liberan cantidades insignificantes de ozono.

Factores que influyen en su eficacia

Se debe insistir en que sólo son eficaces los rayos directos, a no ser que procedan de reflectores especiales, e incluso en este caso su eficacia disminuye. Los factores que influyen en la eficacia de los rayos ultravioleta son los siguientes:

- 1 *Tiempo*. Cuanto mayor es el tiempo de exposición a una determinada dosis, tanto más eficaz es el tratamiento.
- 2 *Intensidad*. La intensidad de los rayos que llegan a un determinado objeto, dependerá de la potencia de la lámpara, de la distancia que exista entre la

lámpara y el objeto, y del tipo y cantidad de partículas existentes en el camino recorrido por los rayos. No cabe duda que la intensidad de los rayos aumentará conforme aumente la potencia de la lámpara. La intensidad se suele expresar en microwatios por centímetro cuadrado (μ W/cm²). De acuerdo con ello, la cantidad o dosis de radiación realmente absorbida por un organismo o por un alimento se expresa mediante el producto del tiempo por la intensidad. Dadas las cortas distancias que suelen recorrer los rayos que se emplean en las industrias, su intensidad es inversamente proporcional a la distancia existente entre la lámpara y el objeto que se irradia. Cuando se trata de destruir microorganismos, una lámpara de una determinada potencia situada a 5 pulgadas¹ del objeto irradiado, es aproximadamente 100 veces más eficaz que si la citada distancia es de 8 pies². Se señala que la mayoría de las pruebas de eficacia de los rayos ultravioleta se llevan a cabo a una distancia de 12 pulgadas³. La existencia de polvo en el ambiente o sobre la lámpara reduce la eficacia, de igual modo que también la reduce el exceso de humedad ambiental. Una humedad relativa superior al 80 por cien reduce claramente la penetración de los rayos a través del aire, si bien los porcentajes de humedad inferiores al 60 por cien tienen poca influencia en el poder de penetración de los rayos a través del aire.

3 Penetración. La constitución del objeto o del material que está siendo irradiado, influye de forma importante en la eficacia del tratamiento. La penetración de los rayos ultravioleta es reducida incluso por el agua pura, la cual también ejerce una acción protectora sobre los microorganismos. Las sales minerales disueltas, sobre todo las sales de hierro, y la turbiedad, reducen de forma importante la eficacia de los rayos ultravioleta. Incluso una débil capa de sustancias grasas o grasientas intercepta los rayos ultravioleta. No penetran a través de objetos opacos. Por consiguiente, los rayos ultravioleta afectan solamente a la superficie externa de los alimentos que se irradian sometiéndolos directamente a la exposición de la lámpara emisora y no penetran en los microorganismos existentes en el interior de los alimentos. No obstante, las lámparas sirven para reducir el número de microorganismos viables existentes en el aire que rodea a los alimentos.

Efectos en las personas y en los animales

La contemplación de las lámparas ultravioleta produce irritación de los ojos en pocos segundos, y una exposición más prolongada de la piel produce eritema o enrojecimiento. En los animales, el efecto no suele ser tan intenso, aunque es

¹N. del T.: 5 pulgadas = 12,7 cm.

²N. del T.: 8 pies = 2,4384 m.

³N. del T.: 12 pulgadas = 30,48 cm.

posible que los rayos ultravioleta produzcan irritación de los ojos, sobre todo en los pollos.

Actividad sobre los microorganismos

Según ya se ha indicado, la intensidad de los rayos al llegar al organismo, el tiempo durante el cual actúan, y la situación del organismo, determinan el efecto germicida. Cada especie microbiana tiene un grado de resistencia característico a la radiación ultravioleta. Este grado de resistencia es función de la fase de crecimiento y del estado fisiológico de las células microbianas. Si se compara la resistencia de las células vegetativas de unas especies bacterianas con la de otras, la exposición a los rayos ultravioleta destruye las células vegetativas de algunas especies en un tiempo que es más de cinco veces superior al necesario para que las de otras especies sean destruidas, aunque, por lo general, el tiempo de exposición que las destruye no varía mucho para cada una de las distintas especies. En la Tabla 10.1 se resumen las dosis de radiación ultravioleta necesarias para destruir varios grupos de microorganismos diferentes. Así por ejemplo, con una lámpara de rayos ultravioleta de 15 watios, las bacterias pertenecientes a la especie *Escherichia coli* existentes en el aire ambiental fueron destruidas en un porcentaje comprendido entre el 97 y el 99 por cien en un tiempo de 10 a 24 segundos, mientras que para destruirlas en este mismo porcentaje en la superficie de una placa de agar se necesitaron de 11 a 20 segundos. La formación de cápsula y el agrupamiento de las bacterias aumenta su resistencia a la radiación ultravioleta. Para destruir las esporas bacterianas, es necesaria una exposición a

Tabla 10.1. Dosis de rayos ultravioleta necesarias para destruir determinados grupos de microorganismos.

<i>Microorganismo</i>	<i>Dosis necesaria para la reducción de 1 ciclo logaritmico o 1 valor D (μW seg × 10⁻³)</i>
Bacterias gramnegativas	0,8–6,4
Anaerobias facultativas	3,0–5,5
Aerobias	5,0–6,0
Fotótrofas	
Bacterias grampositivas	
<i>Bacillus</i>	5,0–8,0
Esporas de <i>Bacillus</i>	8,0–10,0
<i>Micrococcus</i>	6,0–20,0
<i>Staphylococcus</i>	2,2–5,0
Mohos	10,0–200,0
Levaduras	3,0–10,0

Fuente: Resumido de Ingram y Roberts (1980).

los rayos ultravioleta de una duración de dos a cinco veces mayor que la necesaria para destruir las células vegetativas correspondientes. Algunos tipos de pigmentación también tienen un efecto de protección. En general, las levaduras están dotadas de una resistencia que es de dos a cinco veces mayor que la de las bacterias, aunque algunas son destruidas fácilmente. Se dice que la resistencia de los mohos es de diez a cincuenta veces mayor que la de las bacterias. Los mohos pigmentados son más resistentes que los que no producen pigmentos, y las esporas son más resistentes que el micelio. El efecto destructor de los rayos ultravioleta se suele explicar mediante la «teoría del blanco» que se describe en el epígrafe que trata de la radiación ionizante.

Aplicaciones en la industria alimentaria

El empleo de la radiación ultravioleta en la industria alimentaria se tratará relacionándolo con la conservación de alimentos concretos. Los ejemplos de casos en los que el empleo de estos rayos ha dado buenos resultados incluyen el tratamiento del agua destinada a la fabricación de bebidas; la maduración de las carnes; el tratamiento de las cuchillas que se emplean para cortar el pan a rebanadas; el tratamiento del pan y de las tortas; el envasado de las lonchas de bacon; la esterilización de los cubiertos; el tratamiento de las tinas de encurtidos, de vinagre, y de sauerkraut para impedir el crecimiento de levaduras formadoras de película; la destrucción de las esporas existentes en la superficie de los cristales de azúcar y en los jarabes; el tratamiento de los quesos durante su almacenamiento y envasado; el tratamiento de las paredes y de las estanterías para impedir el crecimiento de mohos; y el tratamiento del aire de los locales en los que se almacenan o se someten a tratamiento los alimentos, o el tratamiento del que se introduce en los citados locales para renovar su atmósfera.

RADIACIONES IONIZANTES

Clases de radiaciones ionizantes

La radiación clasificada como ionizante incluye los rayos X o rayos gamma, los rayos catódicos o rayos beta, los protones, los neutrones, y las partículas alfa. Los neutrones dejan radioactividad residual en los alimentos, mientras que los protones y las partículas alfa tienen poco poder de penetración. Por consiguiente, estas radiaciones no resultan prácticas para ser utilizadas en la conservación de alimentos, razón por la cual no se tratarán.

Los rayos X son ondas electromagnéticas penetrantes que se originan en el interior de un tubo de vacío mediante el bombardeo con rayos catódicos de un electrodo de un metal pesado. En la actualidad, su empleo en la industria

alimentaria no se considera rentable. Los **rayos gamma** son parecidos a los rayos X, con la diferencia de que son emitidos por productos secundarios resultantes de la fisión atómica, o proceden de imitaciones¹ de estos productos secundarios. En la mayoría de las experiencias realizadas hasta ahora, se han utilizado como fuentes de estos rayos el cobalto 60 y el cesio 137, siendo el cobalto 60 el más prometedor en cuanto a posibles aplicaciones comerciales.

Los **rayos beta** son flujos de electrones (partículas beta) emitidos por material radioactivo. Los **electrones** son partículas de pequeño tamaño, con carga eléctrica negativa y masa uniforme, que forman parte del átomo. Son desviados por los campos eléctricos y magnéticos. Su poder de penetración depende de la velocidad con la cual inciden en el electrodo. Cuanto mayor es la carga de los electrones, tanto mayor es su poder de penetración.

Los **rayos catódicos** son flujos de electrones (partículas beta) procedentes del cátodo de un tubo de vacío. En la práctica, estos electrones se aceleran mediante procedimientos artificiales.

Definición de términos

Antes de tratar del empleo de las radiaciones ionizantes es preciso definir algunos términos.

Un **roentgen (r)** es la cantidad de radiación gamma o de radiación X que, en condiciones estándar, origina una unidad electrostática de carga eléctrica, tanto si es de signo positivo como de signo negativo, en un centímetro cúbico de aire.

Un **roentgen equivalente físico (rep)** es la cantidad de energía ionizante que origina, por gramo de tejido, una cantidad de ionización equivalente a un roentgen. Un **megarep** equivale a 1 millón de reps. Un r, o 1 rep, equivale a la absorción de 83 a 90 ergios por gramo de tejido.

En la actualidad, el **rad** se emplea principalmente como unidad de dosis de radiación, siendo equivalente a la absorción de 100 ergios por gramo de material irradiado. Un **megarad (Mrad)** equivale a 1 millón de rads, y un **kilorad (Krad)** equivale a 1.000 rads.

Un **electronvoltio (eV)** es la energía adquirida por un electrón al desplazarse a través de una diferencia de potencial de 1 voltio. Un **megaelectronvoltio (meV)** equivale a 1 millón de electronvoltios.

Por consiguiente, el **meV** es la unidad de medida de la intensidad de la irradiación, mientras que el **rep** es la unidad de medida de la energía absorbida que es eficaz en el interior del alimento.

Un **Gray (Gy)** equivale a 100 rads y en la actualidad se está empleando en algunas citas bibliográficas como sustitutivo del término rads². **Radapertización**

¹N. del T.: Isótopos radioactivos.

²N. del T.: El Gray (Gy) es una moderna unidad de dosis de radiación con la cual se mide la sensibilidad de los microorganismos a las radiaciones. Equivalencias: 1 Gy = 100 rads; 1 kilo Gray (kGy) = 1.000 Grays; 10 KGy = 1 Mrad.

es un término que se emplea para designar una «esterilización por irradiación» que supondría el empleo de tratamientos con elevadas dosis de radiación, obteniéndose como resultado un producto estable durante su almacenamiento.

El término **radurización** alude a los tratamientos de «pasteurización por irradiación» con dosis bajas de radiación, cuya finalidad es prolongar la duración del almacenamiento de un determinado alimento.

La **radicidación** también es un tratamiento de «pasteurización por irradiación» con dosis bajas de radiación, si bien su finalidad específica es la destrucción de un microorganismo patógeno concreto.

El término **picoirradiado** se emplea para designar a todo alimento que ha sido tratado con una dosis muy baja de radiación ionizante.

Rayos X

Para iguales cantidades de energía absorbida, los rayos X, los rayos gamma, y los rayos catódicos son igualmente eficaces cuando se emplean en tratamientos de esterilización. Los rayos X y los rayos gamma tienen un poder de penetración considerable, mientras que los rayos catódicos tienen relativamente poco poder de penetración. En la actualidad, el mayor inconveniente que existe para poder emplear los rayos X con el fin de conservar alimentos es su poca eficacia y el consiguiente elevado coste para obtenerlos, ya que al generar los rayos X solamente se aprovecha alrededor del 3 al 5 por cien de la energía electrónica aplicada. Por esta razón, las investigaciones más recientes acerca de la conservación de alimentos por irradiación, se han centrado en la aplicación de rayos gamma y de rayos catódicos.

RAYOS GAMMA Y RAYOS CATODICOS

Como quiera que para cantidades iguales de energía absorbida, estas dos clases de rayos son igualmente eficaces, y puesto que al parecer producen modificaciones parecidas en los alimentos que se están tratando, se estudiarán conjuntamente y se establecerá una comparación entre los mismos siempre que sea posible.

Origen

Los principales orígenes de los rayos gamma son: (1) los productos resultantes de la fisión radioactiva del uranio y del cobalto, (2) el circuito de refrigerante de los reactores nucleares, (3) los demás elementos combustibles empleados para

hacer funcionar todo reactor nuclear. Los rayos catódicos se suelen acelerar mediante artificios eléctricos especiales. Cuanto mayor es esta aceleración (es decir, cuanto mayor es la energía expresada en meV), tanto más profunda es la penetración de los rayos catódicos en los alimentos.

Penetración

Los rayos gamma tienen un considerable poder de penetración, si bien su eficacia disminuye en progresión geométrica conforme aumenta la profundidad de su penetración. Se ha señalado que en la mayoría de los alimentos son eficaces a una profundidad de incluso 20 cm, aunque la profundidad que alcanzan en los alimentos dependerá del tiempo que éstos hayan estado expuestos a la radiación gamma. Los rayos catódicos, por el contrario, tienen poco poder de penetración, siendo eficaces a una profundidad de sólo 0,5 cm por cada meV de la energía contenida en esta clase de rayos, en el caso de que se emplee el procedimiento de irradiación denominado de «descarga cruzada», es decir, cuando se irradia el alimento desde lados opuestos. La cantidad de dosis absorbida en un determinado material no es una fracción de la dosis uniformemente decreciente conforme aumenta la profundidad, sino que aumenta hasta alcanzar un máximo a una profundidad igual a aproximadamente un tercio de la penetración y a partir de esta profundidad disminuye hasta cero.

Eficacia

Como quiera que los rayos catódicos son direccionales*, es posible hacerles incidir en el alimento y, por consiguiente, se pueden emplear con mayor eficacia que los rayos gamma, los cuales son invariablemente emitidos desde las fuentes radioactivas en todas las direcciones. Los distintos porcentajes calculados para la eficacia de aprovechamiento máximo de los rayos catódicos oscilan entre el 40 y el 80 por cien, según la forma del objeto irradiado, mientras que para los rayos gamma se calcula que la eficacia de aprovechamiento es sólo del 10 al 25 por cien. Las fuentes radioactivas que emiten rayos gamma se desintegran constantemente y de aquí que se debiliten con el transcurso del tiempo.

Seguridad

El manejo de los rayos catódicos ofrece un número de inconvenientes para la salud menor que el manejo de los rayos gamma, ya que los rayos catódicos son

*N. del T.: Propiedad de los rayos catódicos que consiste en que se transmiten con poca desviación angular, es decir, se trata de una emisión dirigida.

direccionales y menos penetrantes, se pueden desconectar para llevar a cabo trabajos de reparación o de mantenimiento, y, después de un incendio, de una explosión, o de cualquier otro accidente catastrófico, no ofrecen el peligro de los materiales radioactivos. Los rayos gamma son emitidos en todas las direcciones, son penetrantes, su emisión es constante, y proceden de fuentes radioactivas. Los rayos gamma requieren una mayor protección de los obreros. Hasta ahora, las pruebas que se han llevado a cabo tanto en animales como en personas que se han prestado voluntariamente para ello, no han puesto de manifiesto ningún efecto patológico debido a la ingestión de alimentos irradiados.

Efectos en los microorganismos

La eficacia bactericida de una determinada dosis de radiación depende de los factores siguientes:

- 1 *Tipo y especie de microorganismo.* Los datos que figuran en la Tabla 10.2 ponen de manifiesto la importancia de este factor.
- 2 *Número de microorganismos (o de esporas) existentes inicialmente.* Cuanto mayor sea el número de microorganismos existentes, tanto menor será la eficacia bactericida de una determinada dosis de radiación.
- 3 *Composición del alimento.* Es posible que algunos constituyentes del alimento, por ejemplo, las proteínas, la catalasa, y las sustancias reductoras (nitritos, sulfitos, y compuestos sulfhidrúlicos) ejerzan sobre los microorganismos una acción protectora. Las sustancias químicas que se combinan con los grupos SH se comportarían como sensibilizadoras. Es posible que los productos resultantes de la ionización sean perjudiciales para los microorganismos.
- 4 *Existencia o falta de oxígeno.* El efecto debido a la existencia de oxígeno libre es variable para cada microorganismo, oscilando desde la no producción de efecto alguno hasta la sensibilización del microorganismo. Es probable que las «reacciones secundarias» indeseables, las cuales se tratarán a continuación, se intensifiquen cuando existe oxígeno y que sean menos frecuentes en el vacío o en una atmósfera de nitrógeno.
- 5 *Estado físico del alimento durante la irradiación.* Tanto el contenido de humedad como la temperatura del alimento ejercen una influencia diferente en los distintos microorganismos.
- 6 *Factores propios de los microorganismos.* La edad, la temperatura de crecimiento y la de esporulación, y el estado (células vegetativas o esporas) pueden influir en el grado de sensibilidad de los microorganismos. Estos factores ya se han revisado anteriormente al tratar del empleo de otros procedimientos de tratamiento de los alimentos.

Al parecer, la clase de radiación utilizada y, dentro de ciertos límites, el pH del alimento, influyen poco en la dosis que se necesita para destruir los microorganismos.

Algunos autores han indicado que, en general, la resistencia a las radiaciones ionizantes de una determinada especie microbiana va aparejada con su resistencia a los tratamientos térmicos convencionales, aunque existen notables excepciones. Se ha comprobado, por ejemplo, que las esporas de *Clostridium botulinum* son más resistentes a los rayos gamma que las esporas de una bacteria (Nº. 1518) del agriado plano y que las de una bacteria termófila anaerobia (T.A. Nº. 3814), aunque estas dos últimas son más termorresistentes. La Tabla 10.2 resume datos de distintas procedencias, relativos a la dosis aproximada de radiación necesaria para destruir distintos tipos de microorganismos. Las cifras que figuran en la citada Tabla variarán de acuerdo con los factores señalados en el párrafo anterior. No obstante, es preciso tener en cuenta lo siguiente: (1) que las personas son más sensibles a las radiaciones que los microorganismos, (2) que las esporas bacterianas son bastante más resistentes que las células vegetativas, (3) que, en general, las bacterias gramnegativas son menos resistentes que las grampositivas, y (4)

Tabla 10.2. Dosis letales aproximadas de radiaciones ionizantes expresadas en kilograys.

<i>Microorganismo</i>	<i>Dosis letal aproximada</i>	<i>Microorganismo</i>	<i>Dosis letal aproximada</i>
Personas	0,0056-0,0075	Bacterias	
Insectos	22-93	(células de saprófitas)	
Virus	10-40	Gramnegativas	
Levaduras (fermentativas)	4-9	<i>Escherichia coli</i>	1,0-2,3
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,6-2,3
<i>Torula cremoris</i>	4,7	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1,2-2,3
Levaduras (película)	3,7-18	<i>Enterobacter aerogenes</i>	1,4-1,8
<i>Hansenula</i> sp.	4,7	Grampositivas	
<i>Candida krusei</i>	11,6	<i>Lactobacillus</i> spp.	0,23-0,38
Mohos (con esporas)	1,3-11	<i>Streptococcus faecalis</i>	1,7-8,8
<i>Penicillium</i> spp.	1,4-2,5	<i>Leuconostoc dextranicum</i> *	0,9
<i>Aspergillus</i> spp.	1,4-3,7	<i>Sarcina lutea</i> *	3,7
<i>Rhizopus</i> sp.	10	Esporas bacterianas	3,1-37
<i>Fusarium</i> sp.	2,5	<i>Bacillus subtilis</i>	12-18
Bacterias (células de patógenas)		<i>Bacillus coagulans</i>	10
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1,4	<i>Clostridium botulinum</i> (A)	19-37
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,4-7,0	<i>Clostridium botulinum</i> (E)	15-18
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	4,2	<i>Clostridium perfringens</i>	3,1
<i>Salmonella</i> spp.	3,7-4,8	Anaerobio de la putrefacción 3679	23-50
		<i>Bacillus stearothermophilus</i>	10-17

que la resistencia de las levaduras y la de los mohos es muy variable, aunque algunos de estos microorganismos son más resistentes que la mayoría de las bacterias. *Candida krusei*, por ejemplo, (Tabla 10.2) es tan resistente como algunas esporas bacterianas. Muchos microorganismos tienen una resistencia a las radiaciones mucho mayor que la que se les supone. En carne irradiada, por ejemplo, se ha encontrado un micrococo resistente a las radiaciones que se parece a *Micrococcus roseus*. En la carne se han encontrado especies del género *Microbacterium* que son extraordinariamente resistentes. Por consiguiente, existe la posibilidad de que en los alimentos irradiados con dosis bajas de radiación se puedan aislar cepas resistentes. Se ha descubierto que la irradiación previa de las esporas bacterianas con rayos gamma las hace más sensibles al calor, si bien el choque térmico previo no influye en la acción letal del subsiguiente tratamiento con rayos gamma. El tratamiento previo de los microorganismos con ultrasonidos los sensibiliza a la radiación.

Se supone que los microorganismos irradiados son destruidos como consecuencia del paso de una partícula ionizante, o cuanto de energía, a través de una zona sensible de la célula, o muy cerca de dicha zona, que produce un «impacto» directo sobre el citado blanco, como consecuencia de la ionización de esta zona sensible, y como consecuencia de la posterior muerte de la célula microbiana (esta teoría recibe la denominación de teoría del blanco). Se supone también que gran parte del efecto germicida es consecuencia de la ionización de las zonas circundantes, sobre todo del agua, que da lugar a radicales libres, algunos de los cuales es posible que sean oxidantes o reductores y que, por lo tanto, favorecen la destrucción de los microorganismos. La irradiación de los alimentos también puede originar mutaciones en los microorganismos existentes en los mismos.

Efectos en los alimentos

Se ha comprobado que el empleo de dosis de radiación suficientemente elevadas con el fin de conseguir la esterilización de los alimentos producen, en muchos tipos de los mismos, «reacciones secundarias» indeseables, o modificaciones secundarias, las cuales originan colores, olores, sabores, palatabilidades, e incluso propiedades físicas indeseables.

Algunas de las modificaciones que los rayos catódicos y los rayos gamma originan en los alimentos son las siguientes: (1) En la carne una elevación del pH, la destrucción del glutatión, y un aumento de los compuestos de carbonilo, del sulfuro de hidrógeno, y del metil-mercaptano, (2) en las grasas y en los lípidos, la destrucción de las sustancias antioxidantes propias, su oxidación seguida de su polimerización parcial, y un aumento de los compuestos de carbonilo, y (3) en las vitaminas, la disminución de las concentraciones de tiamina, de piridoxina, y de las vitaminas B₁₂, C, D, E, y K, en la mayoría de los alimentos; la riboflavina y la niacina son bastante estables. Sin duda que cuanto menor es la dosis de radiación, tanto menos frecuentes son los efectos indeseables en los alimentos. Para destruir

algunos de los enzimas existentes en los alimentos se necesitan dosis de radiación de cinco a diez veces más elevadas que las necesarias para destruir los microorganismos. Una vez destruida la totalidad de los microorganismos de los alimentos, la actividad de sus enzimas puede continuar, a no ser que antes de proceder a su irradiación se hayan sometido a un tratamiento especial de escaldado.

La principal repercusión sobre la salubridad de los alimentos es la destrucción de sus vitaminas. No obstante, el valor nutritivo global de un alimento que se hubiese irradiado sería tan bueno como el de un alimento tratado por cualquier otro procedimiento con el fin de conseguir la misma estabilidad de almacén. Tanto si se emplean haces de electrones de energía inferior a 11 meV, como si se emplean rayos gamma procedentes del cobalto 60, no existen pruebas de que en los alimentos se origine radioactividad.

Aplicaciones

En la actualidad, la irradiación de alimentos en los Estados Unidos solamente está permitida de una forma muy restringida. Está permitido emplear la irradiación de alimentos con dosis bajas de radiación (del orden de 1 kiloGray) en las frutas y en las hortalizas frescas con el fin de destruir insectos e impedir su alteración. Con objeto de destruir insectos y bacterias, está permitido irradiar con dosis de hasta 30 kiloGrays las plantas secas o deshidratadas. Además, están autorizados los tratamientos de irradiación de la carne de cerdo (triquinas), del trigo (insectos), y de la patatas (formación de grillones). No obstante, el renovado interés por la irradiación de alimentos y las propuestas de reglamentación relativas a su empleo, probablemente darán como resultado que se amplie el campo de aplicación de este tipo de tratamiento. En la actualidad, cerca de treinta países han autorizado algún tipo de tratamiento para irradiar los alimentos. La Tabla 10.3 compendia las aplicaciones de la irradiación de alimentos.

TRATAMIENTO CON MICROONDAS

Tanto el calentamiento como el tratamiento de los alimentos con microondas cada vez están más de moda, sobre todo a nivel de consumidor. Las microondas son ondas electromagnéticas comprendidas entre las ondas infrarrojas y las ondas de la radio del espectro electromagnético (Figura 10.1). Sus frecuencias específicas se suelen encontrar a 915 megaciclos o a 2.450 megaciclos. La energía calorífica, o calor, que producen al atravesar un alimento, es consecuencia de la oscilación extraordinariamente rápida de las moléculas del alimento al intentar orientarse con el campo electromagnético que se está originando. Esta oscilación rápida, o fricción de unas moléculas contra otras, genera calor. En realidad, el

Tabla 10.3. Aplicaciones de la irradiación de alimentos.

<i>Tipo de alimento</i>	<i>Dosis de radiación en kiloGrays</i>	<i>Resultado del tratamiento</i>
Carne, aves, pescado, marisco, algunas hortalizas alimentos cocidos al horno, alimentos preparados	20-70	Esterilización. Los alimentos tratados se pueden almacenar a temperatura ambiente sin que se alteren. Los alimentos tratados son inocuos para enfermos hospitalizados que requieren dietas microbiológicamente estériles
Espicias y otros condimentos	8-30	Reduce el número de microorganismos e insectos. Sustituye a los agentes químicos que se utilizan con esta finalidad
Carne, aves, pescado	1-10	Retarda su alteración por reducir el número de microorganismos en el alimento fresco refrigerado. Destruye algunos tipos de bacterias causantes de intoxicaciones alimentarias
Fresas y algunas otras frutas	1-4	Prolonga su vida comercial por retardar el crecimiento de los mohos
Granos, frutas, hortalizas, y otros alimentos infestados por insectos	0,1-1	Mata a los insectos o impide que se reproduzcan. Podría sustituir en parte a los fumigantes que se utilizan con esta finalidad
Plátanos, aguacates, mangos, papayas, guayabas, y algunas otras frutas no cítricas	0,25-0,35	Retarda su maduración
Patatas, cebollas, ajos	0,05-0,15	Impide que grillen
Carne de cerdo	0,08-0,15	Inactiva las triquinias
Granos, hortalizas deshidratadas, otros alimentos	Varias dosis	Modificaciones físicas y químicas beneficiosas

Fuente: ACSH (1985).

efecto conservador de las microondas o el efecto bactericida que producen, es función del calor que se genera. Dicho de otro modo, las microondas de por sí no dan lugar a ningún tipo de inactivación de los microorganismos transmitidos por los alimentos, sino que, en realidad, es el calor producido por la excitación de sus moléculas el que produce su destrucción.

BIBLIOGRAFIA

- ACSH. American Council on Science and Health. 1985. Irradiated foods. ACSH, Summit, N.J.
- Anderson, A. W., K. E. Rash, and R. P. Elliker. 1961. Taxonomy of a recently isolated radiation-resistant micrococcus. *Abstr. Bacteriol. Proc. (Soc. Amer. Bacteriol.)* 1961:56.
- Asselbergs, E. A. 1961. New developments in infra-red radiation. *Food Can.* 21(10): 36-38.
- Bellamy, W. D. 1959. Preservation of foods and drugs by ionizing radiations. *Adv. Appl. Microbiol.* 1:49-73.
- Bridges, B. A., and T. Horne. 1959. The influence of environmental factors on the microbicidal effect of ionising radiations. *J. Appl. Bacteriol.* 22:96-115.
- Chandler, V. L., et al. and coworkers. 1956. Relative resistance of microorganisms to cathode rays. *Appl. Microbiol.* 4:143-152.
- Copson, D. A. 1962. Microwave heating. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Dean, E. E., and D. L. Howie. 1963. Safety of food sterilization by ionizing radiations. U.S. Army Natick Labs. *Activities Rep.* 15(4th quarter):174-183.
- Desrosier, N. W., and H. M. Rosenstock. 1960. Radiation technology in food, agriculture, and biology. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Food and Drug Administration. Irradiation in the production, processing, and handling of food: proposed rule. *Fed. Reg.* 49(31). Feb. 14, 1984.
- Goldblith, S. A. (ed.). 1963. Exploration in future food-processing techniques. The M.I.T. Press, Cambridge, Mass.
- Goldblith, S.A. 1964. Radiation. *Food Technol.* 18:1384-1391.
- Goldblith, S. A., and B. E. Proctor. 1956. Radiation preservation of milk and milk products. I. Background and problems. *J. Dairy Sci.* 39:374-378.
- Ingram, M., and T. A. Roberts. 1980. Ultraviolet irradiation. *In* J. H. Silliliker et al. (eds.), *Microbial ecology of foods. Volume I. Factors affecting life and death of microorganisms.* Academic Press, Inc., New York.
- Ingram, M., and T. A. Roberts. 1980. Ionizing irradiation. *In* J. H. Silliliker et al. (eds.), *Microbial ecology of foods. Volume I. Factors affecting life and death of microorganisms.* Academic Press, Inc., New York.
- Josephson, E. C., and M. S. Peterson (eds.). 1982 and 1983. Preservation of food by ionizing radiation, Volumes II and III. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla.
- Lea, D. E. 1955. Action of radiation on living cells. 2d ed. Cambridge University Press, London.
- Ley, F. J. 1983. New interest in the use of irradiation in the food industry. *In* T. A. Roberts and F. A. Skinner (eds.), *Food microbiology: advances and projects.* Academic Press, Inc., New York.
- Maxcy, R. B. 1982. Irradiation of food for public health protection. *J. Food Prot.* 45:363-366.
- Proctor, B. E., and S. A. Goldblith. 1951. Electromagnetic radiation fundamentals and their applications in food technology. *Adv. Food Res.* 3:119-196.
- Sherman, V. W. 1946. Electronic heat in the food industries. *Food Ind.* 18:506-509, 628-630.
- Thornley, M. J. 1963. Radiation resistance among bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* 26:334-345.

Tercera parte

Contaminación, conservación y alteración de diferentes tipos de alimentos

Las frutas o las hortalizas que se recolectan, la leche que se ordeña, los huevos que se recogen, el pescado y demás alimentos que se obtienen de las aguas naturales, y los animales que se capturan y se sacrifican, son portadores de microorganismos procedentes de fuentes naturales de contaminación (Capítulo 4). En la mayoría de los casos, al iniciar el hombre su manipulación, se inicia su contaminación adicional, que continúa mientras el alimento se está manipulando y sometiendo a tratamiento. El fabricante procura limpiar e higienizar el equipo que contacta con el alimento con el fin de reducir la contaminación procedente de las citadas fuentes, y también procura emplear materiales para el envasado que no añadan al alimento una contaminación importante. Según se ha indicado anteriormente, el término «higienizar» se usa con preferencia al término «esterilizar», debido a que, si bien se intenta esterilizar el equipo, es decir, eliminar del mismo la totalidad de los microorganismos vivos, rara vez se consigue su esterilidad.

En esta Tercera Parte, se aplican a los principales tipos de alimentos los procedimientos de conservación que han sido tratados en los Capítulos del 5 al 10, y se tratan los tipos de alteración más importantes.

00117

Contaminación, conservación y alteración de los cereales y productos derivados

Los productos derivados de los cereales que se tratan en este Capítulo incluyen los granos en sí, las harinas, las pastas alimenticias, los distintos tipos de pan, las tortas y otros productos de panadería.

CONTAMINACION

La superficie externa de los granos de cereales que se cosechan, conserva algunos de los microorganismos adquiridos durante su desarrollo más la flora contaminante procedente del suelo, de los insectos y de otras procedencias. Los granos de cereales recién cosechados contienen desde algunos miles a varios millones de bacterias por gramo y desde ninguna a varios cientos de miles de esporas de mohos. Las bacterias se incluyen principalmente en las familias Pseudomonadaceae, Micrococcaceae, Lactobacillaceae, y Bacillaceae. La limpieza y el lavado de los granos de cereales eliminan algunos microorganismos, si bien la mayoría son eliminados junto con su parte externa durante la molienda. Los tratamientos a que se someten los granos de cereales durante la molienda, sobre todo el blanqueo, reducen el número de microorganismos, aunque después existe la posibilidad de que se contaminen al someterlos a otros tratamientos, como por ejemplo al mezclarlos y al acondicionarlos.

Las bacterias existentes en la harina de trigo incluyen esporas de especies del género *Bacillus*, bacterias coliformes y algunos representantes de los géneros *Achromobacter**, *Flavobacterium*, *Sarcina*, *Micrococcus*, *Alcaligenes* y *Serratia*. Las esporas de mohos son principalmente las de las especies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, y también algunas pertenecientes a especies de los géneros *Alternaria*, *Cladosporium*, y de otros géneros. El número de bacterias es muy variable, pudiendo encontrarse desde unos pocos cientos a varios millones por gramo. Algunas muestras de harina de trigo procedentes de la venta al por menor contienen por gramo desde unos pocos cientos a varios miles de bacterias, de veinte a treinta esporas de bacilos y de 50 a 100 esporas de mohos. Las harinas patentadas suelen dar recuentos más bajos que las integrales o de bajo grado de extracción, y las cifras obtenidas en los recuentos disminuyen con el almacenamiento. En las harinas preparadas se suelen obtener recuentos más elevados, los cuales son todavía más elevados (de 8.000 a 12.000 microorganismos por gramo, por término medio) cuando se trata de harinas de trigo que no han sido tamizadas y de harinas integrales de trigo, ya que estos tipos de harina contienen también la parte externa del grano de trigo y no se blanquean. En la Tabla 11.1 se indica la microflora normal hallada en los distintos granos de cereales y en sus productos derivados.

El grano de maíz molido y la harina de maíz contienen desde varios cientos a varios miles de bacterias y mohos por gramo. Los mohos predominantes son las especies de los géneros *Fusarium* y *Penicillium*. Las maltas contienen gran cantidad de bacterias, generalmente del orden de millones por gramo, debido a que su incubación se lleva a cabo con humedad.

La superficie de una hogaza de pan recién cocida está prácticamente exenta de microorganismos vivos, pero, durante el tiempo que permanece enfriándose y antes de ser envuelta, está expuesta a la contaminación por las esporas de mohos existentes en el aire. Al cortarla a rebanadas, se puede contaminar con los microorganismos existentes en el aire, en la cuchillas o en la envoltura. Las tortas están expuestas al mismo tipo de contaminación. Las esporas de las bacterias capaces de originar la viscosidad del pan resistirán el tratamiento de cocción.

Desde el punto de vista de la salud pública, la contaminación con mohos de los granos de cereales y de los productos derivados de los mismos, ha adquirido gran interés debido a que es posible que contengan micotoxinas. El frecuente aislamiento de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*, especies de mohos capaces de elaborar aflatoxinas, avala la necesidad de reducir su contaminación con mohos y de evitar las circunstancias que permiten su crecimiento. Otros mohos corrientemente aislados, como son las especies de los géneros *Fusarium* y *Penicillium*, son perjudiciales porque también son capaces de elaborar micotoxinas (véase el Capítulo 25). En la Tabla 11.2 se ofrece la distribución de la aflatoxina B_1 en las distintas fracciones del grano de maíz.

Tabla 11.1. Perfil microbiológico de los granos de cereales y alimentos derivados.

Clase de alimento	Microflora típica	Oscilación cuantitativa	Observaciones
Granos de cereales pelados	Mohos	$10^2-10^4/g$	Recuentos representativos de los granos «normales» en los canales comerciales; evidentemente, los granos «atizados», «enmohecidos», o «alterados», sobrepasarían estas oscilaciones
	Levaduras y hongos levaduriformes	$10^2-10^4/g$	
	Bacterias		
	Recuento de aerobias en placa	$10^2-10^6/g$	
	Grupo de coliformes	$10^2-10^4/g$	
Harina (s), harina de maíz, sémolas de maíz, sémola	<i>E. coli</i>	$10-10^3/g$	Dependiendo de la cantidad de tierra incorporada a la muestra de grano
	Actinomicetos	$10^3-10^6/g$	
	Mohos	$10^2-10^4/g$	
	Levaduras y hongos levaduriformes	$10-10^6/g$	
	Bacterias		
Cereales para desayunos y «tentempiés»	Recuento de aerobias en placa	$10^2-10^6/g$	En la harina, los recuentos de microorganismos pueden variar de un período de almacenamiento a otro según el contenido de humedad y las condiciones de almacenamiento. El recuento definitivo hallado depende de la carga microbiana inicial, de la tasa de multiplicación y de la tasa de muerte. Durante el almacenamiento, con frecuencia los recuentos descienden; no obstante, a veces también se han registrado aumentos
	Grupo de coliformes	$0-10/g$	
	Esporas «de la viscosidad»	$0-10^2/g$	
	Mohos	$0-10^3/g$	
	Levaduras y hongos levaduriformes	$0-10^2/g$	
Masas refrigeradas y congeladas	Bacterias		Las harinas de soja a veces contienen salmonelas; las demás harinas raras veces las contienen
	Recuento de aerobias en placa	$0-10^2/g$	
	Grupo de coliformes	$0-10^2/g$	
	Mohos	$10^2-10^4/g$	
	Levaduras y hongos levaduriformes	$10^2-10^6/g$	
Masas refrigeradas y congeladas	Bacterias		Los recuentos de levaduras reflejan el inóculo añadido intencionalmente como parte integrante de la formulación del alimento—no significa «contaminación»
	Recuento de aerobias en placa	$10^2-10^6/g$	
	Grupo de coliformes	$10-10^2/g$	
	Psicrótrofas	$10-10^3/g$	

(continúa)

Tabla 11.1. (continuación).

Clase de alimento	Microflora típica	Oscilación cuantitativa	Observaciones
Alimentos cocidos al horno	Mohos	10-10 ⁵ /g	
	Levaduras y hongos levaduriformes	10-10 ³ /g	
	Bacterias		
	Recuento de aerobias en placa Grupo de coliformes	10-10 ² /g 10-10 ² /g	
Proteína de soja	Bacterias		En los alimentos de humedad intermedia, las oscilaciones cuantitativas reflejan tanto la contaminación inicial como la multiplicación de microorganismos durante su almacenamiento
	Recuento de aerobias en placa Grupo de coliformes	10 ² -10 ⁵ /g 10 ² -10 ³ /g	
	<i>E. coli</i>	0-10 ² /g	
	Psicótrofos	10 ² -10 ⁴ /g	
	<i>Cl. perfringens</i>	0-10 ² /g	
Pastas alimenticias	Bacterias		Las amplias oscilaciones de la carga microbiana de este tipo de alimentos reflejan la diferencia existente entre las pastas alimenticias con huevo y las pastas alimenticias del tipo de los macarrones, todas las cuales se incluyen dentro de la clase de las «pastas»
	Recuento de aerobias en placa Grupo de coliformes	10 ³ -10 ⁵ /g 0-10 ³ /g	
	Mohos & levaduras	10 ² -10 ⁵ /g	
Mezclas de cereales secos	Mohos	10 ² -10 ⁵ /g	
	Levaduras y hongos levaduriformes	10 ³ -10 ⁵ /g	
	Bacterias		
	Recuento de aerobias en placa Grupo de coliformes	10 ³ -10 ⁶ /g 0-10 ⁴ /g	

Tabla basada en las pruebas «de rutina» para el control de la calidad que se realizan en los distintos alimentos de una determinada clase; los datos representan la experiencia de un gran número de industrias alimentarias; los datos figuran en la Tabla como «órdenes de magnitud» con fines ilustrativos únicamente.

Fuente: Resumen de Hobbs y Greene (1964).

Tabla 11.2. Distribución de la aflatoxina B₁ en las diversas fracciones del maíz.

U.S. n°	Tipo de maíz*	Peso de la muestra analizada k g	Cantidad total de la aflatoxina B ₁ en la muestra P.p.b.	BCFM ^b		Granos y trozos fluorescentes ^c		Fluorescencia ^d visible por debajo de la envoltura de la semilla		Granos de color natural y granos dañados		Granos aparentemente sanos		Origen
				Aflatoxina B ₁ P.p.b. ^e	Total %	Aflatoxina B ₁ P.p.b.	Total %	Aflatoxina B ₁ P.p.b.	Total %	Aflatoxina B ₁ P.p.b.	Total %			
1	W	2.0	88	<1	10	11	59	67	10	11	9	10	Ariz.	
3	Y	1.0	144	2	7	5	51	35	51	35	33	23	S.C.	
3	W	2.0	150	8	5	32	38	25	47	31	25	17	Mo.	
4	W	2.0	116	7	6	30	27	23	16	14	36	31	Tex.	
4	W	2.0	132	14	11	27	33	25	37	28	21	16	Tex.	
5	Y	1.0	276	8	3	59	95	34	70	25	44	16	Mo.	
	Muestra		61	2	7	11	15	24	2	3	35	57	Va.	
	Grado	2.0	61	48	79	5	5	8	3	5	2	3	S.C.	
	Grado	2.1	145	4	3	32	33	23	29	20	47	32	Ala.	
	Grado	2.0	321	10	3	37	123	38	21	6	130	40	Mo.	
	Promedio			12	12	16	31			19		25		

*W = Blanco; Y = Amarillo.

^bP.p.b. del peso total de muestra

^cBCFM = granos de maíz paridos-partículas extrañas.

^dFluorescencia BGY (azul-verde-amarilla) a la luz ultravioleta (365 nm.)

Fuente: Showell y otros (1974).

n. del T.: Ariz. = Arizona; S.C. = Carolina del Sur; Mo. = Missouri; Tex. = Texas; Va. = Virginia; Ala. = Alabama.

CONSERVACION

La mayoría de los cereales y sus productos derivados tienen una a_w tan reducida, que resulta poco difícil evitar la multiplicación de los microorganismos con tal de que estos alimentos se guarden en almacenes secos. Estos alimentos se almacenan a granel o en contenedores que impiden la entrada de insectos, los protegen contra el fuego e impiden los cambios bruscos de temperatura y, por lo tanto, que su humedad aumente. Para los alimentos secos se recomienda una temperatura de almacenamiento alrededor de 4,4 a 7,2°C. Algunos productos de panadería, por ejemplo las piezas de pan, los bollos, las tortas, las pastas, las empanadas, y las mezclas enlatadas, contienen la suficiente humedad como para estar expuestas a alteraciones, a no ser que se empleen procedimientos especiales para conservarlos o que la rotación de existencias sea rápida.

ASEPSIA

De igual forma que en otras industrias alimentarias, la limpieza e higienización apropiadas del equipo son indispensables tanto por razones sanitarias como para conseguir la conservación de los alimentos. Es posible que las bacterias que producen la viscosidad del pan y las productoras de ácido que agrian las masas de panadería, procedan de un equipo incorrectamente higienizado. El pan, las tortas, y otros productos de panadería que pueden estar expuestos a las alteraciones por mohos, se deben proteger de la contaminación por esporas de mohos. La protección del pan tiene una importancia extraordinaria. El pan sale del horno desprovisto de esporas de mohos vivas, y de aquí que se deba enfriar inmediatamente en una atmósfera que no las contenga, cortarlo con cuchillas desprovistas de esporas y envolverlo sin tardanza.

EMPLEO DE CALOR

Los productos de panadería se pueden vender sin cocer, parcialmente cocidos, o totalmente cocidos. La cocción total normalmente destruye todas las células bacterianas, las levaduras y las esporas de los mohos, pero no destruye las esporas de las bacterias que producen viscosidad ni las de otras bacterias; incluso se ha dicho que las esporas de mohos existentes en los paños que se utilizan en las panaderías para cubrir la masa del pan mientras fermenta, son capaces de

adquirir un grado de termorresistencia suficiente para resistir la cocción. Los productos de panadería crudos o parcialmente horneados se suelen tener poco tiempo en la estantería de venta al por menor, o se guardan bajo refrigeración si se tienen que tener almacenados durante más tiempo. Algunos tipos especiales de pan, por ejemplo el pan moreno de Boston y el pan de nueces, se han enlatado con buenos resultados.

EMPLEO DE TEMPERATURAS BAJAS

Si bien es posible que las personas que elaboran productos de panadería en su propia casa empleen las temperaturas ambientales para guardarlos durante poco tiempo, podrían prolongar su tiempo de conservación y disminuir el riesgo de intoxicaciones alimentarias si evitasen las temperaturas realmente elevadas, como son las que existen en las cocinas calurosas o las que se dan en la época de verano, y guardasen este tipo de alimentos en un lugar fresco o incluso en la nevera.

El almacenamiento bajo refrigeración de los productos de panadería está en auge. Los productos de panadería crudos o parcialmente horneados, los barquillos, las tartas de queso, las tartas de helado, y las empanadas de pescado, de ave, y de carne, se suelen congelar. El pan y los bollos se pueden conservar congelados durante meses sin que se alteren.

EMPLEO DE CONSERVADORES QUIMICOS

Es posible que los granos de cereales se almacenen con un contenido de humedad relativamente elevado porque existen escasas posibilidades para desecarlos o porque el tiempo es lluvioso. En el maíz que se almacena con un exceso de humedad, con un porcentaje del 20 por cien por ejemplo, pueden crecer mohos y es posible que éstos elaboren micotoxinas. Por su eficacia para impedir el crecimiento de los mohos y la producción de micotoxinas, además de emplearse insecticidas y fumigantes, se ha concedido valor al amoníaco y al ácido propiónico. El amoníaco (al 2 %) y el ácido propiónico (al 1 %) reducen la multiplicación de los mohos en el maíz con un porcentaje de humedad elevado.

En el pan, en los bollos, en las tortas, y en otros productos de panadería, se han empleado muchos conservadores, sobre todo como inhibidores de los mohos. Se emplean mucho como conservadores los propionatos sódico y cálcico, el diacetato sódico y los sorbatos. Con el fin de luchar contra la viscosidad del pan se ha recurrido a la acidificación de la masa con ácido acético.

EMPLEO DE RADIACIONES

En las panaderías, se han utilizado los rayos ultravioleta para destruir las esporas de mohos o para reducir su número en la masa y en las cámaras de fermentación, en las cuchillas de las máquinas que cortan el pan a rebanadas, en el local donde se envasa el pan, y en la superficie del pan, de las tortas, y de los demás productos de panadería. Se ha señalado que se han empleado las radiaciones de la frecuencia de la radio para irradiar las rebanadas de pan con el fin de reducir la posibilidad de que los mohos las alteren, mientras que las radiaciones ionizantes, los rayos gamma, y los rayos catódicos se han utilizado de forma experimental en la conservación de los productos de panadería. Para exterminar los insectos de los granos de cereales almacenados también se pueden emplear dosis bajas de radiaciones.

ALTERACION

Los granos de cereales, los cereales molidos, y las harinas obtenidas de los mismos, no deben estar expuestos a la alteración microbiana si se acondicionan y se almacenan convenientemente, ya que su contenido de humedad es demasiado escaso para que incluso los mohos sean capaces de crecer en estos alimentos. No obstante, si estos alimentos adquieren un grado de humedad superior al mínimo necesario para que tenga lugar el crecimiento de microorganismos, éstos crecerán a continuación. Un pequeño aumento de su humedad sólo permitirá el crecimiento de mohos, pero un aumento mayor de la misma permitirá que crezcan levaduras y bacterias.

A pesar de que es posible que la carga microbiana de los granos de cereales, de los cereales molidos, y de las harinas no represente en sí un problema de alteración, tanto la cantidad como el tipo de microorganismos existentes en estos alimentos son importantes, ya que se emplean en las fórmulas de otros muchos. El aporte a los alimentos útiles de microorganismos existentes en los granos de cereales y en sus harinas es un tema importante tanto desde el punto de vista de la salud pública como por constituir un posible origen de agentes capaces de alterarlos.

GRANOS DE CEREALES Y SUS HARINAS

Puesto que los granos de cereales y sus harinas no se someten a tratamiento alguno para reducir de forma importante su flora microbiana intrínseca, es

probable que contengan mohos, levaduras y bacterias, dispuestos a multiplicarse si su humedad aumenta suficientemente. Además de almidón, que muchos microorganismos son incapaces de utilizar, estos granos contienen algo de azúcar, compuestos nitrogenados utilizables, sales minerales y sustancias accesorias para el crecimiento¹; por otra parte, si los granos se humedecen, las amilasas liberarán más azúcar y las proteinasas producirán más nutrientes nitrogenados utilizables. Un pequeño aumento de su humedad dará lugar a que crezcan mohos en su superficie siempre que exista el aire suficiente. Una masa de granos húmeda o una masa de harina húmeda, experimentará una fermentación ácida, producida principalmente por las bacterias lácticas y por las bacterias coliformes que normalmente existen en la superficie de las plantas. A esta fermentación le puede suceder una fermentación alcohólica producida por levaduras tan pronto como la acidez ha aumentado lo suficiente para favorecerla. Finalmente, en la parte superficial, crecerán mohos (y tal vez levaduras formadoras de película), aunque, si existen bacterias acéticas, es posible que oxiden el alcohol a ácido acético e inhiban a los mohos.

Los principales factores que intervienen en la alteración por mohos de los granos de cereales almacenados son el número de microorganismos, los porcentajes de humedad superiores al 12 a 13 por cien, la existencia de lesiones físicas, y la temperatura. Son muchos los distintos mohos que alteran los granos de cereales y sus harinas, aunque los más corrientes son las especies de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus* y *Fusarium*. Según se ha indicado anteriormente, muchos de estos mohos son capaces de elaborar micotoxinas. Los granos alterados por mohos representan una posible amenaza para la salud, tanto para la de las personas como para la de los animales.

HARINAS

Tanto la limpieza en seco y el lavado de los granos de cereales, como la molienda y tamizado de la harina reducen el número de microorganismos, si bien en las harinas integrales, por ejemplo, las harinas integrales de trigo y de alforfón², todavía se encuentran las especies importantes, razón por la cual la alteración de las harinas sería parecida a la descrita al tratar de los granos de cereales y de sus harinas.

La harina blanca de trigo, no obstante, se suele blanquear tratándola con un agente oxidante, por ejemplo con un óxido de nitrógeno, con cloro, con cloruro de

¹N. del T.: Vitaminas.

²N. del T.: El alforfón o trigo sarraceno es una planta poligonácea cuyas semillas, de forma tetraédrica y color negruzco, se emplean como alimento para el ganado y para obtener harina con la cual se puede fabricar pan.

nitrosilo, o con peróxido de benzoflo, siendo esta la razón de que este tipo de tratamiento sirva para reducir tanto el número de especies microbianas como el número total de microorganismos existentes en la misma. Se ha indicado que un grado de humedad de la harina inferior al 13 por cien inhibe el crecimiento de todos los microorganismos. Según señalan otros autores, un porcentaje de humedad del 15 por cien permite el adecuado crecimiento de los mohos, mientras que los porcentajes superiores al 17 por cien permiten el crecimiento tanto de los mohos como de las bacterias. Por consiguiente, una ligera humectación de la harina blanca traerá consigo su alteración por mohos. Como consecuencia de la variabilidad de la carga microbiana de los distintos lotes de harina, resulta difícil predecir qué tipo de alteración tendrá lugar en una determinada pasta de harina. Si en la harina existen bacterias acidificantes, se inicia una fermentación ácida, seguida de una fermentación alcohólica por levaduras, en el caso de que existan en la harina, y a continuación tiene lugar una fermentación acética por especies del género *Acetobacter*. Sería más probable que ocurriesen esta serie de cambios en la harina recién molida que no en la harina que ha permanecido almacenada durante mucho tiempo y en la que, por lo tanto, han disminuido tanto el número de especies como el número total de microorganismos. Si en la harina no existen ni bacterias lácticas ni bacterias coliformes, se han encontrado micrococos que acidifican la pasta, y, en su defecto, es posible que crezcan especies del género *Bacillus* que producen ácido láctico, gas, alcohol, acetoína, y pequeñas cantidades de ésteres y de otros compuestos aromáticos. Es típico de las pastas de harina que desprendan olor a ácido acético y a ésteres.

PAN

Las fermentaciones que tienen lugar en la masa de los distintas clases de pan se tratarán en el Capítulo 22 en el que se señalará que algunas modificaciones ocasionadas por los microorganismos son beneficiosas e incluso necesarias en la elaboración de ciertas clases de pan. La fermentación ácida por bacterias lácticas y coliformes que es normal en las pastas o en las masas de harina, es posible que sea demasiado intensa si se deja que prosiga durante un tiempo excesivo, y, como consecuencia de ello, que tanto la masa como el pan elaborado con ella sean excesivamente «agrios». La excesiva multiplicación de las bacterias proteolíticas durante la fase de fermentación puede anular parte de la capacidad de retención de los gases, tan esencial para la subida de la masa, y, como consecuencia de ello, dar lugar a una masa pegajosa. Las masas pegajosas, no obstante, suelen ser consecuencia de que se ha trabajado excesivamente la masa o de la destrucción del gluten por agentes oxidantes, por ejemplo por el glutatión. También existe la posibilidad de que, además del sabor agrio, los microorganismos comuniquen a la masa del pan otros sabores desagradables.

Desde el punto de vista histórico, los principales tipos de alteraciones microbianas del pan, una vez cocido, han sido el enmohecimiento y la viscosidad, habitualmente conocidas como «pan florecido» y «pan viscoso».

Enmohecimiento

Los mohos constituyen la causa más común y, por consiguiente la más importante, de la alteración del pan y de la mayoría de los productos de panadería. Las temperaturas que se alcanzan durante la cocción suelen ser lo suficientemente elevadas como para que destruyan todas las esporas de mohos tanto en el interior como en la superficie de las hogazas, de forma que los mohos que ocasionan el enmohecimiento deben llegar a la superficie de las mismas o penetrar en su interior después de la cocción. Los mohos pueden proceder del aire durante la fase de enfriamiento y, posteriormente, de la manipulación o de las envolturas, solándose iniciar su crecimiento en la corteza de las hogazas y entre las rebanadas del pan cortado.

Los principales mohos que intervienen en esta alteración del pan son: el denominado moho del pan, *Rhizopus stolonifer* (sinónimo, *R. nigricans*), cuyo micelio es de color blanco y de aspecto algodonoso y posee un moteado negro correspondiente a los esporangios; *Penicillium expansum* o *P. stoloniferum*, cuyas esporas son de color verde; *Aspergillus niger* (Figura 11.1), cuyas cabezas conidiales tienen un color desde pardo-verdoso, o pardo con un tinte morado, a negro, y que produce un pigmento amarillo que difunde en el pan; y *Monilia* (*Neurospora sitophila*) cuyos conidios de color rosado confieren un tono rosado o rojizo a su micelio. También pueden crecer especies de los géneros *Mucor* y *Geotrichum* o cualquiera de las numerosas especies de otros géneros de mohos. Facilitan el enmohecimiento del pan: (1) la abundante contaminación después de la cocción, debida, por ejemplo, a que el aire contiene una gran cantidad de esporas de mohos, a un tiempo de enfriamiento prolongado, a la existencia de corrientes de aire intensas, o a que la máquina que se emplea para cortar el pan está sucia, (2) la operación de cortarlo a rebanadas, en el sentido de que se introduce más aire en la hogaza, (3) la operación de envolverlo, sobre todo si el pan está caliente cuando se envuelve, y (4) el hecho de almacenarlo en un local caliente y húmedo. En una atmósfera con humedad relativa inferior al 90 por cien, en la corteza del pan existe un reducido crecimiento de mohos que tiene importancia comercial. El pan al que se le ha añadido un 6 por cien de sólidos de la leche retiene la humedad algo mejor que el pan elaborado sin leche, y, por consiguiente, entre la rebanada de pan y su envoltura existe menor cantidad de humedad, razón por la cual este tipo de pan se enmohece con menor frecuencia, aunque el efecto de tal adición no llega a ser tanto como para que tenga mucha importancia práctica. El enmohecimiento suele iniciarse en el espesor de las rebanadas de pan cortado, lugar en el que existe mayor humedad que en la superficie, sobre todo si se compara con la existente en la corteza.



Figura 11.1. Crecimiento de un moho (*Aspergillus*) sobre corteza de pan (*Fleischmann Laboratories, Standard Brands Incorporated*).

Para evitar el enmohecimiento del pan se emplean varios procedimientos:

- 1 *Evitar en lo posible la contaminación del pan con esporas de mohos. Se mantiene con un bajo contenido de esporas el aire del entorno del pan eliminando los posibles focos de multiplicación de estos microorganismos, como por ejemplo el pan devuelto o los focos de multiplicación existentes en las paredes y en el equipo. Al polvo de harina cargado de esporas procedente de otras zonas de la panadería se le ha achacado el aumento del número de casos de enmohecimiento del pan. La filtración y la purificación por lavado del aire del local donde se almacena el pan y la irradiación de este local, y concretamente del aire del mismo, tratándolo con rayos ultravioleta, eliminan la contaminación.*
- 2 *Enfriamiento rápido y apropiado de las hogazas antes de envolverlas, con el fin de reducir la condensación de humedad por debajo de la envoltura.*
- 3 *Irradiación con rayos ultravioleta de la superficie de las piezas de pan y de las cuchillas que se emplean para cortarlo a rebanadas.*
- 4 *Dstrucción de los mohos de la superficie del pan mediante calentamiento electrónico.*
- 5 *Mantenimiento del pan bajo refrigeración con el fin de retardar el crecimiento de los mohos, o congelación del mismo manteniéndolo congelado con el fin de inhibir totalmente el crecimiento de estos microorganismos.*

6 *Adición a la masa de pan de alguna sustancia química de acción micostática.* Los agentes micostáticos más corrientemente empleados en la actualidad son los propionatos sódico y cálcico en la proporción del 0,1 y del 0,3 por cien, respectivamente, en relación con el peso de la harina, tratamiento que también es eficaz para evitar que aparezca viscosidad en el pan. También se emplean, como micostáticos, el ácido sórbico, a una concentración máxima del 0,1 por cien, y el diacetato sódico, a una concentración máxima del 0,32 por cien. Un recurso antiguo para inhibir el crecimiento de los mohos consistía en añadir vinagre o acetato a la masa, o en tratar con vinagre la superficie externa de las piezas de pan.

Viscosidad

La viscosidad del pan es bastante corriente en el que se elabora en las casas particulares, sobre todo en las épocas calurosas, aunque es rara en el pan fabricado a escala industrial como consecuencia de las medidas preventivas que se emplean en la actualidad. La viscosidad es originada por una variedad mucoide

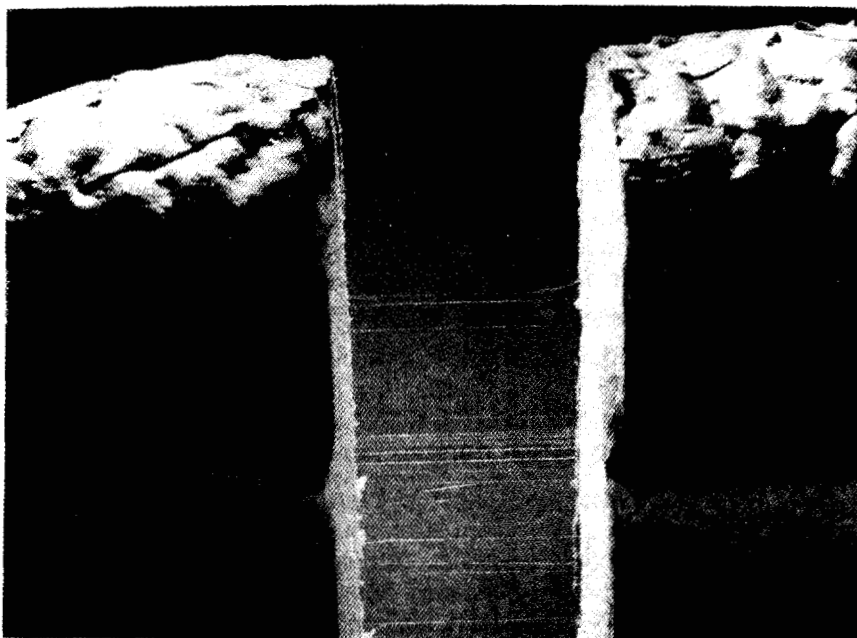


Figura 11.2. Pan viscoso en el que se puede observar la sustancia capsular filamentososa que se extiende entre las dos mitades de la hogaza. (*Fleischman Laboratories, Standard Brands Incorporated*).

de *Bacillus subtilis* o de *B. licheniformis*, designada antiguamente con las denominaciones específicas de *B. mesentericus**, *B. panis**, o con otras denominaciones. Las esporas de estas especies son capaces de resistir la temperatura que alcanza el pan durante su cocción, la cual no sobrepasa los 100 °C, y son capaces de germinar en el interior de las piezas de pan si las condiciones allí existentes son propicias para ello. Parece ser que la viscosidad es consecuencia de la formación de cápsulas por parte de los citados bacilos, unida a la hidrólisis de las proteínas (gluten) de la harina, llevada a cabo por la actividad de las proteinasas microbianas, y a la hidrólisis del almidón para dar azúcares que refuerzan la formación de viscosidad. La zona viscosa es de un color variable desde amarillo a pardo y es blanda y pegajosa al tacto. Hay una fase en la que, al cortar el pan y separar las rebanadas, se puede extraer la miga de pan viscosa formando largos filamentos (Figura 11.2). Es difícil definir el olor desagradable que desprende el pan viscoso, aunque se ha comparado al de los melones podridos o excesivamente maduros. Al principio el olor es notorio, a continuación la miga cambia de color, y finalmente se ablanda convirtiéndose en pegajosa y filamentosa.

En la segunda edición de esta obra (Frazier, 1967) se puede encontrar una revisión completa tanto de las causas que favorecen la formación de la viscosidad en el pan como de los procedimientos que se emplean para evitar su aparición.

Pan rojo

El pan rojo o «sanguinolento» tiene un aspecto llamativo, aunque este tipo de alteración se presenta rara vez. El color rojo es consecuencia del crecimiento de bacterias que producen pigmentos, generalmente *Serratia marcescens*, microorganismo que con frecuencia presenta un color rojo intenso cuando crece en la superficie de los alimentos amiláceos. Antiguamente era considerado milagroso este misterioso aspecto que le confiere al pan la aparición de manchas rojas que parecen gotas de sangre. Para que se dé este fenómeno es necesaria la contaminación fortuita del pan con los microorganismos que producen el pigmento rojo y un porcentaje de humedad extraordinariamente elevado para que sea estimulada su multiplicación. Los mohos citados anteriormente, como por ejemplo la especie *Monilia (Neurospora) sitophila*, pueden comunicar al pan un color cuya tonalidad varía desde rosa a roja. En la miga del pan moreno a veces ha aparecido un color rojo debido al crecimiento de *Geotrichum aurantiacum* (sinónimo, *Oidium aurantiacum*).

Pan yesoso

El pan yesoso, alteración también poco corriente, se denomina de esta forma debido a la presencia en el pan de manchas de color blanco parecidas a yeso. Este defecto se ha atribuido al crecimiento de las especies de hongos levaduriformes *Endomycopsis fibuligera* y *Trichosporon variable*.

TORTAS Y PRODUCTOS DE PANADERIA

Los mohos son los principales agentes causales de las alteraciones microbianas de las tortas y demás productos de panadería, ya que el tratamiento normal de cocción a que se someten estos alimentos destruye gran parte de su microflora inicial. Los procedimientos que se emplean para evitar su contaminación son parecidos a los que se han expuesto anteriormente al tratar del pan. La microbiología de estos alimentos se complica más cuando se recubren con una capa de clara de huevo batida con azúcar o con frutas, o cuando se rellenan con crema, con sucedáneos de nata, o con embutidos. En comparación con la porción realmente cocida de estos alimentos, las coberturas y los rellenos suelen ser más propensos a experimentar alteraciones microbianas. No es raro que en los rellenos de algunos productos de panadería exista crecimiento de microorganismos.

PASTA, MACARRONES Y TAPIOCA

El término pasta se emplea aquí para designar a las pastas elaboradas con huevo que generalmente contienen harina, agua y huevos. La pasta se expende y se guarda seca; por consiguiente, rara vez se han descrito casos de alteración de estos alimentos.

Los macarrones suelen contener sólo harina, agua y otros nutrientes. Se ha señalado que la hinchazón de los macarrones húmedos se debe a la producción de gas por bacterias parecidas a *Enterobacter cloacae*. Durante el secado de los macarrones sobre papel se ha encontrado un moho del género *Monilia* responsable de las franjas de color morado que aparecen en las zonas donde contactan con el papel. No obstante, a pesar de que la fase de secado de los macarrones es larga y su secado es lento, la aparición de los citados defectos no es frecuente.

La tapioca, que se prepara con el almidón de la raíz de la mandioca, se alterará si se humedece. Se ha descrito una alteración de este alimento producida por una bacteria que produce un pigmento de color naranja, capaz de hidrolizar el almidón.

CEREALES PARA DESAYUNOS Y TENTEMPYES A BASE DE CEREALES

Según Hobbs y Green (1984), son tres los procedimientos básicos en la fabricación de cereales para desayunos: Este tipo de alimentos se fabrican en forma de escamas, se esponjan, o se fabrican empleando presión. En las primeras fases

de su fabricación, estos alimentos contienen gran cantidad de humedad y, por lo tanto, es posible que en los mismos exista crecimiento microbiano. No obstante, en su estado definitivo suelen ser alimentos que dan recuentos totales bajos (Tabla 11.1).

MASAS PREPARADAS

Una gran cantidad de alimentos existentes para su venta al por menor son fundamentalmente masas de panadería elaboradas, refrigeradas o congeladas. Estos útiles alimentos pueden contener un inóculo a base de una levadura o de una bacteria láctica. Su grado de contaminación y la consiguiente calidad microbiológica serán consecuencia directa tanto de la calidad de los ingredientes empleados como de las prácticas higiénicas utilizadas durante su fabricación. Es posible que el número de microorganismos de estas masas preparadas (Tabla 11.1) aumente mientras permanecen almacenadas bajo refrigeración hasta tanto no son sometidas al «tratamiento térmico» definitivo a nivel de consumidor.

BIBLIOGRAFIA

- Anonymous. 1937. Rope and mold. Standard Brands, Inc., New York.
- Bothast, R. J., F. F. Rogers, and C. W. Hesseltine. 1974. Microbiology of corn and dry milled products. *Cereal Chem.* 51:829-831.
- Bullerman, L. B., J. M. Baca, and W. T. Stott. 1975. An evaluation of potential mycotoxin-producing molds in corn meal. *Cereal Foods World.* 20:248-253.
- Cathcart, W. H. 1951. Baking and bakery products, chap. 26: *In* M. B. Jacobs (ed.), *The chemistry and technology of food and food products*. 2d ed. Interscience Publishers (Division of John Wiley & Sons, Inc.), New York.
- Christensen, C. M., and H. H. Kaufmann. 1965. Deterioration of stored grains by fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.* 3:69-84.
- Elliot, R. P. 1980. Cereals and cereal products. *In* J. H. Silliker, et al. (eds.), *Microbial ecology of foods*. Volume II. Food commodities. Academic Press, Inc., New York.
- Frazier, W. C. 1967. *Food microbiology*. 2d ed. McGraw-Hill Book Co., New York.
- Glabe, E. F. 1942. Preventing spoilage by mold and bacteria. *Food Ind.* 14(2):46-48.
- Heath, B. 1947. Dehydrated foods and microorganisms. *Aust. Food Manuf.* 16(12): July 5.
- Hesseltine, C. W., and R. R. Graves. 1963. Microbiological research on wheat and flour, pp. 170-199. 2d Natl. Conf. Wheat Util. Res., Peoria, Ill., North. Util. Res. Dev. Div., USDA.
- Hobbs, W. E., and V. W. Greene. 1984. Cereal and cereal products. *In* M. L. Speck (ed.), *compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 2d ed. American Public Health Association.

- James, N., and A. R. Lejeune. 1952. Microflora and the heating of damp, stored wheat. *Can. J. Bot.* 30:1-8.
- James, N., and K. N. Smith. 1948. Studies on the microflora of flour. *Can. J. Res.* 26C: 479-484.
- Kent-Jones, D. W. 1937. Flour spoilage. *Analyst.* 62:649-653.
- Knight, R. A., and E. M. Menlove. 1961. Effect of the bread-baking process on destruction of certain mould spores. *J. Sci. Food Agr.* 12:653-656.
- Matz, S. A. (ed.). 1972. *Baking technology and engineering.* AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Miller, F. W., Jr. 1942. *The story of mold and rope.* E. I. du Pont de Nemours & Co., Inc., Wilmington, Del.
- Pyler, E. J. 1952. *Baking science and technology,* 2 vols. Seibel Publishing Co., Chicago.
- Qasem, S. A., and C. M. Christensen. 1958. Influence of moisture content, temperature, and time on the deterioration of stored corn by fungi. *Phytopathology.* 48: 544-549.
- Russ, J. J., W. R. Reeder, and D. W. Hatch. 1961. A rapid bacteriological method for predicting ropiness in bread. *Cereal Sci.* 6:89-91.
- Shotwell, O. L., M. L. Goulden, and C. W. Hesseltine. 1974. Aflatoxin: distribution in contaminated corn. *Cereal Chem.* 51:492-500.
- Shotwell, O. L., C. W. Hesseltine, and M. L. Goulden. 1973. Incidence of aflatoxin in southern corn. *Cereal Sci. Today.* 18:192-197.
- Spicher, G. 1959. Sur la microflora des cereales. *Meun. Fr.* 148:23-30.
- Tanner, F.W. 1944. *Microbiology of foods.* Ind. ed. The Garrard Press, Champaign, Ill.
- Vandergraft, E. E., C. W. Hesseltine, and O. L. Shotwell. 1975. Grain preservatives: Effect on aflatoxin and ochratoxin production. *Cereal Chem.* 52:79-84.
- Vojnovich, C., V. F. Pfeifer, and E. L. Griffin. 1970. Reducing microbial populations in

00126

Contaminación, conservación y alteración de los azúcares y de los productos azucarados

Los productos azucarados que se revisan en este Capítulo incluyen la sacarosa (azúcar de caña y azúcar de remolacha), las melazas, los jarabes, la savia y el jarabe de meple, la miel y los alimentos dulces.

CONTAMINACION

SACAROSA

El jugo* extraído de la caña de azúcar puede llegar a contener un elevado número de microorganismos, a no ser que se trate inmediatamente una vez extraído. Los microorganismos en cuestión son los propios de la caña azucarera y los existentes en la tierra que la ensucia y, por consiguiente, incluyen microorganismos que producen mucílago, como por ejemplo, algunas especies de los géneros *Leuconostoc* y *Bacillus*; especies de los géneros *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, *Erwinia* y *Enterobacter*; varias levaduras, principalmente de los géneros *Saccharomyces*, *Candida* y *Pichia*; y algunos mohos (Tabla 12.1). Gran parte de la contaminación puede tener origen en los restos o en las partículas de pequeño tamaño que quedan en las

*N. del T.: Al jugo de la caña de azúcar (cane juice) se le conoce con el nombre de guarapo.

Tabla 12.1 Perfil microbiológico de la caña azucarera, del guarapo, del azúcar bruto* y de la sacarosa.

<i>Producto</i>	<i>Microorganismos existentes</i>	<i>Oscilación cuantitativa aproximada</i>
Caña de azúcar	Bacterias	10 ² -10 ⁸ /g
	<i>Enterobacter</i>	
	<i>Leuconostoc</i>	
	<i>Flavobacterium</i>	
	<i>Xanthomonas</i>	
	<i>Bacillus</i>	
	<i>Erwinia</i>	
	<i>Pseudomonas</i>	
	Mohos	10 ² -10 ⁴ /g
	Levaduras	10 ² -10 ⁴ /g
Guarapo	Bacterias, las citadas antes y además	10 ⁴ -10 ⁸ /g
	<i>Micrococcus</i>	
	<i>Lactobacillus</i>	
	<i>Actinomyces</i>	
	Mohos	
	<i>Aspergillus</i>	
	<i>Cladosporium</i>	
	<i>Monilia</i>	
	<i>Penicillium</i>	
	Levaduras	
	<i>Saccharomyces</i>	
	<i>Candida</i>	
	<i>Pichia</i>	
<i>Torulopsis</i>		
Azúcar bruto	Bacterias	10 ² -10 ⁴ /g
	<i>Bacillus</i>	
	<i>Clostridium</i>	
	<i>Desulfotomaculum</i>	
	Mohos osmófilos	
	<i>Aspergillus</i>	
	<i>Penicillium</i>	
	Levaduras osmófilas	
<i>Hansenula</i>		
<i>Pichia</i>		
<i>Saccharomyces</i>		
Sacarosa	Bacterias	10 ¹ -10 ² /g
	Principalmente esporógenas, en caso de que las contenga, y una mínima cantidad de levaduras y mohos	

*N. del T.: Al azúcar bruto (raw sugar) se le conoce también como azúcar mascabado.

paredes o en las soldaduras de las bateas que se emplean en la planta industrial. Si los microorganismos se multiplican, cualquiera que sea la importancia de esta multiplicación, puede tener lugar la inversión de la sacarosa e incluso la destrucción del azúcar. Los microorganismos mantienen su actividad desde que se corta la caña azucarera pasando por la fase de extracción del jugo, hasta la clarificación de éste, tratamiento que destruye las levaduras y las células vegetativas de las bacterias. Después de su clarificación, en el jugo sigue habiendo esporas bacterianas, las cuales tampoco son destruidas por ninguno de los posteriores tratamientos de sedimentación, filtración, evaporación, cristalización, y centrifugación, y si bien es posible que los citados tratamientos reduzcan su número, el equipo puede añadir esporas de microorganismos termófilos. El ensacado del azúcar bruto también puede añadir algunos microorganismos. Durante el refinado del azúcar bruto, la contaminación puede tener origen en el equipo, y, finalmente, durante el ensacado del azúcar refinado también se añaden microorganismos.

En la fabricación de azúcar de remolacha, después de lavar las raíces para eliminar de las mismas los restos de tierra, se cortan en rodajas finas, de las que se extrae el azúcar mediante un tratamiento de difusión a una temperatura comprendida entre 60 y 85 °C. El origen de la contaminación del azúcar de remolacha son las aguas de los canales de descarga y las aguas de la serie de tanques de difusión. En estas últimas aguas, es posible que se multipliquen microorganismos termófilos a temperaturas que incluso pueden alcanzar 70 °C. El azúcar de remolacha también se puede contaminar al refinarlo y al ensacarlo. Casi todo el azúcar granulado que existe hoy día en el comercio contiene muy pocos microorganismos, ya que contiene desde unos pocos a varios cientos por gramo, en su mayor parte esporas bacterianas.

MIEL DE MEPLÉ*

La savia contenida en los haces vasculares del meple azucarero es estéril o prácticamente estéril, pero se puede contaminar a partir de fuentes externas de contaminación en los orificios que se practican en el tronco del árbol para extraerla, o ser contaminada por los canalones colectores, por los tubos de plástico, y por los recipientes que se emplean para recogerla. En la savia puede crecer una importante población de levaduras y bacterias si antes de extraerla de los árboles se presenta una temporada de calor moderado.

*N. del T.: Este alimento dulce, conocido también con la denominación de «guarapo de meple», se consume en América del Norte; se obtiene a partir de la savia de la especie arbórea *Acer saccharinum*. El género *Acer* contiene también especies muy apreciadas por su madera, que se utilizan en ebanistería, y otras que se cultivan como ornamentales por los vivos coloridos de sus hojas (amarillo oro o rojo vivo), como es el caso de las especies *A. negundo* y *A. palmatum*.

Los microorganismos que llegan a la savia durante el tiempo que media entre su salida del árbol y el momento de someterla a ebullición para concentrarla, son principalmente bacilos gramnegativos psicrótrofos pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, y *Flavobacterium*, además de levaduras y mohos. Con el fin de inhibir la multiplicación de los microorganismos al interrumpirse la salida de savia, se introducen gránulos de paraformaldehído en los orificios practicados en el tronco de los árboles para extraerla. En aquellos lugares en los que los meples están expuestos a una contaminación debida al polvo y al viento fuera de lo corriente, la recogida de la savia mediante un sistema de tubos de plástico reduce la contaminación por bacterias. No obstante, en una plantación de meples perfectamente controlada, la carga bacteriana de la savia recogida por medio de tubos no se diferencia mucho de la de aquélla que se ha recogido utilizando un cubo para cada árbol. Los tanques que se emplean como colectores de la producción de la plantación, generalmente móviles, se deben limpiar y desinfectar periódicamente con el fin de evitar que, en el momento de entrar en el evaporador, la savia no tenga una carga bacteriana elevada. En la savia, los recuentos del número de bacterias suelen ser inferiores a 10.000 por mililitro, aunque pueden dar cifras más elevadas debido a que cerca del final de la temporada de su recolección las temperaturas son más altas, o a que las medidas higiénicas adoptadas no son las apropiadas.

MIEL

Los microorganismos de la miel proceden principalmente del néctar de las flores y de las abejas obreras. Se ha demostrado que las levaduras que contiene proceden tanto del néctar como del contenido intestinal de las abejas; las bacterias también tienen la última de las procedencias citadas. En la miel rara vez se encuentran estafilococos ni bacterias entéricas. Los aislamientos habituales suelen ser levaduras acidófilas y levaduras glucolíticas, las cuales son capaces de alterar este alimento. Se ha comprobado que la miel contiene lisozima, enzima que ejerce una acción bacteriostática y también una acción lítica sobre la mayoría de las bacterias grampositivas. En apicultura es muy frecuente emplear antibióticos tales como la neomicina y la estreptomycin, y de aquí que estos antibióticos se hayan encontrado en la miel obtenida de larvas y abejas tratadas con los mismos. No cabe duda que los vestigios de estos antibióticos en la miel influyen en la composición de su flora microbiana. En los brotes de botulismo en los niños, la miel es uno de los alimentos sospechosos de ser vehiculador de esporas de *C. botulinum* (véase el Capítulo 24). Aproximadamente el 10 por cien de las muestras de miel consideradas sospechosas que fueron investigadas, contenían esporas viables del citado microorganismo.

En una investigación realizada por Ruiz Argüeso y Rodríguez Navarro (1975), los autores indicaron que los dos principales grupos de bacterias existentes en el néctar durante la fase de maduración para convertirse en miel pertenecen a los géneros *Gluconobacter* y *Lactobacillus*.

ALIMENTOS DULCES

Los dulces procedentes de las tiendas de venta al por menor contienen desde ninguna a 2 millones de bacterias por gramo, aunque la mayoría de las piezas no contienen más que unos pocos cientos. En los alimentos dulces existen pocas bacterias coliformes. La mayoría de los microorganismos contaminantes proceden de los ingredientes que se emplean para fabricarlos, aunque es posible que tanto el aire y el polvo como las operaciones de manipulación les añadan algunos microorganismos. Desde el punto de vista microbiológico, los varios miles de tipos de dulces y golosinas existentes se pueden dividir en dos clases: (1) alimentos dulces tratados con frío y (2) alimentos dulces sometidos a tratamiento térmico. El chocolate moldeado y las coberturas de chocolate para los centros de nata están incluidos en la primera clase. Es posible que durante el tratamiento térmico las temperaturas sólo se aproximen a la temperatura de pasteurización. Los bombones duros, las jaleas, los caramelos, y los dulces de chocolate, son ejemplos de alimentos dulces de la segunda clase. La temperatura empleada en el tratamiento térmico de los alimentos pertenecientes a esta clase es variable, aunque, en general, se someten a un tratamiento térmico de mayor intensidad que el que se emplea para tratar los que se incluyen en la primera clase.

Rara vez los alimentos dulces están relacionados con brotes de intoxicaciones alimentarias, aunque se ha implicado a los bombones en casos de este tipo de intoxicaciones. Parece ser que se trata de un problema que se presenta en las plantas de fabricación de bombones, consistente en un caso de contaminación cruzada entre las semillas de cacao sin tostar y las que ya han sido tostadas, actuando como fuentes de contaminación las semillas sin tostar o los microorganismos procedentes de las mismas existentes en el aire. Aunque no es raro que durante las operaciones del tratamiento térmico a que se somete el chocolate para fundirlo y mezclarlo con leche se alcancen temperaturas de 60 °C durante 10 horas, parece ser que el bajo contenido de humedad o la sequedad del chocolate protegen a las salmonelas frente a la acción del calor.

CONSERVACION

Lo mismo que sucede en los granos de cereales, la a_w de los azúcares tiene unos valores tan bajos que los microorganismos no son capaces de crecer en ellos. Únicamente existe cierta posibilidad de que los microorganismos los alteren en el caso de que hayan absorbido humedad. Las condiciones de almacenamien-

to deben ser las necesarias para que estén a salvo de los insectos y el azúcar se conserve seco. La recomendada para almacenarlos es parecida a la recomendada para almacenar los granos de cereales.

Tanto la caña de azúcar como la remolacha azucarera se pueden almacenar en atmósfera controlada. El crecimiento de los hongos se inhibe en una atmósfera que contenga un 6 por cien de dióxido de carbono y un 5 por cien de oxígeno.

Durante la fabricación del azúcar bruto y el posterior tratamiento de refinado, el número de microorganismos, que es posible que haya sido elevado durante la fase de extracción a partir de la caña de azúcar o de la remolacha azucarera, es reducido por casi todos los tratamientos posteriores, es decir, por la clarificación, por la evaporación, por la cristalización, por la centrifugación y por la filtración. Durante el refinado del azúcar, los conservadores químicos son útiles para reducir el número de microorganismos. Cuando el azúcar se tiene que utilizar con fines especiales, como por ejemplo para fabricar bebidas refrescantes o conservas enlatadas, se puede someter a tratamientos especiales con el fin de reducir el número y las especies de microorganismos que contiene. Durante el tratamiento se debe tener cuidado en no aumentar la resistencia tanto de los microorganismos como de las esporas, pudiendo reducirse su número mediante la irradiación con rayos ultravioleta o mediante un tratamiento combinado con calor y peróxido de hidrógeno.

Como consecuencia de su elevada concentración de azúcar y su escasa a_w , la mayoría de los alimentos dulces no experimentan alteraciones microbianas, aunque en los rellenos blandos de los pasteles recubiertos de chocolate pueden crecer microorganismos. El resquebrajamiento del chocolate se evita mediante un revestimiento con una capa de chocolate uniforme y de bastante grosor y empleando un fundente u otro tipo de relleno que no permitirá el crecimiento de los microorganismos que producen gas.

Los jarabes y las melazas generalmente han sido sometidos previamente a un tratamiento térmico suficientemente elevado para destruir la mayoría de los microorganismos, aunque se deben almacenar a temperaturas frías con el fin de *inhibir o retardar tanto las modificaciones químicas del alimento como la multiplicación de los microorganismos*. Si bien a los jarabes y a las melazas no se les añaden conservadores, es posible que algunas melazas contengan una cantidad de dióxido de azufre suficiente para inhibir a los microorganismos, además de que en ellas el crecimiento de los microorganismos es inhibido por la elevada presión osmótica debida a la concentración de azúcar. La presión osmótica de las melazas es tanto mayor cuanto mayor es la cantidad de sacarosa invertida (hidrolizada). Se evita que crezcan hongos en la superficie de las melazas llenando totalmente los recipientes y su crecimiento se reduce mediante agitación periódica de los jarabes o de las melazas.

El tratamiento de ebullición durante la evaporación de la savia de meple para convertirla en miel de meple, destruye los microorganismos que tienen importancia como agentes capaces de alterarla. Si la miel de meple se embotella caliente y se llenan totalmente las botellas, se suele conservar perfectamente.

La miel que se distribuye localmente en pequeña escala no se suele pasteurizar, y de aquí que sea posible que pueda estar expuesta a que cristalice y a que con el tiempo pueda ser alterada por levaduras osmófilas. La miel que se vende en los establecimientos de venta al público se suele pasteurizar a una temperatura comprendida entre 71 y 77 °C durante algunos minutos. El procedimiento que se recomienda para tratar la miel consiste en calentarla con bastante rapidez a una temperatura comprendida entre 71 y 77 °C, mantenerla durante 5 minutos a la temperatura elegida, y enfriarla inmediatamente después a una temperatura comprendida entre 32,2 y 38 °C.

ALTERACION

Las alteraciones que experimentan los azúcares o las soluciones concentradas de azúcares se limitan a las originadas por microorganismos osmófilos o xerotolerantes. Determinadas levaduras, en especial las pertenecientes al género *Saccharomyces*, y determinados mohos, constituirían la principal flora causante de estas alteraciones. También se ha señalado que algunas especies de bacterias pertenecientes a los géneros *Bacillus* y *Leuconostoc* son capaces de alterar estos alimentos. Conforme disminuye la concentración de azúcar en las soluciones azucaradas, aumenta el número de especies de microorganismos capaces de crecer, de forma que es posible que la savia de meple contenga especies de microorganismos capaces de alterarla que no contendría la miel de meple.

SACAROSA

Durante la fabricación del azúcar, el jugo de la caña de azúcar, o el de la remolacha azucarera, se va purificando cada vez más para dar sacarosa, y de aquí que la concentración de azúcar que se encuentra en solución sea cada vez mayor hasta que finalmente se obtiene el azúcar cristalino y la melaza (también rica en azúcar). Cuanto mayor es el grado de purificación del jugo, tanto más pobre es como medio de cultivo para los microorganismos; cuanto más se concentra, tanto menor es el número de especies microbianas capaces de crecer en él.

Jugo bruto

El jugo bruto de la caña de azúcar, o el de la remolacha azucarera, no contiene una elevada concentración de azúcar y, en cambio, contiene gran cantidad de nu-

trientes accesorios para los microorganismos; por consiguiente, el gran número de microorganismos que contiene lo alteran fácilmente si se les concede el tiempo suficiente para ello. Hasta tanto no se clarifica, es posible que se formen una sustancia gomosa y un mucílago, por ejemplo dextrano producido por *Leuconostoc mesenteroides* o por *L. dextranicum**, y levano por especies del género *Bacillus* o, con menor frecuencia, por levaduras o por mohos.

Azúcar almacenado

En el azúcar líquido con una concentración de azúcar tan elevada, del orden de 67 a 72 grados brix, crecerán levaduras (*Saccharomyces*, *Candida*, *Rhodotorula*) y mohos que es posible que procedan del aire. La dilución de la solución de azúcar por absorción de humedad a nivel de su superficie puede dar lugar al crecimiento de microorganismos y de aquí que la solución se altere. Esta alteración se puede evitar ventilando con aire estéril filtrado la parte superior del tanque en el cual se almacena la solución o bien exponiendo la superficie de la solución a la luz de lámparas ultravioleta.

Melazas y jarabes

La alteración microbiana de las melazas no es muy corriente, aunque su esterilización mediante calor resulta difícil debido a que el azúcar ejerce una acción protectora sobre los microorganismos. Las melazas o los jarabes enlatados pueden estar expuestos a la alteración por levaduras osmófilas que resisten el tratamiento térmico. Con el tiempo, la superficie de la melaza y la del jarabe expuestos al aire, se enmohecerán, y es posible que ocurra esto mismo en la superficie del jarabe embotellado o enlatado si se deja aire en el recipiente y si su contaminación ha tenido lugar antes de cerrarlo. Algunos tipos de melazas tienen la acidez suficiente para que, tras un tiempo de almacenamiento prolongado, su volumen aumente como consecuencia del desprendimiento de hidrógeno (véase el Capítulo 19).

SAVIA Y MIEL DE MEPLA

Según ya se ha indicado anteriormente, la savia del mepla azucarero se contamina al extraerla. Si bien es posible que un moderado crecimiento microbiano mejore tanto su sabor como su color, con frecuencia la savia se encuentra sometida a la influencia de factores que favorecen el crecimiento de los microorganismos y, por consiguiente, favorecen su alteración. Se admiten cinco tipos

principales de alteración: (1) la savia viscosa o filamentosa, producida generalmente por *Enterobacter aerogenes*, aunque es posible que sea originada por algunas especies de *Leuconostoc*, (2) la savia turbia, a veces con un tinte verdoso, como consecuencia del crecimiento de *Pseudomonas fluorescens*, y de especies de los géneros *Alcaligenes* y *Flavobacterium* que contribuyen en la producción de turbiedad, (3) la savia roja, cuyo color se debe a la producción de pigmentos de color rojo elaborados por bacterias, por ejemplo, *Micrococcus roseus*, por levaduras o por hongos levaduriformes, (4) la savia agria, conjunto de una serie de tipos de alteraciones, ocasionadas por diversas especies de bacterias y de levaduras, en las que no se advierte un cambio de color manifiesto de la savia, pero que desprende un olor agrio, y (5) la savia enmohecida, alteración debida a mohos.

La miel de meple puede ser viscosa como consecuencia del crecimiento de *Enterobacter aerogenes*, espumosa como consecuencia del crecimiento de especies de levaduras del género *Saccharomyces*, tener un tinte rosado debido al pigmento que elabora *Micrococcus roseus*, o presentar enmohecimiento en su superficie, en la que es posible que crezcan especies de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, o de otros géneros de mohos. La miel de meple puede adquirir un color oscuro como consecuencia de la alcalinidad originada por las bacterias que crecen en la savia y como consecuencia de la inversión de la sacarosa.

El azúcar de meple se conserva perfectamente a no ser que se humedezca, en cuyo caso es posible que crezcan mohos.

MIEL

La composición de la miel es variable, aunque su contenido de humedad no debe ser superior al 25 por cien. Como consecuencia de su elevada concentración de azúcar, del 70 al 80 por cien, principalmente glucosa y levulosa, y de su acidez, pues su pH está comprendido entre 3,2 y 4,2, las levaduras osmófilas son la principal causa de su alteración: especies del género *Zygosaccharomyces*, por ejemplo, *Z. mellis*, *richteri* o *nussbaumeri*, o la especie *Torula* (*Cryptococcus*) *mellis*. La mayoría de los mohos no crecen bien en la miel, si bien en este alimento se han aislado especies de crecimiento lento pertenecientes a los géneros *Penicillium* y *Mucor*. En el laboratorio, la mayoría de las levaduras no crecen bien en concentraciones de azúcar tan elevadas como las que se encuentran en la miel. De aquí que se hayan propuesto distintas teorías para explicar la iniciación del crecimiento de las levaduras: (1) La miel, por ser higroscópica, se diluye en la superficie, en la que las levaduras empiezan a multiplicarse y enseguida se adaptan a las elevadas concentraciones de azúcar, (2) la cristalización del hidrato de glucosa hace descender la concentración de azúcares que se encuentran disueltos en la miel, y (3) a la larga, las levaduras se adaptan gradualmente a las

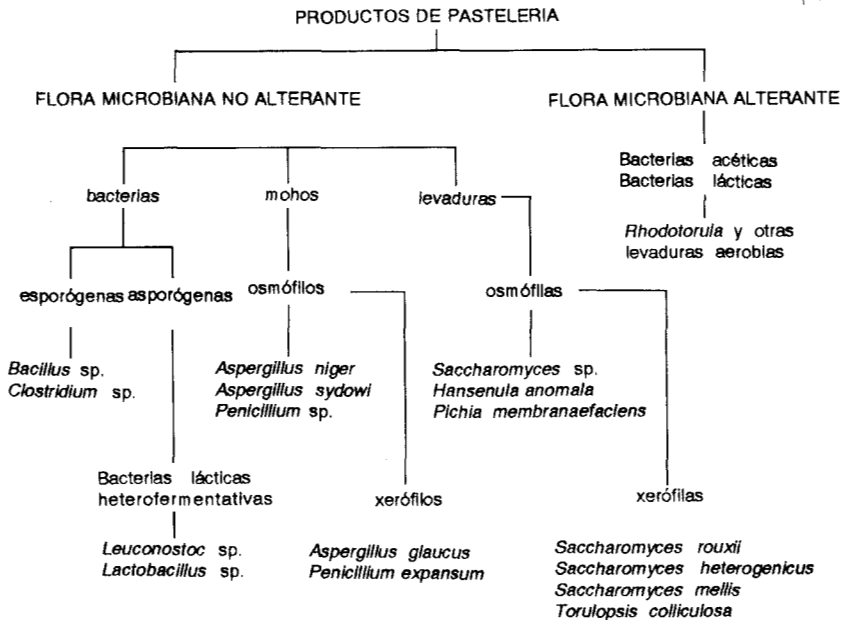


Figura 12.1 Flora microbiana que altera los productos de pastelería (Tomado de Speck, 1976.)

elevadas concentraciones de azúcar. El porcentaje de humedad crítico para que las levaduras inicien su crecimiento se ha situado en el 21 por cien. También se han citado como factores que determinan la posibilidad de que las levaduras crezcan, la cuantía de la inversión de la sacarosa a glucosa y levulosa llevada a cabo por la abejas y la cantidad de nitrógeno disponible. La fermentación de la miel por levaduras suele ser lenta, ya que dura varios meses, y los principales productos resultantes de la misma son dióxido de carbono, alcohol, y ácidos no volátiles que comunican a la miel un sabor raro. La fermentación de la miel suele ir acompañada del oscurecimiento y cristalización de este alimento.

ALIMENTOS DULCES

La mayoría de los alimentos dulces no están expuestos a la alteración microbiana debido a su contenido de azúcar relativamente elevado y a su porcentaje de humedad relativamente bajo. Se exceptúan los chocolates y bombones con centro blando de azúcar fundente o de azúcar invertido, los cuales, bajo ciertas condiciones, se resquebrajan o estallan. Las levaduras que crecen en este tipo de alimen-

tos generan una presión de gas que puede hacer pedazos todo el bombón o, con mayor frecuencia, hará salir al exterior parte del relleno blando o fundente a través de una grieta del revestimiento de chocolate. Con frecuencia esta grieta se encuentra en la parte superior donde el revestimiento de chocolate tiene menor espesor. Esta alteración se evita empleando un relleno en el que no puedan crecer los microorganismos que producen gas y recubriendo los bombones con una capa consistente de chocolate de espesor uniforme. En la Tabla 12.1 se resume la flora microbiana que produce alteraciones en algunos productos de pastelería.

BIBLIOGRAFIA

- Allen, L. A., A. H. Cooper, A. Cairns, and M. C. C. Maxwell. 1946. Microbiology of beet-sugar manufacture. *Soc. Appl. Bacteriol. Proc.* 1946:5-9.
- Cakebread, S. H. 1971. Chemistry of candy: factors in microbiological deterioration. *Manuf. Confect.* 51:45-49.
- Casey, J. A. Sanitation of sugar factories. U.S. Patent 3,694,262.
- Doolin, G. S. 1972. Quality control in the confectionery industry. *J. Milk Food Technol.* 35:424-431.
- Guerin, B., M. S. Guerin, and M. Lolier. 1972. Emploi en sucrerie d'un nouvel inhibiteur de developpements microbiens. *Sucr. Fr.* 113:203-211.
- Hayward, F. W., and C. S. Pederson. 1946. Some factors causing dark-colored maple sirup. *N.Y. State Agr. Exp. Stn. Bull.* 718.
- Hucker, G. J., and R. F. Brooks. 1942. Gas production in storage molasses. *Food Res.* 7:481-494.
- Hucker, G. J., and C. S. Pederson. 1942. A review of the microbiology of commercial sugar and related sweetening agents. *Food Res.* 7:459-480.
- Karnik, V. V., D. K. Salunkhe, L. E. Olson, and F. J. Post. 1970. Physiochemical and microbiological studies on controlled atmosphere storage of sugar. *J. Am. Soc. Sugar Beet Technol.* 16:156-167.
- Lochhead, A. G., and N. B. McMaster. 1931. Yeast infection of normal honey and its relation to fermentation. *Sci. Agr.* 11:351-360.
- Mansvelt, J. W. 1964. Microbiological spoilage in the confectionery industry. *Confectionery Prod.* 30(1):33-35,37,39.
- Marvin, G. E. 1928. Occurrence and characteristics of certain yeasts found in fermented honey. *J. Econ. Entomol.* 21:363-370.
- Minifie, B. W. 1970. *Chocolate, cocoa and confectionery: science and technology.* AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Mohrig, W., and B. Messner. 1968. Lysozyme as an antibacterial agent in honey and beer venom. *Acta Biol. Med. Ger.* 21:85-95.
- Moroz, R. 1963. Microbiology of the sugar industry. In P. Honig (ed.), *Principles of sugar technology.* Volume III. Evaporation, centrifugation, microbiology, grading and classification of sugars and molasses, pp. 373-449. Elsevier Publishing Company, Amsterdam.
- Naghski, J. 1953. The organisms of maple sirup: their effect and control. 2d Conf. Maple Prod. Proc. pp. 34-36.

- Ostergren, B. 1974. Practical biological testing in confectionery plants. *Manuf. Confect.* 54:62-69.
- Owens, W. L. 1958. The deterioration of raw sugars in storage. *Sugar J.* 21(5):22-25.
- Pederson, C. S., and G. J. Hucker. 1948. The significance of bacteria in sugar mills. *Int. Sugar J.* 50:238-239.
- Ruiz-Argueso, T., and A. Rodriguez-Navarro. 1975. Microbiology of ripening honey. *Appl. Microbiol.* 30:893-896.
- Sheneman, J. M., and R. M. Costilow. 1959. Identification of microorganisms from maple tree tapholes. *Food Res.* 24:146-151.
- Speck, M. L. (ed.). 1976. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods.* American Public Health Association, Washington, D.C.
- Speck, M. L. (ed.). 1984. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods.* 2d ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Tysset, C., C. Durand, and Y. P. Taliercio. 1970. Contribution to the study of the microbiology and hygiene of commercial honey. *Rec. Med. Vet. Paris.* 146:1471-1492.
- Underwood, J. C., and C. O. Willits. 1963. Research modernizes the maple sirup industry. *Food Technol.* 17:1380-1385.
- U.S. Department of Agriculture. 1970. A survey of microbial contamination of maple sap in field collection systems. EU Publ. 3339. ARS 73-68.
- U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service. 1974. Follow-up on *Salmonella eastbourne* outbreak. *Cent. Dis. Control, Morbid. Mortal. Week. Rep.* 23(10):89-90 (Mar. 9, 1974).
- Weinzirl, J. 1922. The cause of explosion in chocolate candies. *J. Bacteriol.* 7:599-604.

Contaminación, conservación y alteración de las hortalizas y de las frutas

Se ha calculado que una cuarta parte de la totalidad de los alimentos que se recolectan se alteran antes de ser consumidos (Salunkhe, 1974). Las frutas y hortalizas frescas se suelen alterar durante su almacenamiento y transporte y mientras esperan ser sometidas a tratamiento. Al contrario de lo que sucede en la mayoría de los demás alimentos que se estudian en esta obra, las frutas y las hortalizas, después su recolección y antes de someterlas a tratamiento, siguen estando «vivas» durante un tiempo prolongado. La respiración resultante de estos alimentos y el proceso normal de su maduración, complican el estudio separado de la alteración microbiana de las frutas y de las hortalizas. Muchos de los problemas de alteración microbiana que se estudian son en realidad «enfermedades de la comercialización» de estos alimentos, y de aquí que se estudien en los tratados de patología vegetal. Tanto las hortalizas como las frutas pueden ser frescas, desecadas, congeladas, fermentadas, pasteurizadas, o enlatadas. En el Capítulo 19 se estudiarán las alteraciones de los alimentos enlatados.

CONTAMINACION

Durante su recolección, tan pronto como se colocan en cajas, en canastos, en cestas o en carretillas, tanto las frutas como las hortalizas están expuestas a la contaminación mutua y a la procedente de los envases, a no ser que éstos hayan sido limpiados y desinfectados convenientemente. Durante su transporte al

mercado o a la planta donde van a ser tratadas, las lesiones por causas mecánicas que experimentan pueden aumentar la posibilidad de que se pudran y es posible que en las mismas crezcan microorganismos. La refrigeración previa de estos alimentos y la refrigeración durante su transporte retardarán el crecimiento de los microorganismos.

El lavado de las frutas o de las hortalizas puede suponer un remojo previo o se puede conseguir por agitación en un baño de agua, o, preferentemente, mediante un tratamiento de rociado con agua. Tanto el remojo como el lavado por agitación tienden a transmitir los microorganismos responsables de las alteraciones desde los alimentos dañados a los sanos. El agua que se recupera o se vuelve a utilizar es probable que añada microorganismos, mientras que el tratamiento del lavado puede humedecer lo suficiente la superficie como para que permita el crecimiento de microorganismos durante el período de mantenimiento. El lavado con soluciones de detergentes o de agentes germicidas reducirá el número de microorganismos de la superficie de estos alimentos.

La separación de las frutas o de las hortalizas alteradas o el expurgo de las porciones deterioradas elimina los microorganismos, aunque su mayor manipulación puede dar lugar a lesiones de origen mecánico y, por consiguiente, aumentar la posibilidad de que se pudran. Cuando estos alimentos se venden en el comercio al por menor sin tratar, normalmente no están expuestos a una excesiva contaminación posterior, excepto por lo que se refiere a su almacenamiento en el comercio en arcones o en otro tipo de recipientes sucios, a su posible contacto con alimentos en putrefacción, a su manoseo por los vendedores y clientes, y tal vez al hecho de rociarlos con agua o de colocar hielo triturado en los envases. El rociado de las hortalizas les da un aspecto de frescura y retarda su descomposición, aunque el agua o el hielo les añaden microorganismos, por ejemplo psicrótrofos, y humedecen su superficie estimulando de esta forma la multiplicación de aquéllos en caso de almacenamiento prolongado.

En la planta donde se someten a distintos tratamientos, las frutas y las hortalizas están expuestas a una posterior contaminación y a modificaciones debidas al crecimiento microbiano, o bien se reducen tanto el número de tipos como la cantidad total de microorganismos existentes en las mismas. El adecuado lavado en la planta industrial reduce el número de microorganismos existentes en la superficie de estos alimentos, de igual modo que lo hacen disminuir el pelado con vapor de agua, con agua a temperatura elevada o con lejía y el blanqueado (calentamiento para inactivar las enzimas, etc.). La exudación de estos alimentos durante su manipulación incrementa el número de microorganismos. Tratamientos tales como el expurgo, la abrasión o el pelado mecánicos, el troceado, el deshuesado, y la eliminación de los corazones, así como los distintos procedimientos de trituración pueden añadir microorganismos contaminantes procedentes del equipo utilizado. De hecho, cualquier parte del equipo que entre en contacto con el alimento puede ser un importante origen de microorganismos, a no ser que aquél haya sido convenientemente limpiado y desinfectado. El equipo metálico que actualmente se fabrica, provisto de superficies lisas, sin hendiduras,

ni ángulos muertos, etc., sirve para facilitar estos tratamientos. Las bandejas, los arcones, los tanques, los embudos, las tuberías, las regueras de descarga, las mesas, las cintas transportadoras, así como los delantales, las envasadoras, las blanqueadoras, las prensas, las cribas, y los filtros, son posibles orígenes de contaminación de los alimentos con microorganismos. Las superficies de madera son difíciles de limpiar y desinfectar y, por consiguiente, es probable que sean las fuentes de contaminación más importantes, de igual modo que lo son las superficies de tela, por ejemplo la cara superior de las cintas transportadoras. Las fases descuidadas de cualquier sistema de manipulación de los alimentos pueden aumentar el número de microorganismos que los contaminan. Si bien el agua caliente que se emplea en el escaldado reduce el número total de microorganismos de la superficie de los alimentos, puede originar el aumento del número de esporas de bacterias termófilas, las cuales alteran los alimentos enlatados, como es el caso de las esporas de las bacterias causantes del agriado plano de los guisantes enlatados.

El aumento del número de microorganismos de las poblaciones de la superficie del equipo como consecuencia del crecimiento microbiano en los exudados y en los residuos de las frutas y de las hortalizas, es posible que influya de forma importante tanto en el grado de contaminación de los alimentos como en la multiplicación de los contaminantes. No sólo existe la posibilidad de que se añadan a los alimentos gran cantidad de microorganismos que tengan el citado origen, sino que también existe la posibilidad de que se trate de microorganismos que se encuentren en fase logarítmica de crecimiento, y, por consiguiente, que sean capaces de seguir multiplicándose rápidamente. Este fenómeno se pone de manifiesto sobre todo en las hortalizas una vez escaldadas. Este tratamiento reduce considerablemente el número de bacterias, daña a muchas de las células bacterianas supervivientes y, por lo tanto, prolonga su fase de latencia. Por otra parte, los microorganismos contaminantes del equipo que se encuentran en fase de multiplicación activa pueden alcanzar cifras elevadas si antes de la congelación, de la desecación o del enlatado de los alimentos se les da el suficiente tiempo para que se multipliquen; este crecimiento suele ser la causa de que se obtengan cifras extraordinariamente elevadas en los recuentos del número de bacterias.

El aprovechamiento de las partes alteradas de las frutas ocasiona el aumento del número de microorganismos de los zumos de frutas. En el zumo de naranja, por ejemplo, tanto el número total de microorganismos como el número de coliformes aumenta extraordinariamente como consecuencia del aprovechamiento de frutas afectadas de podredumbre blanda. El tratamiento térmico de las uvas antes de extraer el zumo reduce en éste el número de microorganismos, si bien la operación del prensado aporta microorganismos contaminantes.

Los tipos de microorganismos procedentes del equipo dependerán del alimento que se está sometiendo a tratamiento, ya que el alimento será el medio de cultivo de aquéllos. Los residuos de guisantes, por ejemplo, favorecerían el crecimiento de las bacterias que crecen bien en un medio de guisantes, mientras que los residuos de tomate favorecerían el crecimiento de las bacterias que son

Tabla 13.1. Perfil microbiológico general de las frutas y hortalizas una vez cosechadas*.

<i>Alimento</i>	<i>Microorganismos aislados</i>	<i>Oscilación cuantitativa aproximada</i>
Hortalizas [§]	Bacterias <i>Pseudomonas</i> <i>Alcaligenes</i> <i>Erwinia</i> <i>Xanthomonas</i> Otras gramnegativas Micrococcos <i>Bacillus</i> Bacterias lácticas Corineformes	10 ³ -10 ⁷ /g (Splittstoesser, 1970)
	Mohos <i>Fusarium</i> <i>Alternaria</i> <i>Aureobasidium</i> <i>Penicillium</i> <i>Sclerotinia</i> <i>Botrytis</i> <i>Rhizopus</i>	10 ³ -10 ⁴ /g (Webb y Mundt, 1978)
Frutas	Bacterias: El bajo pH propio de la mayoría de las frutas favorece el predominio de los mohos; no obstante, se pueden aislar especies gramnegativas como las citadas en las hortalizas	Generalmente menos de 10 ⁶ /g
	Mohos: Los citados en las hortalizas y además <i>Cladosporium</i> <i>Phoma</i> <i>Trichoderma</i>	10 ³ -10 ⁴ /g (Webb y Mundt, 1978)

*Existe una considerable variación tanto en el número como en el tipo de microorganismos existentes en las hortalizas y frutas. Su especie, la cantidad de barro o tierra que se adhiere a las mismas, su localización, y la presencia o ausencia de daños físicos serían variables importantes.

[§]Splittstoesser (1970) cita los recuentos de microorganismos en la superficie de determinadas hortalizas.

capaces de crecer en el jugo de tomate. Como quiera que el equipo de la planta industrial se utiliza durante todo el día, los microorganismos son capaces de seguir aumentando en número. Al final de la jornada de trabajo, no obstante, al limpiar y desinfectar el equipo, la carga microbiana existente en su superficie disminuye extraordinariamente, y si la operación de limpieza y desinfección es eficaz, únicamente sobreviven las formas resistentes. Por lo tanto, es probable que las esporas

bacterianas sobrevivan, y que, mientras el equipo está desocupado, las bacterias esporógenas se multipliquen si existen condiciones favorables para ello, con lo cual aumentará el número de este tipo de bacterias, sobre todo en las partes del equipo que no se han limpiado convenientemente. De este modo es como aumenta el número de bacterias esporuladas termófilas que tantos quebraderos de cabeza dan a los fabricantes de hortalizas enlatadas, inconveniente que se suma a la dificultad de someter a los alimentos a un tratamiento térmico apropiado. Es posible que el número de estos microorganismos en la superficie de un equipo insuficientemente limpio y desinfectado sea elevado al iniciarse la jornada de trabajo, disminuyendo conforme avanza el día, aunque en realidad suele suceder lo contrario. Una interrupción temporal durante la jornada de trabajo permite que aumente de nuevo el número de microorganismos. Es evidente que el número de microorganismos procedentes del equipo que se incorporan a los alimentos depende de las oportunidades dadas a los mismos para que se multipliquen y estas oportunidades son consecuencia de la limpieza y desinfección insuficientes unidas a condiciones favorables de humedad y de temperatura durante un tiempo de duración suficiente. Los ingredientes que se añaden a los alimentos, como por ejemplo el azúcar y el almidón, pueden incorporar microorganismos capaces de alterarlos, sobre todo esporas de bacterias termófilas.

CONSERVACION DE LAS HORTALIZAS

Los microorganismos existentes en la superficie de las hortalizas recién recolectadas incluyen no sólo los correspondientes a la flora normal de su superficie, sino también los procedentes del suelo y del agua y tal vez microorganismos patógenos para las plantas (Tabla 13.1). También se puede encontrar en su superficie cualquiera de las numerosas especies de mohos, y, a veces, algunas levaduras. Si la superficie externa de las hortalizas está húmeda o ha sido dañada, en ella pueden crecer algunos microorganismos durante el tiempo que media entre su recolección y el momento de someterlas a algún tipo de tratamiento o de consumirlas. El oportuno control de la temperatura y de la humedad reducirá este crecimiento.

ASEPSIA

Si bien durante el tiempo que media entre la recolección de las hortalizas y el momento de ser sometidas a algún tipo de tratamiento, o de ser consumidas, tendrá lugar una contaminación limitada, su contaminación masiva se puede evitar. Las cajas, los canastos, las cestas, y demás recipientes, deben estar prácticamente exentos de crecimiento de microorganismos, y de aquí que será

preciso limpiar y desinfectar algunos de estos recipientes cada vez que se empleen. Un ejemplo de ello lo constituyen los canastos y demás recipientes para transportar los guisantes hasta la planta donde van a ser sometidos a tratamiento. Es posible que en el interior húmedo de estos recipientes crezca una gran cantidad de bacterias y que éstas sean el origen del elevado número de microorganismos existentes en la superficie de los guisantes. El contacto de las hortalizas alteradas con las sanas añadirá microorganismos a estas últimas y es posible que ocasione pérdidas. La contaminación del equipo de la planta de tratamiento se puede reducir mediante una limpieza y desinfección adecuadas. Es especialmente temida la aparición de esporas termorresistentes de bacterias causantes de alteraciones, por ejemplo las esporas de las bacterias responsables del agriado plano, las de las bacterias causantes de la putrefacción, o las de *Clostridium thermosaccharolyticum**

Al llegar a la planta industrial las hortalizas a tratar, los recuentos del número de bacterias existentes en su superficie pueden oscilar entre 10^2 y 10^7 por gramo, dependiendo de la especie de hortaliza y del estado en que se encuentre.

ELIMINACION DE MICROORGANISMOS

El cuidadoso lavado de las hortalizas elimina la mayoría de los microorganismos que contaminan de forma accidental su superficie, aunque, una vez lavadas, todavía queda gran parte de la flora microbiana propia de las mismas. A no ser que el agua utilizada para lavarlas sea de buena calidad bacteriológica, el lavado puede añadirles microorganismos, los cuales, es posible que posteriormente crezcan en la superficie húmeda. Para lavar las hortalizas a veces se utiliza agua clorada, y también se pueden añadir al agua detergentes para facilitar la eliminación tanto de la suciedad como de los microorganismos. Parte de los mohos que crecen en la superficie de las fresas, por ejemplo, se puede eliminar lavándolas con una solución de un detergente no iónico.

EMPLEO DEL CALOR

Las hortalizas que se desecan o que se congelan, y algunas de las que se enlatan, se escaldan o blanquean para inactivar sus enzimas. Al mismo tiempo, el número total de microorganismos se reduce notablemente, ya que es posible que disminuya un número de veces comprendido entre 1.000 y 10.000 (Splittstoesser, 1970). El tratamiento térmico de las hortalizas enlatadas ya ha sido estudiado en el Capítulo 6.

EMPLEO DE TEMPERATURAS BAJAS

Según ya se ha indicado, un reducido número de especies de hortalizas que son relativamente estables, como por ejemplo las raíces, las patatas, la col, y el apio, se pueden conservar durante un tiempo limitado mediante el almacenamiento corriente o de bodega (véase el Capítulo 7).

Refrigeración

La mayoría de las hortalizas que se van a conservar sin emplear ningún tratamiento especial, se enfrían enseguida y se mantienen a temperaturas de refrigeración. Su enfriamiento se consigue empleando agua fría, hielo o refrigeración mecánica o por medio de refrigeración al vacío (humectación seguida de vacío), procedimiento que se emplea para conservar la lechuga. Con frecuencia, el enfriamiento previo de las hortalizas, es decir, su enfriamiento antes de almacenarlas bajo refrigeración, procedimiento que normalmente se suele seguir, se lleva a cabo inmediatamente después de su recolección rociándolas con agua fría, procedimiento denominado **hidroenfriamiento**. Según se ha indicado en el Capítulo 7 y según se recomienda en los boletines y manuales especializados, cada especie de hortaliza tiene sus propias temperatura y humedad relativa óptimas de almacenamiento bajo refrigeración. El «refrescamiento» de las hortalizas que se aprovechan por sus hojas (lechuga, espinacas) rociándolas con agua, las enfriará si se emplea agua fría y contribuirá a que se conserven.

En el almacenamiento de hortalizas, la regulación de la composición de la atmósfera no se ha utilizado tanto como en el almacenamiento de las frutas. Algunos autores han recomendado incorporar al aire dióxido de carbono u ozono. El empleo de la radiación ultravioleta no ha dado buenos resultados, ya que al envasar y manipular las hortalizas los rayos no inciden sobre la totalidad de su superficie. En el Capítulo 7 se mencionaron las batatas como ejemplo de una hortaliza que requiere especiales cuidados para almacenarla bajo frío. Las patatas suelen adquirir un sabor dulce a temperaturas inferiores a las comprendidas entre 2,2 y 4,4 °C, y de aquí que se almacenen a temperaturas más elevadas que las señaladas si es preciso destinarlas a la fabricación de patatas fritas a la inglesa. Tanto las batatas como las cebollas, antes de su almacenamiento, se someten a tratamientos especiales de conservación.

Congelación

En el Capítulo 7 se han revisado la preparación y selección de las hortalizas, su blanqueo, su congelación, y las modificaciones que experimentan durante los citados tratamientos. En la superficie de las hortalizas se encuentran los microor-

Tabla 13.2. Número de microorganismos por gramo de judías verdes después de pasar por las distintas máquinas de una planta de congelación.

<i>Origen de la muestra</i>	<i>Media por gramo del recuento en placa*</i>
Antes de pasar por la cortadora	740.000
Después de la cortadora y de la agitadora	573.000
Después de la blanqueadora	1.000
Después de la agitadora, antes de la cinta clasificadora	188.000
Envasado final	36.000

*Media de diecisiete muestras tomadas durante 9 días. Las placas se incubaron a 32 °C.

ganismos de la flora propia, junto con contaminantes procedentes del suelo y del agua. Si la superficie de las hortalizas está húmeda, algunos de estos microorganismos se multiplicarán antes de que aquéllas lleguen a la planta de congelación. Una vez allí, el lavado reduce el número de algunos microorganismos y añade otros, mientras que el escaldado o blanqueo (a una temperatura de 86 a 98°C) ocasiona una gran reducción de la carga microbiana, a veces del orden del 90 al 99 por cien (véase la Tabla 13.2). No obstante, durante la refrigeración y manipulación previas a su congelación existe la posibilidad de que las hortalizas se contaminen de nuevo con microorganismos procedentes del equipo y de que éstos se multipliquen, de forma que, en el peor de los casos, es posible que en el momento de ser congeladas exista en las mismas 1 millón o más de microorganismos por gramo. La congelación reduce el número de microorganismos en un porcentaje que depende tanto de las especies como del número de los mismos inicialmente existente, aunque, por término medio, aproximadamente la mitad son destruidos. La Tabla 13.2 pone de manifiesto las modificaciones que experimenta la carga microbiana de las judías verdes conforme pasan por las distintas fases de tratamiento en la planta de congelación. Durante el almacenamiento de las hortalizas en estado de congelación tiene lugar una constante disminución del número de microorganismos, aunque, transcurrido el tiempo habitual de almacenamiento, existen, como mínimo, algunos supervivientes de la mayoría de las especies. Las especies bacterianas que es más probable que se multipliquen al descongelarlas dependerán tanto de la temperatura como del tiempo transcurrido. Al descongelar hortalizas tales como el maíz dulce y los guisantes, cuando la temperatura de descongelación es bastante baja, predominan las especies de *Micrococcus**, aunque en ellas también se suelen aislar especies de los géneros *Achromobacter* y *Enterobacter*. En estos casos, en los guisantes también suelen ser corrientes los lactobacilos. Es posible que al principio crezca una determinada especie de *Micrococcus**, y que a continuación crezca otra especie. A temperaturas más elevadas, es posible que también se multipliquen algunas especies del género *Flavobacterium*. Como quiera que en las casas particulares, en las que se

introduce este alimento directamente en agua hirviendo, se consumen hortalizas en envases de pequeño formato que han sido sometidas a congelación rápida, los microorganismos no tienen posibilidad de multiplicarse. Durante la congelación, la mayoría de las hortalizas se marchitan y se ablandan, mientras que durante su almacenamiento en estado de congelación es posible que su color se modifique. Cuando las hortalizas descongeladas se mantienen a temperatura ambiente durante bastante tiempo, existe la posibilidad de que bacterias causantes de intoxicaciones alimentarias puedan crecer y elaborar toxina. Jones y Lochhead (1939), por ejemplo, aislaron estafilococos productores de enterotoxina en el maíz congelado. Una muestra de maíz estéril, que se inoculó con estafilococos del tipo de los que producen intoxicaciones alimentarias, que a continuación se congeló y que después se descongeló y se mantuvo a una temperatura ambiental de 20 °C durante un tiempo total de 1 día, permitió la multiplicación de los estafilococos y la producción de la cantidad de enterotoxina suficiente para desencadenar los síntomas de una intoxicación alimentaria. La enterotoxina producida de esta forma no sería totalmente destruida por los procedimientos que habitualmente se emplean para cocer las hortalizas. Se ha aislado *Clostridium botulinum* en hortalizas congeladas y cabe suponer que su existencia en las mismas es frecuente. Afortunadamente, pocas veces se darían las condiciones para que este microorganismo se multiplique y elabore toxina; la falta de energía eléctrica en las cámaras de congelación durante varios días, con ocasión de inundaciones o tormentas, constituye un ejemplo de tales condiciones. La cocción de las hortalizas congeladas no destruirá todas las esporas de *Clostridium botulinum*, y de aquí que este alimento, una vez cocido, no se debe dejar a temperatura ambiente durante un tiempo excesivamente prolongado.

En las hortalizas congeladas, los recuentos del número de bacterias pueden oscilar desde unas pocas a 10^5 por gramo. Con frecuencia se pueden aislar coliformes y enterococos. No obstante, la presencia de *E. coli* en las hortalizas no es habitual, y de aquí el hecho de que se encuentren en estos alimentos puede ser motivo para preguntarse por la eficacia de la prácticas higiénicas.

DESECACION

Conforme se han perfeccionado los procedimientos de desecación de las hortalizas y alimentos derivados de las mismas, su aceptación por parte del público consumidor ha aumentado, de forma que en la actualidad se venden una gran cantidad de alimentos desecados. Las hortalizas y sus productos derivados desecados se emplean en las sopas desecadas, mientras que las especias y condimentos desecados se emplean como ingredientes para dar sabor.

Algunas hortalizas se pueden desecar mediante un tratamiento denominado **esponjamiento explosivo**. Las hortalizas, parcialmente deshidratadas y corta-

das en pequeños trozos en forma de dados, se introducen en un cilindro rotatorio cerrado. Se aplica calor, y se eleva la presión interior del cilindro hasta un valor fijado previamente; a continuación se lleva a cabo la descompresión brusca del cilindro. Este tratamiento ocasiona una nueva pérdida de agua y, lo que es más importante, en el alimento se forma una red porosa de capilares. El aumento de porosidad simplifica la ulterior desecación del alimento y le confiere una buena capacidad de reconstitución.

Hasta tanto no se desecan las hortalizas, en ellas se pueden multiplicar los microorganismos que sobreviven al blanqueo, aumentando por tanto las cifras que se obtienen en los recuentos realizados en el alimento desecado. La desecación por el calor destruye las levaduras y la mayoría de las bacterias, aunque las esporas de las bacterias y las de los mohos suelen resistir al tratamiento térmico de desecación, de igual forma que también resisten a este tratamiento las células vegetativas más termorresistentes. En las hortalizas desecadas, tanto si se trata de hortalizas que se acaban de desecar, como si proceden de compra en establecimientos de venta al por menor, las cifras que se obtienen en los recuentos totales de microorganismos suelen ser bastante más elevadas que las que se obtienen en los recuentos realizados en las frutas desecadas, ya que es probable que antes de la desecación el número de microorganismos de las hortalizas sea bastante más elevado que el existente en las frutas y, por lo tanto, después de la desecación sobrevivirá un porcentaje más elevado. La mayoría de las hortalizas tienen una acidez menor que la de las frutas y, por consiguiente, el efecto letal del calor es menor en las primeras. Las muestras de hortalizas desecadas procedentes de los puestos de venta al por menor contienen una población de microorganismos del orden de cientos de miles e incluso de millones por gramo, aunque estos alimentos desecados se pueden elaborar de forma que contengan una población microbiana mucho menor. Cuando las hortalizas desecadas se tratan con dióxido de azufre para que conserven un color vivo, su carga microbiana disminuye.

Si las hortalizas se desecan de forma apropiada y se almacenan convenientemente, en su interior no se multiplicarán los microorganismos. Durante su almacenamiento, el número de microorganismos viables disminuye lentamente, siendo esta disminución más rápida durante los primeros meses y más lenta después. Tanto las esporas de las bacterias como las de los mohos, algunos micrococcos* y las microbacterias, resisten a la desecación, razón por la cual sobrevivirán mejor que los demás microorganismos y, conforme se prolonga el tiempo de almacenamiento de las hortalizas desecadas, representarán un porcentaje cada vez más elevado en relación con la totalidad de microorganismos supervivientes.

EMPLEO DE CONSERVADORES

La adición de conservadores a las hortalizas no es corriente, aunque es posible que la superficie de algunas reciba un tratamiento especial. Los nabos suecos y

los colinabos a veces se recubren con parafina para prolongar la duración de su conservación. Se ha señalado que el carbonato de zinc inhibe el crecimiento de la mayoría de los mohos en la lechuga, en la remolacha y en las espinacas. Los vapores de bifenilo controlarán el crecimiento de los mohos del género *Fusarium* en las patatas (McKee y Boyd, 1962). Si bien en la práctica se ha utilizado poco, se ha ensayado de forma experimental crear una atmósfera controlada de dióxido de carbono o de ozono en torno a las hortalizas refrigeradas.

Conservadores añadidos

El cloruro sódico es el único conservador añadido de uso común. La proporción que del mismo se añade a las hortalizas puede oscilar desde el 2,25 al 2,5 por cien en la elaboración del sauerkraut hasta una solución saturada en la conservación de la coliflor. Las concentraciones de sal más bajas permiten que tenga lugar una fermentación ácida por bacterias; conforme aumenta el porcentaje de sal, disminuye la velocidad de la producción de ácido hasta que se alcanza una concentración de sal que no permite ni el crecimiento de los microorganismos ni la producción de ácido.

Las hortalizas cuyo contenido proteico es elevado, como por ejemplo los guisantes verdes y las judías de Lima y también algunas que se ablandan fácilmente, como por ejemplo las cebollas y la coliflor, se conservan añadiéndoles la cantidad de sal suficiente para inhibir cualquier fermentación: desde los 70 a 80 grados de salinidad (equivalentes a una concentración de sal del 18,6 al 21,2 por cien) hasta la saturación (concentración de sal del 26,5 por cien, equivalente a 100 grados de salinidad).

Se debe tener en cuenta que como consecuencia de la adición de sal o de salmuera a las hortalizas, de las mismas es extraída agua que sirve para reducir la concentración de sal en el líquido.

La moda de consumir ensalada en los bares ha motivado que cada vez se empleen más los sulfitos para dar un aspecto fresco a las ensaladas, es decir, para impedir el ennegrecimiento de la lechuga, de la ensalada de col y de otras hortalizas que se emplean como ensalada. Es posible que los vestigios de sulfitos en los alimentos tengan relación con ataques de asma, y de aquí que se haya determinado su concentración en las ensaladas que se sirven en los restaurantes (Martin y otros, 1986).

Conservadores originados en los propios alimentos

En las hortalizas trituradas, cortadas, o aplastadas que contienen azúcar, mantenidas a temperatura ambiente, es normal que tenga lugar una fermentación ácida, si bien en lugar del puro sabor ácido debido a la actividad de las bacterias lácticas, tanto los sabores desagradables como la modificación de la consistencia

láticas, tanto los sabores desagradables como la modificación de la consistencia de las hortalizas pueden ser consecuencia de la multiplicación de bacterias coliformes, de bacilos, de anaerobios, de bacterias proteolíticas y de otros grupos de bacterias. La adición de sal a las hortalizas tiene por objeto reducir la multiplicación de los microorganismos competitivos y, por consiguiente, favorecer la fermentación láctica. La adición de sal también tiene por objeto extraer el jugo de las hortalizas, con lo cual se consigue que se distribuya mejor el ácido láctico producido por la bacterias. El porcentaje de azúcar existente en las hortalizas influye en la acidez que se puede originar, mientras que el porcentaje de sal y la temperatura determinan tanto la velocidad de la producción de ácido como las especies bacterianas que intervienen en esta producción. En general, conforme aumenta la concentración de sal, disminuyen tanto la velocidad de la producción de ácido como el número de especies bacterianas implicadas. Algunas fórmulas requieren emplear al principio una concentración de sal relativamente baja, aumentándola conforme avanza la fermentación, para que finalmente la concentración de sal sea la suficiente para inhibir el posterior crecimiento de las bacterias. Este procedimiento se emplea en la conservación en salmuera de las judías verdes y del maíz. En el Capítulo 22 se trata la fermentación de varias hortalizas.

CONSERVACION POR IRRADIACION

En la mayoría de las hortalizas, el tratamiento experimental con rayos gamma para inactivar los microorganismos que las pudren tras su almacenamiento ha dado lugar a modificaciones de su color, a su ablandamiento y a otras alteraciones. No obstante, la irradiación se ha empleado con buenos resultados para retardar la aparición de los grillones en las patatas, y la germinación de las cebollas y de los ajos, así como para interrumpir el ciclo reproductor de los insectos en las hortalizas (véase el Capítulo 10).

CONSERVACION DE LAS FRUTAS Y PRODUCTOS DERIVADOS

En general, los fundamentos de la conservación de las frutas y de los productos derivados de las mismas son parecidos a los que intervienen en la conservación de las hortalizas y sus productos derivados. La superficie de las frutas sanas contiene la flora propia y además microorganismos contaminantes que proceden del suelo y del agua y, por consiguiente, tienen una flora superficial muy parecida a la señalada para las hortalizas; no obstante, en la flora superficial de las frutas y

de sus productos derivados predominarán las levaduras y los mohos. Además, algunas frutas contendrán microorganismos patógenos para las plantas o microorganismos saprófitos causantes de alteraciones que es posible que se multipliquen una vez recolectadas. Estas frutas que presentan defectos deben ser separadas y se deben poder expurgar las partes alteradas. A veces, en el interior de las frutas sanas existen algunos microorganismos.

ASEPSIA

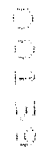
Las frutas, lo mismo que las hortalizas, durante el tiempo que media entre su recolección y el momento de ser sometidas a algún tipo de tratamiento, están expuestas a ser contaminadas por los envases y por frutas alteradas, y de aquí que se deba tener el máximo cuidado para evitar este tipo de contaminación. Antes de su recolección, las frutas suelen estar expuestas a los insecticidas y fungicidas y es posible que su flora microbiana sea alterada por estos tratamientos.

ELIMINACION DE MICROORGANISMOS

El lavado total de las frutas sirve para eliminar no sólo la suciedad, y por consiguiente la contaminación casual de microorganismos, sino también los restos de aerosoles tóxicos. El lavado de las frutas puede llevarse a cabo con agua, con soluciones de detergentes, o incluso con soluciones bactericidas, como por ejemplo con agua clorada. El expurgo de las partes alteradas de las frutas también elimina microorganismos. Los zumos líquidos de frutas se pueden esterilizar por filtración.

EMPLEO DEL CALOR

Las frutas rara vez se blanquean antes de someterlas a otros tratamientos, ya que el blanqueo las daña excesivamente. En el Capítulo 6 ya se estudiaron los fundamentos en los que se basa el tratamiento térmico de las frutas enlatadas, habiéndose puesto varios ejemplos de dicho tratamiento. Téngase en cuenta que las frutas, de acuerdo con su pH, se pueden incluir en uno de estos dos grupos: frutas *ácidas*, como por ejemplo los tomates, las peras y la piña americana, y frutas *muy ácidas*, como por ejemplo las bayas. La mayoría de las frutas no requieren ser tratadas en un esterilizador a presión, ya que el calentamiento próximo a los



100°C es suficiente y esta temperatura se puede conseguir con vapor fluyente o con agua hirviendo. En general, cuanto más ácidas son las frutas, tanto menor es el calor que se necesita emplear para conservarlas. La conservación de los zumos de frutas envasados se basa en fundamentos parecidos.

EMPLEO DE TEMPERATURAS BAJAS

Algunas frutas, como por ejemplo las manzanas, se pueden conservar durante un tiempo limitado mediante el almacenamiento corriente o de bodega, aunque durante el tiempo que permanece en almacenamiento esta fruta se suelen emplear casi siempre temperaturas más bajas.

Refrigeración

Cada fruta tiene sus propia temperatura y humedad relativa óptimas de almacenamiento bajo refrigeración; incluso las distintas variedades de una misma fruta se pueden diferenciar en cuanto a sus exigencias de temperatura y humedad relativa óptimas. Para favorecer su conservación, las frutas se han tratado con distintos agentes químicos, antes de almacenarlas o mientras permanecen almacenadas. Para ello se ha recomendado emplear los hipocloritos, el bicarbonato sódico, el bórax¹, los propionatos, el bifenilo, los *o*-fenilfenoles, el dióxido de azufre, la tiourea, el tiabendazol, el dibromotetracloroetano, y otros compuestos químicos. Las frutas también se han envuelto utilizando envolturas tratadas con distintos productos químicos, por ejemplo las uvas con papel tratado con sulfitos, las uvas y los tomates con papel tratado con compuestos yodados, y las naranjas con papel tratado con bórax. Para protegerlas de los traumatismos se han empleado envolturas enceradas, aceite de parafina, ceras, y aceite mineral.

Se han realizado gran cantidad de estudios acerca del almacenamiento bajo refrigeración de las frutas en combinación con el control de la atmósfera de la cámara donde se almacenan. Este control puede consistir simplemente en la regulación de las concentraciones de oxígeno y de dióxido de carbono de la atmósfera, o puede suponer la adición o la eliminación de dióxido de carbono o de oxígeno, o la adición de ozono.

El almacenamiento en **atmósfera controlada** (CA)² supone la modificación de las concentraciones normales de los gases existentes en la atmósfera. Esta modificación se suele llevar a cabo aumentando la concentración de dióxido de

¹N. del T.: Tetraborato sódico ($B_4O_7Na_2 \cdot 10 H_2O$).

²N. del T.: CA = controlled atmosphere.

carbono o disminuyendo la concentración de oxígeno. El término relacionado **atmósfera modificada (MA)***, se define de forma parecida, aunque el término almacenamiento en MA se suele emplear para designar condiciones de CA que no se mantienen escrupulosamente o condiciones en las que el aire es sustituido inicialmente por un gas, aunque después no se adopten las medidas pertinentes para mantener constante la composición de la atmósfera gaseosa. El término «almacenamiento en gas» se emplea tanto para designar el almacenamiento en CA como el almacenamiento en MA. En algunos casos sólo se emplea un gas, por ejemplo cuando se envasa un alimento en una atmósfera del 100 por cien de N_2 ; para designar a este tipo de almacenamiento sería más correcta la denominación de almacenamiento en nitrógeno gaseoso. En la Tabla 13.3 se recopilan distintas condiciones de almacenamiento en CA. Las concentraciones óptimas de dióxido de carbono y de oxígeno y las proporciones de estos gases varía de acuerdo con la especie de fruta que se pretende conservar e incluso según la variedad de que se trate.

Tabla 13.3. Condiciones de almacenamiento en atmósfera controlada de algunas frutas y hortalizas.

<i>Artículo</i>	<i>% de CO₂</i>	<i>% de O₂</i>
Manzanas	1,5-10,0	2,5
Lechuga	2,5	2,5
Col	2,5	5,0
Cebollas	5-10,0	3,0
Melocotones	5,0	0

Si bien el almacenamiento en atmósfera de dióxido de carbono se ha utilizado para conservar manzanas, también se puede utilizar con buenos resultados para conservar peras, plátanos, frutas cítricas, ciruelas, melocotones, uvas, y otras frutas.

Se ha señalado que el empleo de una atmósfera con una concentración de ozono comprendida entre 2 y 3 ppm duplica la duración del almacenamiento de las frutas frescas de pequeño tamaño envasadas poco apretadas, como por ejemplo las fresas, las frambuesas, las grosellas, y las uvas, y las variedades delicadas de manzanas.

La incorporación de etileno a la atmósfera de las cámaras de conservación se emplea para acelerar la maduración de las frutas o darles el color deseado, y de aquí que no se considere conservador, aunque para conservar frutas se ha propuesto el empleo combinado de este gas con hidrocarburos activados.

*N. del T.: MA = modified atmosphere.

Congelación

La superficie de las frutas contiene su flora propia y, además, microorganismos contaminantes procedentes del suelo y del agua. Cualquier porción alterada que exista en las frutas añadirá a esta flora mohos y levaduras. Durante las operaciones de preparación de las frutas para congelarlas, pueden tener lugar modificaciones perjudiciales, como por ejemplo su ennegrecimiento, la modificación de su sabor y alteraciones originadas por microorganismos, sobre todo por mohos. El lavado de la fruta elimina la mayoría de los microorganismos del suelo, y la adecuada selección y el puntual expurgo harán disminuir el número de algunos de los mohos y levaduras que intervienen en su alteración. Si las frutas se manipulan de forma apropiada, la multiplicación de los microorganismos antes de ser congeladas debe ser escasa. Algunas frutas se congelan en bidones de gran capacidad (en ellos se congelan hasta 50 libras* de fruta); antes de llenar los bidones, debe ser preceptivo enfriar la fruta con el fin de garantizar que ésta se congele rápidamente. La congelación reduce el número de microorganismos de la fruta, aunque también suele dañar sus tejidos, produce su ablandamiento y provoca la salida de cierta cantidad de jugo. Mientras las frutas permanecen almacenadas en estado de congelación, en ellas tienen lugar las modificaciones físicas descritas en el Capítulo 7, y también una lenta, pero continua, disminución del número de microorganismos. Se ha indicado que los microorganismos predominantes en las frutas congeladas son levaduras (*Saccharomyces*, *Cryptococcus*) y mohos (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Botrytis*, *Fusarium*, *Alternaria*, etc.), aunque un reducido número de microorganismos procedentes del suelo, por ejemplo especies de los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter**, etc., sobreviven a la congelación.

Durante la descongelación lenta de las frutas, es más probable que los microorganismos que se multiplican sean levaduras.

En las frutas congeladas, el número total de microorganismos viables es considerablemente menor que el existente en las hortalizas congeladas. La existencia de un elevado número de hifas fúngicas puede ser indicativa de que se han congelado frutas de calidad inferior que tenían zonas podridas.

En los zumos de frutas congelados, el número de microorganismos depende del estado en que se encuentran las frutas, de la eficacia del procedimiento empleado en su lavado, del método de filtración, y de las oportunidades que tienen para contaminarse con microorganismos y éstos, a su vez, de la posibilidad para multiplicarse antes de congelarlos. En el momento de proceder a su congelación, los zumos de frutas pueden contener desde unos pocos cientos hasta más de 1 millón de microorganismos por mililitro. La inclusión de frutas con porciones podridas aumenta notablemente el número de microorganismos del zumo. El lavado de las frutas, y sobre todo el tipo de solución utilizada, tiene una gran influencia en el número de microorganismos del zumo, ya que aquéllos que se encuentran en la superficie de las frutas resultan de difícil eliminación. El número

*N. del T.: 50 libras = 22,68 Kg.

de microorganismos puede aumentar en la solución que se emplea para lavar las frutas, en la superficie húmeda de las frutas una vez lavadas e incluso en el propio zumo antes de ser congelado. Asimismo, en la planta industrial existe la posibilidad de que el equipo aporte microorganismos al zumo. La congelación reduce notablemente el número de microorganismos de los zumos, aunque tanto el azúcar que se les añade como el aumento de su concentración, ejercen una acción protectora frente a su destrucción. La disminución del número de microorganismos durante su almacenamiento en estado de congelación es lenta, aunque es más rápida que en la mayoría de los alimentos neutros. Las especies de microorganismos son principalmente las existentes en el suelo, en el agua, y en las frutas podridas, junto con las especies de la flora microbiana propia de la superficie de las frutas. Suelen predominar las bacterias coliformes, los enterococos, las bacterias lácticas, por ejemplo especies de los géneros *Leuconostoc* y *Lactobacillus*, especies del género *Acaligenes*, y levaduras.

Puesto que las bacterias coliformes, principalmente las pertenecientes a la especie *Enterobacter aerogenes*, forman parte de la flora propia de las frutas, de aquí que se encuentren tanto en los zumos frescos como en los congelados. El empleo de frutas descompuestas para elaborar zumos aumenta en éstos el número de bacterias coliformes, aunque su número disminuye durante el almacenamiento. Debido a que normalmente los zumos contienen coliformes, existen reparos respecto al empleo de la prueba presuntiva para la investigación de estos microorganismos como indicadores de la calidad higiénica del zumo. Se ha propuesto que esta prueba se oriente hacia la investigación de los coliformes de origen fecal pertenecientes a las especies *Escherichia coli* y *Streptococcus faecalis*.

DESECACION

La desecación de las frutas se ha estudiado en el Capítulo 8 en el cual se subrayó que el número de microorganismos en las frutas desecadas es relativamente bajo y que es probable que los que más abunden sean las esporas de bacterias y de mohos. Una muestra al azar puede contener un elevado número de esporas de mohos, lo que indica que, antes o después de su deshidratación, en las frutas ha tenido lugar el crecimiento y la esporulación de mohos. El tratamiento con álcalis, el azufrado, el escaldado y la pasteurización reducen el número de microorganismos en las frutas desecadas.

EMPLEO DE CONSERVADORES

El empleo de conservadores químicos ha sido revisado en el Capítulo 9, en el que se ha señalado que se han aplicado compuestos químicos a las frutas princi-

palmente en forma de soluciones en las que se sumergen, en forma de aerosoles, o impregnando sus envolturas con objeto de prolongar el período de conservación de las frutas. Entre las sustancias químicas que se han utilizado para tratar la superficie externa de las frutas se encuentran las ceras, los hipocloritos, el bifenilo, y el *o*-fenilfenato sódico alcalino. Las envolturas de las frutas se han impregnado con distintos compuestos químicos entre los cuales se incluyen el yodo, los sulfitos, el bifenilo, el *o*-fenilfenol en combinación con la hexamina, y otros más. Como gases para crear una niebla en torno a las frutas se han ensayado el dióxido de carbono, el ozono, y el etileno en combinación con hidrocarburos clorados. El dióxido de azufre y el benzoato sódico son conservadores que se han empleado añadiéndolos directamente a las frutas o a los productos derivados de las mismas. La mayoría de los conservadores químicos citados se han utilizado principalmente como antifúngicos.

Las aceitunas verdes son las únicas frutas que se conservan a escala comercial con el concurso de una fermentación ácida. En ciertas localidades, a veces se preparan otras frutas fermentadas, como por ejemplo los tomates verdes fermentados y las manzanas conservadas de Rumanía. En todos estos alimentos, la fermentación láctica tiene una importancia capital.

ALTERACION

La alteración de las hortalizas y de las frutas frescas puede ser consecuencia de causas físicas, de la actividad de sus propios enzimas, de la actividad de microorganismos, o de distintas combinaciones de estos factores. Las lesiones por causas mecánicas de las frutas debidas a la actividad de los animales, de las aves, o de los insectos, o como consecuencia de magulladuras, rasguños, picaduras, cortes, de la congelación, de la desecación o de otros malos tratos recibidos por las frutas, es posible que sean causas predisponentes para que aumente la actividad de sus enzimas o para que los microorganismos penetren y se multipliquen en su interior. El daño previo experimentado por las frutas como consecuencia de la actividad de microorganismos patógenos para las plantas, puede convertir en no apta para el consumo aquella parte de las mismas que se utiliza como alimento, o puede dejar expedito el camino para que en ella se multipliquen microorganismos saprófitos que ocasionen su alteración. El contacto directo de las frutas sanas con frutas y hortalizas que se están alterando puede acarrear la transferencia a las sanas de microorganismos, los cuales las alteran y aumentan las pérdidas. Las condiciones ambientales inadecuadas durante su recolección, transporte, almacenamiento y venta, pueden favorecer su alteración. La mayor parte de la revisión que se hace a continuación se referirá a alteraciones microbianas, aunque en todo momento se debe tener presente que en los alimentos frescos de origen vegetal los enzimas siguen manteniendo su actividad. Si existe

oxígeno, las células vegetales respiran mientras permanecen vivas y los enzimas hidrolíticos pueden seguir manteniendo su actividad aún después de muerta la célula. Según se expuso en el Capítulo 4, la aptitud de los alimentos para el consumo se enjuicia, en parte, teniendo en cuenta su grado de madurez. Si la madurez de un alimento sobrepasa con mucho el grado deseado, el alimento en cuestión puede ser considerado no apto para el consumo o incluso alterado. Ejemplo de ello lo constituyen los plátanos excesivamente maduros, cuya piel es negra y su pulpa interior se encuentra reblandecida.

Las enfermedades o defectos de las hortalizas y de las frutas pueden ser debidos a la multiplicación de un microorganismo que obtiene sus nutrientes del hospedador al que generalmente perjudica, o bien crea un medio desfavorable que altera las funciones y estructuras de la hortaliza o de la fruta. En la revisión que se hace a continuación, serán de capital interés tanto las enfermedades producidas por microorganismos patógenos como las descomposiciones originadas por microorganismos saprófitos, aunque no es posible establecer una diferenciación neta entre estos dos tipos de microorganismos. No obstante, se deben tener en cuenta las enfermedades que no son producidas por microorganismos ya que a veces se pueden confundir con enfermedades de etiología microbiana en el sentido de que es posible que sus síntomas sean bastante parecidos. Son ejemplos de enfermedades producidas por microorganismos apatógenos*, el corazón partido de las manzanas y de las peras, el ennegrecimiento del corazón de las patatas, el moteado negro de las hojas de la col y el corazón rojo de los repollos de col.

No se intentará hablar de las modificaciones, que, antes de la recolección de las hortalizas, ocasionan en las mismas los microorganismos patógenos que crecen en su superficie o en las partes que se utilizan como alimento; en lugar de ello, haremos una revisión de las modificaciones de origen microbiano que pueden tener lugar durante su recolección, clasificación, envasado, transporte, almacenamiento y manipulación, tanto por el mayorista de hortalizas como por el vendedor al detall, aunque algunas de estas modificaciones pueden iniciarse antes de la recolección. La falta de espacio únicamente permitirá tratar este tema de un modo general, y solamente desde el punto de vista del microbiólogo de alimentos, en lugar de tratarlo desde el punto de vista del fitopatólogo. Si se quiere tener un conocimiento más detallado de estas modificaciones, el lector debe consultar la bibliografía que se cita al final del presente Capítulo y, sobre todo, los boletines del Negociado de Industrias Vegetales del Ministerio de Agricultura de los EE.UU.

TIPOS GENERALES DE ALTERACIONES MICROBIANAS

Tanto en las frutas como en las hortalizas, el tipo de alteraciones más corrientes o predominantes no sólo varían según la especie de las mismas, sino también,

*N. del T.: Microorganismos saprófitos.

hasta cierto punto, de acuerdo con las distintas variedades. Las alteraciones microbianas de las frutas y de las hortalizas pueden ser debidas: (1) a microorganismos patógenos que actúan sobre los tallos, sobre las hojas, sobre las flores, o sobre las raíces de la planta, sobre los frutos o sobre otras determinadas partes de la planta utilizadas como alimento, por ejemplo las raíces o tubérculos, o sobre varias de estas partes de la planta, o (2) a microorganismos saprófitos, los cuales pueden ser invasores secundarios tras la actuación de un microorganismo patógeno para la planta, o es posible que penetren en una fruta u hortaliza sanas, como es el caso de los distintos tipos de «podredumbre», o que se multipliquen en la superficie de las mismas, como ocurre cuando las bacterias se multiplican en las hortalizas húmedas apiladas. A veces, la multiplicación de un microorganismo saprófito puede tener lugar después de la multiplicación de un microorganismo patógeno, mientras que otras veces son una serie de microorganismos saprófitos los responsables de la alteración. Así por ejemplo, las bacterias coliformes se pueden multiplicar en las frutas y en las hortalizas como invasoras secundarias y hallarse en abundante cantidad en los zumos elaborados a base de las mismas, si para elaborarlos se aprovecharon frutas u hortalizas podridas.

Si bien en la alteración de cada fruta u hortaliza predominan ciertos tipos de descomposición y determinadas especies de microorganismos, tanto en las hortalizas como en las frutas, algunos tipos de alteración se encuentran con mayor frecuencia que los demás.

Los tipos de alteración que se presentan con mayor frecuencia son los siguientes:

- 1 Podredumbre blanda por bacterias**, producida por la especie *Erwinia carotovora* y especies emparentadas, que fermentan las pectinas. De este tipo de podredumbres también se han aislado *Pseudomonas marginalis* y especies de los géneros *Bacillus* y *Clostridium*. Las frutas y hortalizas afectadas por este tipo de podredumbre parecen estar empapadas en agua, tienen una consistencia blanda y esponjosa, y con frecuencia un olor desagradable.
- 2 Podredumbre gris por mohos**, producida por especies del género *Botrytis*, por ejemplo *B. cinerea*, cuya denominación específica alude al color gris del micelio de este moho. Favorecen este tipo de alteración la humedad y la temperatura elevadas.
- 3 Podredumbre blanda por *Rhizopus***, originada por especies del género *Rhizopus*, por ejemplo *R. stolonifer*. Las especies de este género de mohos originan una podredumbre que con frecuencia es blanda y esponjosa. Muchas veces el crecimiento algodonoso del moho, con un moteado negro correspondiente a los esporangios, recubre grandes masas de alimentos.
- 4 Antracnosis**, producida generalmente por *Colletotrichum lindemuthianum*, por *C. coccodes* y por otras especies. Este tipo de alteración consiste

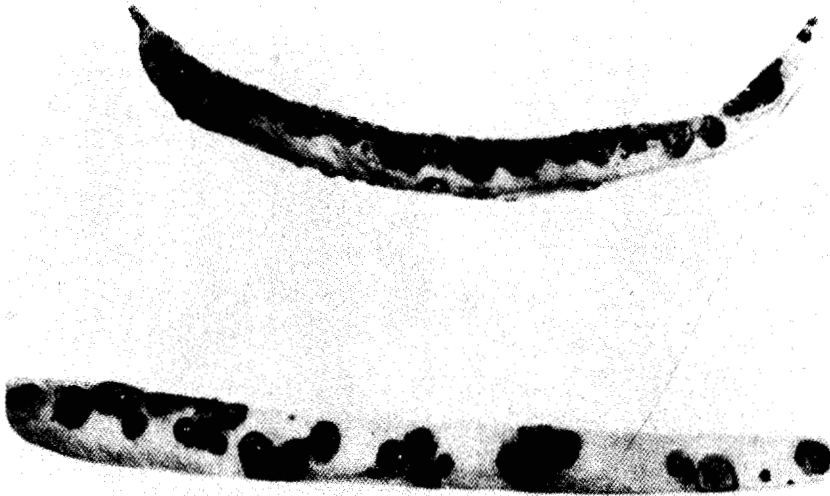


Figura 13.1. Antracosis de las judías. (Departamento de Fotografía del USDA).

en un moteado de las hojas y de los frutos o vainas de las leguminosas (véase la Figura 13.1).

- 5 **Podredumbre por *Alternaria***, producida por *Alternaria tenuis* y por otras especies de este género. Cuando empieza a crecer el moho, las zonas afectadas adquieren un color pardo-verdoso y posteriormente aparecen en la misma manchas de color pardo o negro.
- 6 **Podredumbre azul por mohos**, debida a la especie *Penicillium digitatum* y a otras especies de mohos. El color verde azulado al que debe su denominación este tipo de podredumbre es consecuencia de los acúmulos de esporas de este moho.
- 7 **Roya lanosa**, producida por especies de los géneros *Phytophthora*, *Bremia* y otras. Estos mohos crecen formando masas miceliarias blancas y de aspecto lanoso.
- 8 **Podredumbre blanda acuosa**, producida principalmente por *Sclerotinia sclerotiorum*, se encuentra sobre todo en las hortalizas.
- 9 **Podredumbre de los pedúnculos**, producida por especies de mohos pertenecientes a varios géneros, por ejemplo *Diplodia*, *Alternaria*, *Phomopsis*, *Fusarium* y otros, que afectan al extremo de los tallos o a los frutos.
- 10 **Podredumbre negra por mohos**, producida por *Aspergillus niger*. Esta podredumbre, conocida con la denominación de «tizón» por el vulgo, debe su nombre a los acúmulos de esporas del moho que tienen un color que varía desde pardo oscuro a negro (véase la Figura 13.2).

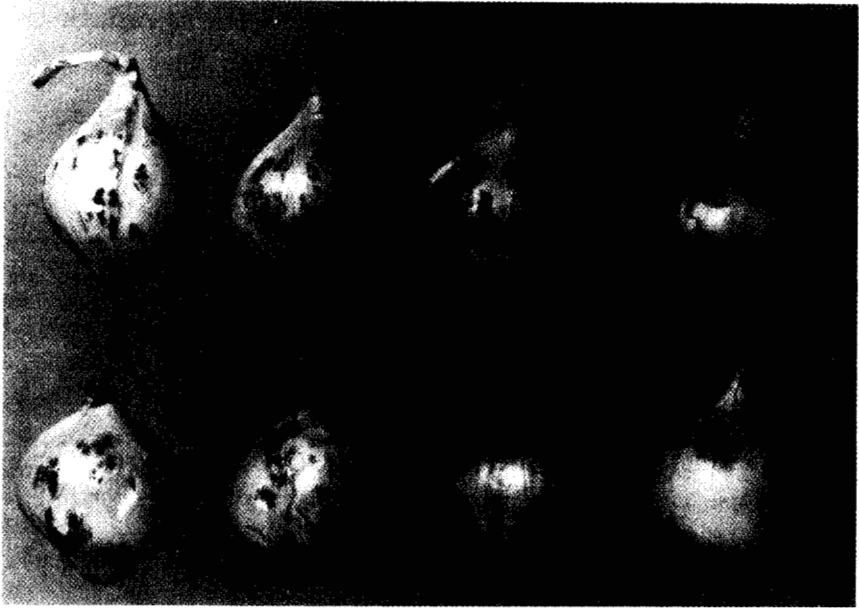


Figura 13.2. Podredumbre negra de las cebollas por mohos (*Departamento de Fotografía del USDA*).

- 11 **Podredumbre negra**, producida con frecuencia por especies del género *Alternaria*, aunque a veces se debe a especies de los géneros *Ceratostomella*, *Physalospora* y a otros géneros.
- 12 **Podredumbre rosa por mohos**, producida por la especie *Trichothecium roseum* cuyas esporas son de color rosado.
- 13 **Podredumbres por *Fusarium***, constituidas por diversos tipos de podredumbre producidos por especies del género *Fusarium*.
- 14 **Podredumbre verde por mohos**, producida generalmente por especies del género *Cladosporium*, aunque a veces se debe a otros mohos de esporas verdes, por ejemplo a especies del género *Trichoderma*.
- 15 **Podredumbre parda**, producida principalmente por especies del género *Sclerotinia* (*Molinia fructicola*).
- 16 **Viscosidad o agriado**, alteración producida por bacterias saprófitas en hortalizas húmedas y apiladas que se calientan.

Las alteraciones de origen fúngico de las hortalizas suelen dar lugar a zonas empapadas en agua y esponjosas, mientras que las podredumbres fúngicas de las frutas carnosas, como por ejemplo las que tienen lugar en las manzanas y en los melocotones, suelen presentar zonas de color pardo o de color crema en las que el micelio de los mohos crece en los tejidos existentes por debajo de la piel de la

fruta, mientras que es posible que las hifas aéreas y las esporas aparezcan posteriormente. Algunos tipos de alteraciones fúngicas aparecen como «podredumbres secas», en las que la zona infectada por los mohos es seca y dura y con frecuencia ha cambiado de color. La podredumbre de las frutas jugosas puede producir goteo.

La composición de las frutas y de las hortalizas influye en el probable tipo de alteración que tendrá lugar en las mismas. Por lo tanto, la podredumbre blanda por bacterias se da con mayor frecuencia en las hortalizas cuya acidez no es muy elevada, y en las frutas se presenta solamente en aquéllas que no son muy ácidas (Tabla 13.4). Como quiera que la mayoría de las frutas y de las hortalizas a veces son algo ácidas, su superficie está bastante seca y, por carecer de las vitaminas del grupo B, la causa más corriente de que se alteren son los mohos. Asimismo, la

Tabla 13.4. Principales defectos comerciales de algunas hortalizas y frutas.

<i>Artículo</i>	<i>Defecto comercial</i>
Familia de las Liliáceas:	
Espárragos	Podredumbre blanda por bacterias, podredumbre gris por mohos, podredumbre por <i>Phytophthora</i>
Cebollas	Podredumbre blanda por bacterias, podredumbre gris por mohos
Ajos	Podredumbre blanda por bacterias, podredumbre negra por mohos
Legumbres o familia de las Leguminosas:	
Judías verdes	Podredumbre blanda por bacterias, podredumbre gris por mohos, podredumbre blanda por <i>Rhizopus</i>
Judías de vaina amarilla	
Judías de Lima	
Familia de las Umbelíferas:	
Zanahorias	Podredumbre blanda por bacterias, podredumbre negra, podredumbre por <i>Fusarium</i> podredumbre gris por mohos, podredumbre blanda acuosa
Chirivía	Podredumbre blanda por bacterias, podredumbre blanda acuosa, podredumbre gris por mohos
Apio	Podredumbre blanda por bacterias, podredumbre blanda acuosa, podredumbre gris por mohos
Perejil	Podredumbre blanda por bacterias, podredumbre blanda acuosa
Remolachas	Podredumbre blanda por bacterias, podredumbre negra, podredumbre azul por mohos, podredumbre por <i>Fusarium</i>
Escarola	Podredumbre blanda por bacterias, podredumbre blanda acuosa, roya lanosa, podredumbre gris por mohos
Alcachofas	Podredumbre gris por mohos
Lechuga	Podredumbre blanda por bacterias
Ruibarbo	Podredumbre blanda por bacterias, podredumbre gris por mohos

(continúa)

Tabla 13.4. (continuación).

Artículo	Defecto comercial
Frutas pequeñas:	
Moras negras	Podredumbre azul por mohos, podredumbre gris por mohos, podredumbre por <i>Rhizopus</i>
Uvas	Podredumbre negra por mohos, podredumbre gris por mohos, podredumbre por <i>Rhizopus</i> , podredumbre azul por mohos
Fresas	Podredumbre gris por mohos, podredumbre coriácea (<i>Phytophthora cactorum</i>), podredumbre por <i>Rhizopus</i>
Frutas cítricas:	
Limones	Podredumbre por <i>Alternaria</i> , antracnosis, podredumbres azules por mohos, podredumbres del pedúnculo
Limas	
Naranjas	
Pomelos	
Frutas subtropicales:	
Aguacates	Antracnosis, podredumbre por <i>Rhizopus</i>
Plátanos	Antracnosis, <i>Fusarium</i> , <i>Gleoporum</i> , <i>Pestalozzia</i>
Higos	Podredumbre por <i>Alternaria</i> , podredumbre azul por mohos, podredumbre por <i>Cladosporium</i>
Dátiles	Levaduras, varios mohos
Frutas de hueso:	
Melocotones	<i>Alternaria</i> (o podredumbre verde por mohos), podredumbre gris por mohos; podredumbre negra por mohos; podredumbre azul por mohos, podredumbre parda, podredumbre por <i>Cladosporium</i> , podredumbre por <i>Rhizopus</i>
Albaricoques	
Ciruelas	
Cerezas	
Pomos:	
Manzanas	Gran cantidad de mohos
Peras	Podredumbre negra, podredumbre azul por mohos, podredumbre parda, moho gris, podredumbre por <i>Rhizopus</i>
Espinacas	Podredumbre blanda por bacterias, podredumbre gris por mohos
Batatas	Podredumbre por <i>Alternaria</i> , podredumbre negra (<i>Ceratostomella fimbriata</i>), podredumbre blanda por <i>Rhizopus</i>
Patatas	Podredumbre de los tubérculos por <i>Fusarium</i> , podredumbre en anillo por bacterias, podredumbre blanda por bacterias
Crucíferas:	
Col	Podredumbre blanda por bacterias, podredumbre gris por mohos podredumbre negra, podredumbre acuosa por bacterias
Coles de Bruselas	Podredumbre blanda por bacterias, podredumbre gris por mohos podredumbre negra, podredumbre acuosa por bacterias
Coliflor	Podredumbre blanda por bacterias, podredumbre gris por mohos podredumbre negra, podredumbre acuosa por bacterias
Brócoli	Podredumbre blanda por bacterias
Rábano	Podredumbre blanda por bacterias, podredumbre claviforme de la raíz, podredumbre por <i>Rhizoctonia carotae</i>
Nabos	Podredumbre blanda por bacterias, podredumbre claviforme de la raíz, podredumbre por <i>Rhizoctonia</i>
Nabos gallegos	Podredumbre blanda por bacterias, podredumbre gris por mohos, podredumbre negra, podredumbre blanda acuosa

Artículo	Defecto comercial
Cucurbitáceas:	
Pepino	Podredumbre blanda por <i>Rhizopus</i> , podredumbre blanda por bacterias, podredumbre azul por mohos, podredumbre gris por mohos
Melón	Podredumbre blanda por bacterias, podredumbre por <i>Diplodia</i> , podredumbre blanda por bacterias, podredumbre rosa por mohos, podredumbre por <i>Fusarium</i>
Calabaza	Podredumbre blanda por <i>Rhizopus</i> , podredumbre por <i>Diplodia</i> , podredumbre por <i>Phytophthera</i> , podredumbre gris por mohos
Calabacín	Podredumbre blanda por <i>Rhizopus</i> , podredumbre gris por mohos
Sandía	Podredumbre blanda por <i>Rhizopus</i> , podredumbre gris por mohos, podredumbre por <i>Phytophthea</i> , podredumbre blanda por bacterias
Tomates	Podredumbre por <i>Alternaria</i> , cancro por bacterias, manchas por bacterias, podredumbre gris por mohos, podredumbre verde por mohos, podredumbre por <i>Rhizopus</i>
Pimientos	Podredumbre por <i>Alternaria</i> , podredumbre gris por mohos
Berenjenas	Podredumbre del fruto (podredumbre por <i>Phomopsis</i>)

composición debe determinar las especies concretas de mohos que es más probable que crezcan; por lo tanto, mientras que en algunas clases de frutas o de hortalizas crece una gran variedad de especies de microorganismos causantes de alteraciones, en otras el número de estas especies microbianas es relativamente reducido.

La posibilidad de que los microorganismos productores de alteraciones penetren en las frutas y en las hortalizas también tiene importancia porque influye tanto en la posibilidad de que se produzcan como en el tipo de las mismas. Favorecerán esta penetración los daños por causas mecánicas, los microorganismos patógenos para las plantas y la incorrecta manipulación de estos alimentos. También tiene importancia la situación de la parte de la planta que se utiliza como alimento; así, las partes subterráneas de la misma, como son las raíces, los tubérculos, o los bulbos, como ocurre en los rábanos, en las remolachas, en las zanahorias y en las patatas, se hallan en contacto directo con la tierra húmeda y resultan infectadas por esta causa. Es posible que frutas tales como las fresas, los pepinos, los pimientos y los melones estén en contacto directo con la superficie del suelo. Las hojas, los tallos, y las flores, como es el caso de la lechuga, de las verduras, de la col, de los espárragos, del ruibarbo, y del brócoli, son partes de las plantas que están especialmente expuestas a ser contaminadas por microorganismos fitopatógenos o a ser dañadas por las aves y por los insectos, lo mismo que lo están la mayor parte de las frutas, tanto si se clasifican normalmente como hortalizas como si se consideran «frutas».

El tipo de alteración dependerá tanto del alimento afectado como del microorganismo causante de la misma. Cuando se trata de un alimento blando y jugoso, la putrefacción suele ser blanda y esponjosa y puede producir cierto goteo.

Existen, no obstante, ciertas especies de microorganismos causantes de alteraciones cuya acción sobre los alimentos es desecante, de forma que producen putrefacciones de tipo coriáceo o zonas superficiales de color anormal. Algunas veces la mayor parte del crecimiento miceliar tiene lugar por debajo de la superficie, apareciendo únicamente una mancha superficial de podredumbre, como es el caso de la mayoría de las podredumbres de las manzanas. En otros tipos de alteración, el crecimiento externo del micelio del moho es evidente, pudiendo tener colores distintos según el color que tengan sus esporas. La identificación del tipo de alteración correspondiente a una determinada fruta u hortaliza hace posible adoptar las medidas apropiadas para impedir la podredumbre en cuestión.

ALTERACIONES DE LOS JUGOS DE FRUTAS Y DE HORTALIZAS

Los jugos de las frutas o de las hortalizas se pueden obtener directamente exprimiéndolas, se pueden obtener exprimiendo estos alimentos una vez macerados o triturados, con el fin de incluir en el jugo una importante cantidad de pulpa, o se pueden obtener mediante extracción con agua, como es el caso del jugo de ciruelas. Estos jugos se pueden utilizar a su concentración normal o se pueden concentrar por evaporación o por congelación, y es posible conservarlos envasados, congelados o deshidratados.

Los jugos exprimidos o extraídos de las frutas son más o menos ácidos según de qué fruta se trate, oscilando su pH desde aproximadamente 2,4 para el jugo de limón o el de arándanos hasta 4,2 para el jugo de tomate, y todos ellos contienen azúcares, cuyo porcentaje puede oscilar desde aproximadamente el 2 por cien en el zumo de limón hasta casi el 17 por cien en algunas muestras de zumo de uva*. Si bien los mohos son capaces de crecer, y de hecho crecen, en la superficie de estos jugos, si se hallan expuestos al aire, su elevado porcentaje de agua favorece el crecimiento de las levaduras y bacterias que se multiplican con mayor rapidez. La predicción acerca de cuál de estos últimos microorganismos predominará en los jugos con escaso porcentaje de azúcares y de baja acidez, dependerá más de la temperatura a que se encuentren que de su composición. La separación de las partículas sólidas de los jugos obtenidos por extracción y su tamizado elevan el potencial de óxido-reducción y favorecen el crecimiento de las levaduras. La mayoría de los jugos de frutas tienen la suficiente acidez y la suficiente concentración de azúcar para favorecer el crecimiento de las levaduras dentro del intervalo de temperaturas que favorece su crecimiento, a saber, entre 15,6 y 35°C. La carencia de vitaminas del grupo B impide el crecimiento de ciertas bacterias.

*N. del T.: Zumo de uva sin fermentar, o mosto.

Por consiguiente, la modificación normal que cabe esperar en los zumos de frutas recién extraídos mantenidos a temperatura ambiental es una fermentación alcohólica por levaduras, seguida de la oxidación del alcohol y de los ácidos existentes en las frutas, llevada a cabo por levaduras formadoras de película o por mohos que crecen en su superficie si se hallan expuestos al aire, o de la oxidación del alcohol a ácido acético si se hallan presentes bacterias acéticas. Los tipos de levaduras que crecen en los zumos de frutas dependen de las especies predominantes en el zumo y de la temperatura, aunque generalmente la fermentación inicial la llevarán a cabo levaduras silvestres, como por ejemplo las levaduras apiculadas, las cuales sólo producen una concentración media de alcohol e importantes concentraciones de ácidos volátiles. A temperaturas próximas a las extremas dentro del intervalo señalado (entre 15,6 y 35 °C), es más probable que crezcan levaduras perjudiciales en lugar de crecer las que originan los sabores deseables. A temperaturas por encima de las comprendidas entre 32,2 y 35°C sería probable que creciesen lactobacilos y que éstos produjesen ácido láctico y algunos ácidos volátiles, ya que las temperaturas señaladas son excesivamente elevadas para la mayoría de las levaduras. A temperaturas inferiores a 15,6°C es posible que crezcan levaduras silvestres, aunque cuanto más se aproximan las temperaturas a la temperatura de congelación, tanto más probable es que en lugar de crecer levaduras crezcan bacterias y mohos. Es posible que la acidez de los zumos sea reducida por levaduras formadoras de película y por mohos que crecen en su superficie.

Además de la fermentación alcohólica habitual, los zumos de frutas pueden experimentar otras modificaciones debidas a microorganismos: (1) la fermentación láctica de los azúcares, principalmente por bacterias lácticas heterofermentativas, como son las especies *Lactobacillus pastorianus**, *L. brevis* y *Leuconostoc mesenteroides* en los zumos de manzana o de pera, y por bacterias lácticas homofermentativas, como son las especies *Lactobacillus arabinosus**, *L. leichmannii** y especies del género *Microbacterium*, (2) la fermentación de los ácidos orgánicos del zumo por bacterias lácticas, por ejemplo, por *Lactobacillus pastorianus**, y la fermentación del ácido málico a ácidos láctico y succínico, la fermentación del ácido quínico a ácido deshidroxiquínico y la fermentación del ácido cítrico a ácidos láctico y acético, (3) la producción de mucílago por las especies *Lactobacillus mesenteroides*, *Lactobacillus brevis* y *L. plantarum* en el zumo de manzana, y por la especie *L. plantarum* y por estreptococos en el zumo de uva.

Los jugos de hortalizas contienen azúcares, pero son menos ácidos que los zumos de frutas, ya que la mayoría tienen un pH cuyo valor se halla comprendido entre 5,0 y 5,8. Los jugos de hortalizas también contienen una abundante cantidad de factores de crecimiento, accesorios para los microorganismos, y de aquí que en los mismos crezcan en abundancia las exigentes bacterias lácticas. La fermentación ácida del jugo recién extraído, llevada a cabo por las bacterias productoras de ácido citadas y por otras, sería una causa probable de alteración, aunque también pueden crecer en él levaduras y mohos.

Los concentrados de jugos de frutas y de hortalizas, debido a su acidez y a su concentración de azúcar elevadas, favorecen la multiplicación de las levaduras y de las especies ácidotolerantes y sacarotolerantes de los géneros *Leuconostoc* y *Lactobacillus*. Estos concentrados se suelen enlatar y posteriormente son sometidos a tratamiento térmico o se congelan. El tratamiento térmico destruye los microorganismos importantes que podrían producir alteraciones, mientras que la congelación inhibe el crecimiento de los citados microorganismos.

BIBLIOGRAFIA

Frutas y hortalizas

- Bigelow, W. C., and P. H. Cathcart. 1921. Relation of processing to the acidity of canned foods. Natl. Canners Ass. Bull. 17-L.
- Brooks, C., E. V. Miller, C. O. Bratley, P. V. Mook, and H. B. Johnson. 1932. Effect of solid and gaseous carbon dioxide upon transit diseases of certain fruits and vegetables. USDA Tech. Bull. 318.
- Cruess, W. V. 1958. Commercial fruit and vegetable products. 4th ed. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Haard, N. F., and D. K. Salunkhe. 1975. Symposium: postharvest biology and handling of fruits and vegetables. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Holdsworth, S. D. 1971. Development in preservation. Food Proc. Ind. 40:27-31.
- Martin, L. B., J. A. Nordlee, and S. Taylor. 1986. Sulfite residues in restaurant salads. J. Food Prot. 49:126-129.
- McColloch, L. P., H. T. Cook, and W. R. Wright. 1968. Market diseases of tomatoes, peppers, and eggplants. USDA Agr. Res. Serv. Agr. Handb. 28.
- Pantastico, E. B. (ed.). 1975. Postharvest physiology, handling and utilization of tropical and subtropical fruits and vegetables. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Rose, D. H., R. C. Wright, and T. M. Whiteman. 1949. The commercial storage of fruits, vegetables and florists' stocks. USDA Circ. 278.
- Ryall, A. L., and W. J. Lipton. 1972. Handling transportation and storage of fruits and vegetables. Volume 1. Vegetables and melons. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Ryall, A. L., and W. T. Pentzer. 1974. Handling, transportation and storage of fruits and vegetables. Volume 2. Fruit and tree nuts. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Salunkhe, D. K. 1974. Developments in technology of storage and handling of fresh fruits and vegetables. Crit. Rev. Food Technol. April, pp. 15-54.
- Splittstoesser, D. F. 1970. Predominate microorganisms on raw plant foods. J. Milk Food Technol. 33:500-505.
- Splittstoesser, D. F., and J. O. Mundt. 1984. Fruits and vegetables. In M. Z. Speck (ed.), Compendium of methods for the microbiological examination of foods. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Starr, M. P., and A. K. Chatterjee. 1972. The genus *Erwinia*: enterobacteria pathogenic to plants and animals. Annu. Rev. Microbiol. 26:389-418.

- Tomkins, R. G. 1951. The microbiological problems in the preservation of fresh fruits and vegetables. *J. Sci. Food Agr.* 2:381-386.
- U.S. Department of Agriculture. 1932-1944. Market diseases of fruits and vegetables [series]. USDA Misc. Publ.
- U.S. Department of Agriculture. 1966. Market "diseases" of asparagus, onions, beans, peas, carrots, celery, and related vegetables. USDA Agr. Res. Serv. Agr. Handb. 303.
- Vaughn, R.H. 1963. Microbial spoilage problems of fresh and refrigerated foods. *In* L. W. Slanetz, et al. (eds.), *Microbiological quality of foods*. Academic Press, Inc., New York.
- Von Schelhorn, M. 1951. Control of microorganisms causing spoilage of fruit and vegetable products. *Adv. Food Res.* 3:429-482.
- Webb, T. A., and J. O. Mundt. 1978. Molds on vegetables at the time of harvest. *Appl. Environ. Microbiol.* 35:655-658.

Frutas

- Cruess, W. V. 1938. Commercial fig products. *Fruit Prod. J.* 17:337-339, 343.
- Esau, P., and W. V. Cruess. 1933. Yeasts causing "souring" of dried prunes and dates. *Fruit Prod. J.* 12:144.
- Harvey, J. M., and W. T. Pentzer. 1960. Market diseases of grapes and other small fruits. Agricultural Marketing Service. USDA Handb. 189.
- Luepschen, N. S., and M. A. Smith. 1962. Watermelon diseases on the Chicago market, 1960-1961. *Plant Dis. Rep.* 46:41-42.
- Miller, M. W., and H. J. Phaff. 1962. Successive microbial populations in Calimyrna figs. *Appl. Microbiol.* 10:394-400.
- Pierson, C. F., M. J. Ceponis, and L. P. McColloch. 1971. Market diseases of apples, pears, and quinces. USDA Agr. Res. Serv. Agr. Handb. 376.
- Woodroof, J. G., and B. S. Luh. 1975. Commercial fruit processing. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.

Hortalizas

- Edmond, J. B., and G. R. Ammerman. 1971. Sweet potatoes: production, processing, marketing. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Hucker, G. J., R. F. Brooks, and A. J. Emery. 1952. The source of bacteria in processing and their significance in frozen vegetables. *Food Technol.* 6:147-155.
- Jones, A. H., and A. G. Lochhead. 1939. A study of micrococci surviving in frozen-pack vegetables and their enterotoxic properties. *Food Res.* 4:203-216.
- Luh, B. S., and J. G. Woodroof. 1975. Commercial vegetable processing. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Lynch, L. J., R. S. Mitchell, and D. J. Casimir. 1959. The chemistry and technology of the preservation of green peas. *Adv. Food Res.* 9:61-151.
- McKee, R. K., and A. E. W. Boyd. 1962. Dry rot disease of potato. IX. The effect of diphenyl vapor on dry rot infection of potato tubers. *Ann. Appl. Biol.* 50:89-96.
- Smith, O. 1968. Potatoes: production, storing, processing. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.

- Splitstoesser, D. F., and D. A. Corlett, Jr. 1980. Aerobic plate counts of frozen blanched vegetables processed in the United States. *J. Food Prot.* 43:717-719.
- Splitstoesser, D. F., W. P. Wettergreen. 1964. The significance of coliforms in frozen vegetables. *Food Technol.* 18:392-394.
- Splitstoesser, D. F., W. P. Wettergreen, and C. S. Pederson. 1961. Control of microorganisms during preparation of vegetables for freezing. I. Green beans. II. Peas and corn. *Food Technol.* 15:329-331; 332-334.
- White, A., and H. R. White. 1962. Some aspects of the microbiology of frozen peas. *J. Appl. Bacteriol.* 25:62-71.

Jugos

- Berry, J. M., L. D. Witter, and J. F. Folinazzo. 1956. Growth characteristics of spoilage organisms in orange juice and concentrate. *Food Technol.* 10:553-556.
- Bowen, J. F., and F. W. Beech. 1964. The distribution of yeasts on cider apples. *J. Appl. Bacteriol.* 27:333-341.
- Carr, J. G. 1958. Lactic acid bacteria as spoilage organisms of fruit juice products. *J. Appl. Bacteriol.* 21:267-271.
- Carr, J. G. 1959. Some special characteristics of the cider lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.* 22:377-383.
- Faville, L. W., and E. C. Hill. 1952. Acid-tolerant bacteria in citrus juices. *Food Res.* 17:281-287.
- Hays, G. L., and D. W. Riester. 1952. The control of "off-odor" spoilage in frozen concentrated orange juice. *Food Technol.* 6:386-389.
- Lüthi, H. 1959. Microorganisms in noncitrus juices. *Adv. Food Res.* 9:221-284.
- Marshall, C. R., and V. T. Walkley. 1952. Some aspects of microbiology applied to commercial apple juice production. III. Isolation and identification of apple juice spoilage organisms. IV. Development characteristics and viability of spoilage organisms in apple juice. *Food Res.* 17:123-131; 197-203.
- Murdock, D. I., and W. S. Hatcher, Jr. 1975. Growth of microorganisms in chilled orange juice. *J. Milk Food Technol.* 38:393-396.
- Rushing, N. D., and V. J. Senn. 1964. Shelf life of chilled orange juice with heat treatment and preservatives. *Food Technol.* 18:112-114.
- Tressler, D. K., and M. A. Joslyn. 1971. Fruit and vegetable juice processing technology. 2d ed. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.

Contaminación, conservación y alteración de las carnes y de los productos cárnicos

Las carnes pueden ser frescas, curadas, desecadas, o tratadas por cualquier otro procedimiento de conservación. Las alteraciones de los productos cárnicos enlatados se estudiarán en el Capítulo 19.

CONTAMINACION

Se ha indicado que la masa muscular interna de las carnes contiene pocos microorganismos o no los contiene en absoluto, aunque se han encontrado en los ganglios linfáticos, en la médula ósea, e incluso en la propia masa muscular. En los ganglios linfáticos de los animales de carne roja se han aislado estafilococos, estreptococos, y especies bacterianas pertenecientes a los géneros *Clostridium* y *Salmonella*. Las prácticas corrientes de sacrificio eliminarían los ganglios linfáticos de las partes comestibles. No obstante, la contaminación importante se debe a causas externas durante las operaciones de sangría, manipulación y preparación de la canal. Durante la sangría, durante el desuello y durante la formación de la canal, los microorganismos proceden principalmente del exterior del animal (piel, pezuñas y pelo) y del tubo intestinal de éste. Los sistemas «humanitarios» de sacrificio (mecánicos, químicos y eléctricos) autorizados recientemente, influyen poco en la contaminación de la carne, aunque todos ellos van seguidos del degüello y de la sangría del animal, operaciones que pueden aportar microorganismos contaminantes. Lo mismo que ocurre con los métodos

Tabla 14.1. Promedio del número de microorganismos que contaminan la carne de vaca en la nave de sacrificio de un matadero industrial.

<i>Muestra</i>	<i>Bacterias</i>	<i>Levaduras</i>	<i>Mohos</i>
Canal de vacuno preparada sobre el suelo	6.400–830.000/cm		
Tierra (seca) procedente de los animales	110.000.00/g	50.000/g	120.000/g
Heces (recientes) de los animales	90.000.000/g	200.000/g	60.000/g
Contenido de la panza	2.000.000.000/g	180.000/g	1.600/g
Aire de la nave	140/cm ² de placa		2/cm ²
Agua de lavado de la canal	20–10.000/ml		
Agua de lavado del suelo	1.000–16.000/ml		

Fuente: Empey y Scott (1939).

de sacrificio antiguos que emplean el cuchillo para sacrificar los cerdos y las aves de corral, cualquier bacteria que contamine el cuchillo pronto se encontrará en la carne de las distintas partes de la canal, siendo vehiculada hasta allí por la sangre y por la linfa. La superficie externa del animal contiene una gran cantidad y varias especies de microorganismos procedentes del suelo, del agua, de los piensos y del estiércol, así como su propia flora superficial, mientras que en el contenido intestinal se encuentran los microorganismos propios de la flora intestinal (véase la Tabla 14.1). Los cuchillos, los paños, el aire, así como las manos y la ropa de los operarios pueden actuar como fuentes intermedias de contaminación. Durante las operaciones posteriores de manipulación de la carne, la contaminación puede tener su origen en las carretillas, en las cajas y en otros recipientes que se utilizan para el transporte de la carne; en otra carne contaminada; en el aire; y en el personal. Es especialmente perjudicial la contaminación de la carne con bacterias psicrótrofas de cualquier procedencia, por ejemplo, de otras carnes que han estado almacenadas bajo refrigeración. El equipo especializado, como son las picadoras, las embutidoras y empaquetadoras, y los ingredientes que se emplean para elaborar determinados productos cárnicos, por ejemplo las tripas y las especias, es posible que aporten importantes cantidades de microorganismos perjudiciales.

Como consecuencia de las distintas procedencias de los microorganismos, son muchas las especies microbianas que es probable que contaminen las carnes (Tabla 14.2). Los mohos de muchos géneros pueden llegar a la superficie de las carnes y crecer allí. Tienen especial importancia las especies de los géneros *Cladosporium*, *Sporotrichum*, *Geotrichum*, *Thamnidium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Alternaria* y *Monilia*. En la carne se suelen encontrar levaduras, principalmente asporógenas. Se han encontrado bacterias pertenecientes a muy distintos géneros, siendo los más importantes *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Sarcina*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Pro-*

Tabla 14.2. Microorganismos aislados con frecuencia en las carnes.

Producto	Microorganismos aislados
Carne fresca y refrigerada	Bacterias:
	<i>Acinetobacter</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Alcaligenes</i> y <i>Micrococcus</i>
	Mohos:
	<i>Cladosporium</i> , <i>Geotrichum</i> , <i>Sporotrichum</i> , <i>Mucor</i> y <i>Thamnidium</i>
Carnes tratadas y curadas	Levaduras:
	<i>Candida</i> , <i>Torulopsis</i> , <i>Debaryomyces</i> , y <i>Rhodotorula</i>
	Bacterias:
	<i>Lactobacillus</i> y otras bacterias lácticas, <i>Acinetobacter</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Serratia</i> y <i>Staphylococcus</i>
	Mohos:
	<i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Rhizopus</i> , y <i>Thamnidium</i>
	Levaduras:
	<i>Debaryomyces</i> , <i>Torula</i> , <i>Torulopsis</i> , <i>Trichosporon</i> y <i>Candida</i>

teus, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Campylobacter*, *Salmonella*, y *Streptomyces*. Muchas de estas bacterias son capaces de crecer a temperaturas de refrigeración. También existe la posibilidad de que la carne y los productos cárnicos se contaminen con microorganismos patógenos para el hombre, sobre todo por lo que se refiere a microorganismos de tipo intestinal.

Tanto durante la venta al por menor como en las propias casas particulares, suele tener lugar una contaminación adicional de la carne. En la carnicería, los cuchillos, las sierras, las cuchillas, las picadoras, los tajos donde se parte la carne, las balanzas, el serrín y los distintos recipientes, así como los empleados de la tienda, pueden añadir microorganismos a la carne. En las casas particulares, los recipientes del refrigerador utilizados anteriormente pueden ser causa de contaminaciones por microorganismos capaces de alterar la carne.

CONSERVACION

1. La conservación de las carnes, lo mismo que la de la mayoría de los alimentos perecederos, se suele conseguir mediante una combinación de distintos sistemas de conservación. El hecho de que la mayoría de las carnes sean un excelente medio de cultivo (con un elevado porcentaje de humedad, pH próximo a la neutralidad y abundantes nutrientes) unido al hecho de que es posible que algunos microorganismos se encuentren en los ganglios linfáticos, en los huesos y en los músculos y a que la contaminación por microorganismos causantes de alteraciones es casi inevitable, hace que la conservación de la carnes sea más difícil que

la de la mayoría de las demás clases de alimentos. A no ser que una vez sacrificado el animal la carne se refrigere inmediatamente y con rapidez, es posible que experimente modificaciones perjudiciales en cuanto a su aspecto y sabor y que, antes de ser sometida a algún tipo de tratamiento para conseguir su conservación, en ella crezcan algunos microorganismos. Su almacenamiento prolongado a temperaturas de refrigeración puede permitir cierto aumento del número de microorganismos.

ASEPSIA

La asepsia, o mantenimiento, en cuanto sea posible, de las carnes exentas de microorganismos durante las operaciones de sacrificio y manipulación, permite una más fácil conservación de las mismas sea cual fuere el procedimiento que para ello se emplee. En las carnes asépticas es posible prolongar la duración de su almacenamiento, su envejecimiento con el fin de hacerlas más tiernas tiene menor riesgo de que se alteren, los procedimientos de conservación mediante el curado y el ahumado son más seguros, y los tratamientos térmicos dan mejores resultados.

La asepsia empieza por evitar, en cuanto sea posible, la contaminación desde fuera del animal. Se ha recomendado la ducha del animal antes de proceder a su sacrificio con el fin de eliminar la mayor cantidad posible de la suciedad existente en el pelo y en la piel, pudiéndose utilizar un lavado de las extremidades con el fin de eliminar la suciedad de las pezuñas. Aun así, tanto la piel como el pelo del animal son importantes fuentes de contaminación de la superficie de la canal durante las operaciones del desuello. El cuchillo que se emplea para degollar a los animales tras su sacrificio, puede aportar microorganismos a la corriente sanguínea que todavía está circulando y también puede añadir microorganismos a la carne al atravesar la piel. Durante el escaldado de los cerdos se pueden añadir microorganismos a la piel y a los pulmones. Durante el desuello, la contaminación no sólo procede de la piel, sino que también puede tener su origen tanto en los cuchillos como en los matarifes y en el vestuario que éstos llevan. Durante la evisceración, la contaminación puede tener su origen en el intestino del animal; en el agua que se emplea para lavar y aclarar la canal; en los paños y cepillos que se emplean sobre la canal; en los distintos cuchillos, sierras, etc., empleados durante esta operación; así como en las manos y vestuario de los matarifes. Es posible que algunos microorganismos procedan de las paredes con las cuales ha contactado la canal o de las salpicaduras o de la humedad existente en el suelo de la nave de sacrificio. En la nave de oreo, la contaminación de la carne puede proceder del aire, de las paredes, del suelo y de los empleados. Tiene especial interés como origen de esporas de mohos el serrín que se suele extender en el suelo de los mataderos. La contaminación posterior durante el troceado y preparación de la canal, procede

de los cuchillos, de las sierras, de las cintas transportadoras, de las mesas, del aire, del agua y de los empleados del matadero.

El hecho de que los microorganismos añadidos a la carne a partir de las procedencias señaladas incluyen normalmente a todos los microorganismos que intervienen en la producción de sus alteraciones, algunos de ellos en cantidades importantes, pone de relieve la importancia de los métodos asépticos.

Una vez la carne se ha contaminado con microorganismos, su eliminación es difícil. Las partículas macroscópicas de tierra pueden ser eliminadas de la superficie de la carne lavándola con agua, aunque es posible que el agua que se emplea para lavarla aporte microorganismos. El empleo de agua a temperatura elevada, a presión, o de aerosoles antisépticos, es un sistema eficaz para reducir el número de bacterias de la superficie de las canales y quizá para prolongar su vida comercial bajo refrigeración. Las zonas superficiales enmohecidas, o con algún otro tipo de alteración, de las grandes piezas de carne, sobre todo por lo que se refiere a la carne «colgada» o envejecida, se pueden expurgar, aunque en realidad este expurgo no debe ser considerado un sistema de conservación.

Las películas que se emplean para envolver las carnes evitan que lleguen a la misma nuevas bacterias e influyen en el crecimiento de las que ya se encontraban en ella antes de envolverlas. Estas películas difieren considerablemente en cuanto a su permeabilidad al agua, al oxígeno y al dióxido de carbono. Se ha señalado que las carnes tienen una vida de almacén más corta si se envuelven en películas menos permeables al agua. Las carnes frescas conservan mejor su color rojo si se envuelven empleando una película permeable al oxígeno sin emplear vacío. Si se emplea una película envolvente permeable al oxígeno, se retiene mayor cantidad de dióxido de carbono procedente del metabolismo de las bacterias, consiguiéndose con ello que la carne tenga un color menos intenso, pero, en cambio, favorecerá el crecimiento de las bacterias lácticas pertenecientes a la familia *Lactobacillaceae* y a la especie *Brochothrix thermosphacta*. Las carnes curadas se envasan preferentemente empleando envolturas impermeables al oxígeno junto con el vacío. El vacío contribuye a disminuir la multiplicación de los microorganismos aerobios, sobre todo la de los mohos, reduce la velocidad de la multiplicación de los estafilococos y estimula la multiplicación de las bacterias productoras de ácido láctico, aunque parece ser que no estimula la multiplicación de *Clostridium botulinum* más de lo que la estimula el simple recubrimiento de la carne con una simple envoltura.

EMPLEO DEL CALOR

El enlatado de la carne es una técnica de conservación muy especializada en el sentido de que el procedimiento que se emplea es muy distinto según de qué producto cárnico se trate de conservar. La mayoría de los productos cárnicos son

alimentos de acidez baja que son excelentes medios de cultivo para cualquiera de las bacterias que sobreviven en ellos. La velocidad con que penetra el calor oscila desde una velocidad bastante rápida en los extractos de carne para sopas hasta una velocidad muy lenta en las carnes y pastas de carne enlatadas herméticamente. Los productos químicos que se añaden a las carnes en los distintos sistemas de curación, como por ejemplo las especias, la sal, o los nitratos y los nitritos, también influyen en el tratamiento térmico, generalmente haciéndolo más eficaz. La adición de nitratos a la carne coopera en la destrucción de las esporas de las bacterias anaerobias por la acción del calor e inhibe la germinación de las esporas que resisten al tratamiento térmico.

Según el tratamiento térmico a que han sido sometidas, las carnes enlatadas existentes en el comercio se pueden dividir en dos grupos: (1) carnes que han sido sometidas a tratamiento térmico con el fin de convertir en estéril, o por lo menos en «comercialmente estéril», el contenido de la lata, como es el caso de las carnes enlatadas para ser almacenadas en estanterías en las tiendas de venta al por menor, y (2) carnes que se someten a un tratamiento térmico de intensidad suficiente para destruir parte de los microorganismos capaces de alterarlas, pero que se deben guardar bajo refrigeración para evitar que se alteren. Los distintos tipos de jamón enlatado y las barras de fiambres de carne enlatados se tratan de esta manera.

A las carnes que se incluyen en el grupo 1º se les conoce con la denominación de carnes enlatadas con estabilidad de estantería¹, mientras que a las que se incluyen en el grupo 2º se les conoce como carnes enlatadas sin estabilidad de estantería, o de «conservación bajo refrigeración»². Las carnes curadas enlatadas deben su estabilidad microbiológica al tratamiento térmico a que se someten y a las distintas sales que se emplean en el curado de las mismas. La temperatura del tratamiento térmico que se emplea para las carnes curadas enlatadas con estabilidad de estantería es de 98°C, y el formato del envase suele ser inferior a 1 libra³. Las carnes curadas enlatadas sin estabilidad de estantería se suelen enlatar en

¹N. del T.: Las carnes enlatadas de este grupo han sido apertizadas para conseguir conservas con «esterilidad comercial», o bien se trata de conservas que han sido sometidas a un tratamiento térmico completo para conseguir «conservas estériles».

Las primeras, se mantienen estables si su temperatura de almacenamiento se mantiene por debajo de los 35 °C, y su tiempo de almacenamiento, sin que se alteren, es «ilimitado». En este grupo se incluyen los productos cárnicos curados enlatados.

Las conservas estériles se mantienen sin alterar durante un tiempo «ilimitado» a cualquier temperatura de almacenamiento.

No obstante, de hecho, la vida útil de la mayoría de los alimentos cuya conservación no presenta problemas microbiológicos no es ilimitada, sino que estará limitada a un tiempo cuya duración puede variar entre 1 y 3 años, ya que en los mismos suelen tener lugar reacciones químicas no enzimáticas, reacciones de auto-oxidación, la corrosión lenta del material de las latas, etc.

²N. del T.: Son las denominadas semiconservas.

³N. del T.: 453,6 gramos.

envases de un formato que puede ser incluso de 22 libras¹ y se someten a un tratamiento térmico de 65°C aproximadamente.

A los productos cárnicos se les puede aplicar calor mediante otros procedimientos distintos al tratamiento térmico que se emplea en el enlatado. Se ha propuesto tratar la superficie de la carne con agua a elevada temperatura con el fin de prolongar su tiempo de conservación, aunque este tratamiento puede ocasionar la disminución del valor nutritivo de la carne y modificar su color. La cocción de las salchichas vienesas en la planta de envasado mediante vapor de agua, o mediante agua a elevada temperatura, reduce el número de microorganismos y coopera en su conservación. El calor que se aplica a las carnes y productos cárnicos durante el ahumado contribuye a reducir el número de microorganismos. La cocción previa o ablandamiento de los jamones reduce algo su carga bacteriana, aunque no los esteriliza. Estos productos cárnicos se deben refrigerar, ya que son perecederos y, si se conservan a la temperatura ambiente, existe la posibilidad de que en los mismos crezcan microorganismos causantes de intoxicaciones alimentarias. Reflexiones parecidas cabe hacer con respecto a algunos embutidos cocidos tales como las salchichas de Frankfurt² y los embutidos de hígado, los cuales, a pesar de que contienen especias, se deben conservar bajo refrigeración. La cocción de las carnes que se consumen directamente reduce de forma importante la carga microbiana y, por consiguiente, prolonga su período de conservación. Las carnes precocinadas congeladas deben contener pocos microorganismos viables.

EMPLEO DE TEMPERATURAS BAJAS

Se conserva mayor cantidad de carne mediante el empleo de temperaturas bajas que mediante cualquier otro procedimiento de conservación, conservándose por refrigeración una cantidad mucho mayor que la que se conserva por congelación.

Refrigeración

Los actuales sistemas de preparación de conservas caseras de carne suponen su enfriamiento inmediato y rápido a temperaturas próximas a las de congelación y su conservación bajo refrigeración a temperaturas sólo ligeramente superiores a las correspondientes al punto de congelación. Cuanto antes se realiza y cuanto

¹N. del T.: 9,9792 kg (aprox. 10 kg).

²N. del T.: Salchichas alemanas muy sazonadas.

más rápido es el enfriamiento de la carne, tanto menor será la posibilidad de que en ella se multipliquen microorganismos mesófilos. Los fundamentos relativos al almacenamiento bajo refrigeración, que ya han sido revisados en el Capítulo 7, son de aplicación a las carnes así como también a los demás alimentos. La carne se conserva bajo refrigeración a temperaturas comprendidas entre $-1,4$ y $2,2$ °C, prefiriéndose, dentro de este intervalo, las temperaturas más bajas. El tiempo máximo para guardar refrigerada la carne de vacuno mayor es de aproximadamente 30 días, dependiendo de la cantidad de microorganismos que contiene, y también de la temperatura y de la humedad relativa de la cámara donde se conserva; para las carnes de cerdo, de cordero y de carnero este tiempo es de 1 a 2 semanas; y para la carne de ternera el tiempo máximo de conservación bajo refrigeración todavía es menor. Los embutidos crudos, como por ejemplo el picadillo de carne de cerdo no curada o las salchichas en ristras, se deben conservar por refrigeración. En el Capítulo 7 se puso de relieve que la humedad relativa de la cámara de conservación suele disminuir cuando aumenta la temperatura. La duración del almacenamiento se puede prolongar almacenando las carnes en una atmósfera a la que se le haya añadido dióxido de carbono u ozono, o bien se pueden aumentar tanto la temperatura como la humedad relativa sin que se acorte el tiempo de almacenamiento. A pesar de haberse realizado gran cantidad de experiencias acerca del almacenamiento de las carnes en atmósferas de distintos gases, este procedimiento de conservación no se ha utilizado en gran escala. Se han empleado con buenos resultados barcos provistos de cámaras frigoríficas para almacenar la carne en una atmósfera controlada de dióxido de carbono. El aumento de la concentración de dióxido de carbono en la atmósfera de la cámara de refrigeración inhibe a los microorganismos, pero también acelera la formación de metahemoglobina y, por consiguiente, la carne también pierde antes su «frescura» o color natural (véase la Figura 14.1). Existen algunas publicaciones que señalan que el período de conservación de la carne se ha duplicado almacenándola en una atmósfera de gas. Los expertos no se ponen de acuerdo respecto a cuál es la concentración óptima de dióxido de carbono a emplear, ya que para la mayoría de las carnes se han recomendado concentraciones comprendidas entre el 10 y el 30 por cien, y una concentración de hasta el 100 por cien para el bacon. El período de almacenamiento también se puede prolongar si en la atmósfera de la cámara de conservación se añaden de 2,5 a 3 p.p.m. de ozono. Se ha señalado que, en una atmósfera de estas características, la carne se puede conservar hasta 60 días a una temperatura de $2,2$ °C y a una humedad relativa del 92 por cien sin que en su superficie crezcan mohos ni se forme mucílago. Sin embargo, el ozono es un agente oxidante activo que puede comunicar a las grasas un sabor a óxido o a sebo. Se ha observado que mientras que las concentraciones de ozono señaladas inhiben la multiplicación de los microorganismos, una vez se ha iniciado su multiplicación, se necesitan concentraciones mucho más elevadas para detenerla.

Los microorganismos que ocasionan problemas en el almacenamiento en frío de las carnes son las bacterias psicrótrofas, principalmente las pertenecientes al género *Pseudomonas*, aunque en las carnes que se conservan a temperaturas

bajas son capaces de crecer bacterias de los géneros *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Flavobacterium*, y *Proteus*, además de levaduras y mohos.

Congelación

La mayor parte de la carne que se vende al por menor no ha sido congelada, aunque la congelación se emplea para conservar las carnes que se envían a grandes distancias, o para almacenarla hasta que lleguen épocas de escasez, y, naturalmente, en la actualidad se congelan considerables cantidades de carne en los congeladores domésticos. Las piezas de carne de gran tamaño, como son las medias canales o los cuartos, se congelan por congelación lenta, mientras que las hamburguesas y los trozos más pequeños se pueden someter a congelación rápida debidamente envueltos. La conservación de las carnes congeladas es cada vez más eficaz conforme la temperatura de almacenamiento desciende por debajo de $-12,2^{\circ}\text{C}$ y se aproxima a $-28,9^{\circ}\text{C}$.

Las carnes que se congelan están expuestas a los mismos riesgos de contaminación y multiplicación de microorganismos que las demás carnes. La congelación destruye aproximadamente la mitad de las bacterias, cuyo número decrece posteriormente de forma lenta durante el período de almacenamiento. Si la descongelación de la carne transcurre de forma lenta, durante la misma son capaces de reanudar su multiplicación las bacterias que se multiplican a temperaturas bajas durante la refrigeración, como son las especies de los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Flavobacterium*, y *Proteus*. Si se siguen las instrucciones recomendadas, en las carnes envasadas que han sido congeladas por el procedimiento de congelación rápida, la descongelación es demasiado rápida como para que en las mismas tenga lugar una abundante multiplicación de microorganismos.

EMPLEO DE RADIACIONES

Para prolongar el período de conservación de las carnes se han empleado los rayos ultravioleta junto con el almacenamiento bajo refrigeración. Este procedimiento de conservación se ha empleado principalmente en las piezas de gran tamaño colgadas en las cámaras de almacenamiento de la planta industrial. Los rayos ultravioleta reducen el número de microorganismos del aire e inhiben o destruyen a los existentes en la superficie de la carne a la que llegan directamente. Para que resulten afectados, los microorganismos deben encontrarse próximos a la superficie, sin estar protegidos ni por grasas ni por otras sustancias que no son atravesadas por los rayos ultravioleta.

Se han empleado las radiaciones para la maduración rápida de carnes que están «colgadas»¹ utilizando temperaturas más elevadas que las temperaturas normales de refrigeración con el fin de reducir en su superficie la multiplicación microbiana, sobre todo la de las levaduras y la de los mohos. La maduración, o colgamiento, ablanda la carne gracias a sus propios enzimas proteolíticos, utilizándose principalmente para obtener filetes tiernos y otros tajos especiales. La maduración normal de la carne tiene lugar a lo largo de varias semanas a temperaturas comprendidas entre 2,2 y 3,3 °C, con una humedad relativa entre el 80 y el 90 por cien y una ventilación de 3-9 pies cúbicos² por minuto, aunque mediante su exposición a los rayos ultravioleta, a una temperatura de 18 °C y humedad relativa del 85 al 90 por cien, sólo tarda en madurar de 2 a 3 días. Durante la maduración, es posible que tenga lugar un cierto grado de oxidación, favorecida por los rayos ultravioleta, y un cierto grado de hidrólisis de las grasas.

La irradiación con rayos gamma de las carnes todavía se emplea poco, encontrándose en fase experimental. Cuando se lleva a cabo su esterilización, se aplican dosis de 20 a 70 KiloGrays y es posible que en la carne aparezcan modificaciones tanto de su color como de su sabor.

CONSERVACION POR DESECACION

La desecación de las carnes con el fin de conservarlas se ha practicado durante siglos. El tasajo, o tiras de carne de vacuno desecadas al sol, fue el alimento clásico de los descubridores de América. Algunas clases de embutidos se conservan principalmente por su estado de desecación. En la carne de vacuno desecada, elaborada principalmente a partir de perniles de vacuno mayor curados y ahumados, el crecimiento de los microorganismos puede tener lugar antes de iniciar el tratamiento y puede continuar en el «adobo» durante el curado, aunque el número de microorganismos disminuye mediante los tratamientos del ahumado y de la desecación. Puede suceder que los microorganismos contaminen el pernil desecado durante su almacenamiento, y las lonchas durante las operaciones de su cortado y envasado.

Los productos cárnicos tales como los embutidos secos, los salamis secos, y los «cervelats» secos se conservan principalmente por su bajo porcentaje de humedad, ya que algunas variedades no se ahuman. La superficie externa seca de la tripa de cualquier embutido tiene una acción protectora.

Los antiguos procedimientos de desecación de las carnes se suelen combinar con la salazón y con el ahumado. Durante la Segunda Guerra Mundial se deseca-

¹N. del T.: Maduras.

²N. del T.: 3-9 pies cúbicos = 0,0850-0,2549 metros cúbicos.

ron mediante el calor piezas recién cocidas de carne de vacuno y de carne de cerdo. Otro procedimiento para desecar la carne de cerdo supone un tratamiento de corta duración de curado con nitrato-nitrito antes de proceder a la desecación y a la adición de lecitina como agente antioxidante y estabilizador. La desecación se puede realizar al vacío, en bandejas o mediante otros procedimientos. El producto final se conserva sin necesidad de mantenerlo bajo refrigeración.

La liofilización se emplea cada vez más para conservar carnes, obteniéndose mejores resultados cuando se emplea este procedimiento de conservación en productos cárnicos elaborados, como por ejemplo en las empanadas de carne, en las albóndigas o en los estofados de carne, que cuando se emplea para conservar carnes frescas.

La eficacia de este procedimiento de conservación de las carnes se está perfeccionando lo suficiente como para reducir al máximo los costes de producción en aquellos casos en los que se elaboran productos cárnicos para ser vendidos en tiendas especializadas, por ejemplo en las que venden alimentos destinados a aldeanos, campistas y montañeros.

La carne que se destina a ser desecada debe tener una buena calidad bacteriológica, sin que en la misma se haya multiplicado anteriormente un importante número de microorganismos ni hayan aparecido sabores desagradables.

EMPLEO DE CONSERVADORES

Al tratar del almacenamiento de las carnes bajo refrigeración ya se ha citado el empleo de una atmósfera controlada a la que se le ha incorporado dióxido de carbono u ozono. La salazón mediante el empleo de abundante sal es un antiguo procedimiento de conservación con el cual se suele obtener un producto de calidad inferior. Para aumentar su eficacia, la salazón se suele combinar con el curado y con el ahumado.

Curado

El curado de las carnes se encuentra limitado a las de vacuno y de cerdo, tanto picadas como formando piezas tales como los jamones, las manos, las costillas, los lomos y la panceta del cerdo, y la falda y los músculos de la pierna de las canales de vacuno. En un principio el curado de las carnes tenía por objeto conservarlas mediante salazón sin emplear refrigeración, aunque en la actualidad a la mayoría de las carnes curadas se les añade otros ingredientes y se someten a refrigeración y algunas también se ahuman, tratándose por consiguiente, en cierto modo, de carnes desecadas. Los agentes autorizados para curar las carnes son el cloruro sódico, el azúcar, el nitrato sódico, el nitrito sódico y el vinagre, aunque por lo

general sólo se suelen emplear los tres primeros. Las funciones respectivas de estos agentes son las siguientes:

El cloruro sódico, o sal común, se emplea principalmente como agente conservador y como condimento. La salmuera de protección, que se emplea para sumergir en ella la carne, puede contener un porcentaje aproximado del 15 por cien de sal, en contraposición con la salmuera que se bombea para inyectarla en el espesor de la carne, que tiene una concentración más elevada, que se aproxima al 24 por cien. Su principal finalidad es disminuir la a_w .

El azúcar comunica sabor a los alimentos y también es utilizado como fuente energética por las bacterias que reducen los nitratos en la solución de curado o en la salmuera. Se emplea principalmente la sacarosa, aunque se puede sustituir por la glucosa si se emplea un curado de menor duración, e incluso es posible que no se añada azúcar.

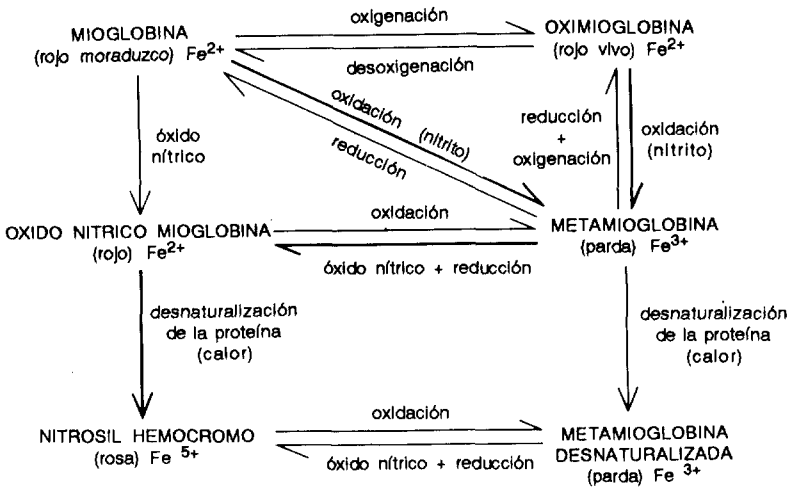
El nitrato sódico es un fijador indirecto del color, comportándose como bacteriostático en solución ácida, sobre todo frente a los microorganismos anaerobios. En el curado de larga duración también se ha empleado como producto de reserva a partir del cual se pueden formar nitritos gracias a la actividad reductora de las bacterias.

El nitrito sódico es la fuente de óxido nítrico, que es el verdadero fijador del color (Figura 14.1) y tiene al mismo tiempo una cierta acción bacteriostática cuando se encuentra en solución ácida.

Por consiguiente, la mayor parte del efecto conservador de los agentes que se emplean en el curado de carnes se atribuye al cloruro sódico, teniendo cierta acción bacteriostática el nitrato sódico y escasa el nitrito sódico. Las sales, el azúcar y las proteínas de la carne contribuyen a disminuir el valor de la a_w de las carnes curadas, por ejemplo en los jamones, hasta valores de 0,95 a 0,97 aproximadamente. Otros factores de conservación son las bajas temperaturas que se emplean tanto en el curado como en el ahumado.

El nitrato sódico también interviene en el color que presentan las carnes curadas. El color rojo-moraduzco de las carnes (Figura 14.1), por ejemplo, se debe a la hemoglobina de la sangre y a la mioglobina del músculo; la oxidación de estas sustancias da lugar a oxihemoglobina y oximioglobina, cuyo color es rojo vivo. En un medio ácido reductor y en presencia de nitritos, se originan nítricohemoglobina y nitrosohemoglobina a partir de la mioglobina y de la hemoglobina, respectivamente (véase la Figura 14.1). La acidez es originada por la propia carne, el estado reductor del medio se debe a las bacterias, y el óxido nítrico necesario para que tenga lugar la reacción se origina por la reducción del nitrito.

Existen cuatro procedimientos para añadir los agentes de curado a la carne: (1) el curado en seco, en el cual los ingredientes secos se frotan contra la carne, como se hace, por ejemplo, en el curado de la panceta, (2) el curado en adobo, en el cual las carnes se sumergen en una solución de los ingredientes, (3) el curado por inyección, en el cual por medio de una aguja se inyecta una solución concentrada de los ingredientes en las arterias y venas de la carne a través de una arteria o en



*Pigmento deseable en las carnes curadas

Figura 14.1. Modificaciones químicas de la mioglobina durante el tratamiento y curado de la carne (Tomado de John C. Forrest y otros, *Principles of Meat Science*. W. H. Freeman and Company. Copyright 1975.).

el tejido muscular en varios puntos de la carne, procedimiento que se emplea en el curado de los jamones de cerdo, y (4) el procedimiento de adición directa, en el cual los agentes que se emplean en el curado se añaden directamente a la carne picada finamente, como ocurre en los embutidos, y contribuyen a su conservación. La temperatura de curado, sobre todo cuando se trata de una solución de adobo, suele estar comprendida entre 2,2 y 3,3°C, y el tiempo de curado depende tanto del método utilizado como de las carnes que se han de curar. Los antiguos procedimientos de curado en adobo requieren varios meses, pero los nuevos sistemas de «curado rápido», en los cuales la solución de adobo es inyectada en el espesor de la carne, acortan mucho este tiempo.

Una vez curadas, la mayoría de las carnes se ahuman con el fin de facilitar su conservación; otras carnes, como por ejemplo la cecina, no se ahuman, pero deben ser refrigeradas.

Durante su curación, algunos tipos de embutido, como por ejemplo los embutidos de Turingia, el denominado cervelat, la mortadela de Líbano, los salamis, y los embutidos semisecos y secos de verano, experimentan una fermentación ácida, preferentemente de tipo láctico mixto. Esta fermentación no sólo tiene un efecto conservador, sino que también comunica a los embutidos un peculiar sabor agradable. Algunos fabricantes de embutidos transfieren a los mismos la flora láctica mixta de un lote anterior, aunque con el empleo de cultivos puros de bacterias productoras de ácido láctico, como por ejemplo de *Pediococcus cerevi-*

Tabla 14.3. Microorganismos que han sido aislados en las carnes curadas.

<i>Carne</i>	<i>Microorganismo</i>
Embutidos:	
Salami	Lactobacilos homofermentativos
Boloñesa de gran calibre	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> , lactobacilos heterofermentativos
Salchichas ahumadas	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> , lactobacilos heterofermentativos
Salchichas Frankfurt	Estreptococos, pediococos, leuconostocs, lactobacilos, micrococos*, esporógenos, levaduras
De cerdo fresco	Leuconostocs, microbacterias, lactobacilos, pseudomonas
Bacon:	
En lonchas, empaquetado	Principalmente lactobacilos; también micrococos*, enterococos
Wiltshire	Micrococos*, lactobacilos
Envasado al vacío	Estreptococos, leuconostocs, pediococos, lactobacilos
Jamón:	
Crudo	Lactobacilos, micrococos*, microbacterias, enterococos, leuconostocs
Envasado en lonchas	<i>Streptococcus faecium</i> , <i>Microbacterium</i> spp.
Con especias, prensado	Lactobacilos heterofermentativos, leuconostocs
Enlatado	Enterococos, bacilos, micrococos*
Irradiado	Enterococos
Irradiado en caliente	Bacilos, clostridios

siae, se ha conseguido controlar mejor la fermentación deseada y acortar su duración. En la Tabla 14.3 se ofrece un resumen de las distintas bacterias de las que se tiene referencia que han sido empleadas en las carnes fermentadas y curadas.

Se añade vinagre a la solución que se emplea para conservar alimentos tales como las manos de cerdo adobadas, la carne de vacuno adobada con especias, y otras carnes adobadas. Las manos de cerdo se curan primeramente en una solución que contiene sal, nitrato sódico y nitrito sódico, se cuecen, y a continuación se mantienen en una salmuera de vinagre y sal. Después se introducen en frascos de cristal o en otro tipo de recipientes, se recubren con una salmuera recién preparada que contiene sal y vinagre, y finalmente se cierran los frascos. A no ser que la acidez sea excesivamente baja, este tipo de conserva no se alterará.

Microbiología de las salmueras que se utilizan en el curado de carnes. Los microorganismos que se encuentran tanto en las salmueras que se emplean en el curado de carnes como en las carnes que se sumergen en ellas, son distintos según el estado inicial de la carne y según el procedimiento de curado que se emplee. Parece ser que la cantidad de microorganismos existentes en la sal tiene escasa importancia excepto en la carne en salazón, en cuya superficie,

después de ser extraída de la salmuera o después de ser salada en seco, a veces crecen colonias de color rojo correspondientes a bacterias halófilas parecidas a las que existían en la sal. En los procedimientos de curado rápido que se emplean en la actualidad en América en algunas carnes, como por ejemplo en el jamón, al parecer las bacterias de la salmuera influyen poco en las modificaciones que tienen lugar en la carne, ya que no alcanzan en ella un número elevado y en su mayor parte son destruidas en su superficie por el ahumado posterior a que se someten. Estas salmueras contienen principalmente bacterias lácticas, excepto en la superficie de las mismas en la que pueden crecer micrococos y levaduras. Las bacterias lácticas son lactobacilos y pediococos principalmente. En el procedimiento antiguo de curado de larga duración, las bacterias, sobre todo los micrococos, actuaban reduciendo los nitratos a nitritos, fijando de esta forma el color rojo a la carne.

Los procedimientos que se emplean en otros países para curar la panceta suponen el empleo de salmueras bastante concentradas en las cuales se mantiene sumergido este producto cárnico durante mucho tiempo. Parece ser que en las salmueras, además de los micrococos, crece una flora microbiana mixta especializada formada por cocos y, en su mayor parte, por bacilos, tanto grampositivos como gramnegativos, que producen colonias minúsculas en los medios de agar. Se trata de bacterias que son de desde halotolerantes a halófilas y que reducen los nitratos a nitritos. Cuando las piezas de panceta se tratan en seco con la mezcla para curado en seco y se prensan en cajas, se permite el crecimiento de bacterias psicrótrofas halotolerantes que reducen los nitratos a nitritos. En algunas salmueras empleadas para curar carne de vacuno se han encontrado micrococos, lactobacilos, estreptococos, especies del género *Achromobacter*, vibrios, y tal vez pediococos, además de un reducido número de otras bacterias. Las especies del género *Micrococcus* son activas en muchas soluciones de adobado, habiéndose encontrado principalmente en las que contienen elevadas concentraciones de sal que se emplean para curar la panceta en las Islas Británicas y en Canadá.

Ahumado

En el Capítulo 9 se revisó el empleo del humo de madera como agente conservador, señalándose que el ahumado tiene dos objetos principales: comunicar sabores agradables a los alimentos y contribuir a que se conserven. En el citado Capítulo se indicó que las sustancias conservadoras que se añaden a la carne, junto con la acción del calor durante el ahumado, ejercen una acción germicida y que la desecación de la carne, junto con las sustancias químicas del humo, inhiben la multiplicación de los microorganismos durante su almacenamiento.

Mediante los procedimientos antiguos de curado y ahumado, en los que se empleaban elevadas concentraciones de sal en el curado y en los que durante el ahumado se conseguía un mayor grado de desecación y se añadían a la carne conservadores químicos, se obtenían jamones, cecina, etc., que se conservaban

sin necesidad de someterlos a refrigeración. No obstante, algunos de los procedimientos más modernos, proporcionan un alimento perecedero que se debe refrigerar. Son ejemplos de ello los jamones precocidos o ablandados y los embutidos con un elevado porcentaje de humedad.

Espicias

Las especias y los condimentos que se añaden a productos cárnicos tales como los fiambres y embutidos, no se encuentran en los mismos en concentraciones suficientemente elevadas como para que se comporten como conservadores, aunque es posible que refuercen el efecto conservador de otros factores. Determinados productos cárnicos, como por ejemplo la mortadela, las salchichas polacas, las salchichas de Frankfurt y otros embutidos, se conservan gracias al efecto combinado de las especias, del curado, del ahumado (deseccación), de la cocción, y de la refrigeración.

Antibióticos

Si bien en nuestro país el único empleo permitido de antibióticos en los alimentos carnosos se limita en la actualidad al pescado (clortetraciclina en el hielo en la proporción de 7 ppm), se han realizado experiencias que han demostrado que los antibióticos se pueden utilizar con buenos resultados para prolongar la duración del almacenamiento de las carnes a temperaturas de refrigeración o a temperaturas más elevadas. Los antibióticos recomendados con mayor frecuencia han sido la clortetraciclina, la oxitetraciclina, la nisina y el cloranfenicol. Los antibióticos se pueden añadir a las carnes de varias formas: (1) El antibiótico se puede administrar incorporándolo al pienso que consumen los animales durante un tiempo prolongado, (2) se puede administrar a los animales en dosis más elevadas durante un corto tiempo antes de sacrificarlos, (3) se puede inyectar en la canal o en determinadas partes de la misma, o (4) se puede aplicar a la superficie de las piezas de carne, o mezclarlo con la carne picada. La administración de un antibiótico incorporándolo al pienso que consumen los animales lleva a cabo una selección de los microorganismos de su tracto intestinal, posiblemente reduciendo en el mismo el número de bacterias capaces de alterar la carne y, por lo tanto, reduciendo el número de las que es probable que lleguen a la misma desde esta procedencia durante el sacrificio y preparación de la canal. Se ha señalado que la inyección del antibiótico antes de sacrificar el animal se podría emplear para prolongar el período de conservación de las canales a temperatura ambiente antes de que lleguen al refrigerador, o para mantener la carne de vacuno durante un corto tiempo a temperaturas que favorecerán el ablandamiento de determinadas piezas de carne, y también para prolongar el tiempo de conservación de

carnes que se mantienen a temperaturas de refrigeración. La inyección de un determinado antibiótico en la canal o en determinadas partes de la misma, inmediatamente después de haber sacrificado el animal, tendría las mismas finalidades. El período de almacenamiento de las carnes se podría prolongar sumergiéndolas en una solución de antibiótico o añadiendo éste a las carnes picadas.

ALTERACION

La carne fresca está expuesta a modificaciones debidas a sus propios enzimas y a la actividad de los microorganismos, y su grasa puede ser oxidada químicamente. Para ablandar la carne de vacuno o las piezas de caza es deseable un cierto grado de autólisis, cosa que se consigue colgándolas o dejándolas madurar, aunque en las demás carnes frescas no se suele estimular el proceso autolítico. Las modificaciones autolíticas incluyen cierta acción proteolítica sobre los tejidos muscular y conjuntivo y una ligera hidrólisis de las grasas. Al defecto ocasionado por la excesiva autólisis se le ha denominado «agriado», término inexacto que se ha aplicado a diversos tipos de alteraciones de los alimentos y, de hecho, a casi todos los tipos de alteraciones que desprenden un olor ácido. El agriado debido a la autólisis resulta difícil separarlo o diferenciarlo de los defectos ocasionados por la actividad microbiana, sobre todo de los debidos a la proteolisis simple. Sin embargo, esta hidrólisis previa de las proteínas por los enzimas de la carne sin duda facilita el crecimiento inicial de los microorganismos en la misma, por suministrar a algunos microorganismos, incapaces de desdoblar las proteínas originarias completas, los compuestos nitrogenados más sencillos que necesitan.

PRINCIPIOS GENERALES EN LOS QUE SE BASA LA ALTERACION DE LA CARNE

Se ha señalado que durante el sacrificio, durante la preparación de la canal, y durante el despiece, los microorganismos de la carne proceden principalmente del exterior del animal y de su tracto intestinal, aunque se añaden otros procedentes de los cuchillos, de los paños, del aire, de los matarifes, de las carretillas de transporte, de las cajas y del equipo en general. Las carnes se contaminan por especies muy distintas de microorganismos, y de aquí que se pueda suponer que, normalmente, se hallan en las mismas la mayoría de las especies capaces de

producir alteraciones, las cuales serán capaces de multiplicarse si encuentran condiciones apropiadas para ello.

Invasión de los tejidos por microorganismos

Tras la muerte del animal, tiene lugar la invasión de los tejidos por microorganismos contaminantes. Los factores que intervienen en esta invasión son los siguientes:

- 1 *Carga microbiana existente en el intestino del animal.* Cuanto mayor es esta carga microbiana, tanto mayor es la invasión de los tejidos. Por esta razón se ha recomendado someter a ayuno a los animales durante las 24 horas anteriores a su sacrificio.
- 2 *Estado fisiológico del animal inmediatamente antes de su sacrificio.* Si el animal está excitado, febril, o fatigado, es más probable que las bacterias penetren en los tejidos, la sangría suele ser incompleta, favoreciendo por tanto la diseminación de las bacterias y los cambios químicos que tienen lugar en los tejidos pueden desarrollarse con mayor facilidad, como son los cambios debidos a que los microorganismos se multiplican mejor como consecuencia de un pH más elevado, a que se liberan antes los jugos de las fibras musculares de la carne, y a que las proteínas se desnaturalizan con mayor rapidez. Como consecuencia de que en el animal fatigado el glucógeno se utiliza totalmente, el pH no descenderá desde 7,2 a aproximadamente 5,7, como sucedería normalmente.
- 3 *Procedimiento de sacrificio y forma de realizar la sangría.* Cuanto más completa y más higiénica sea la sangría, tanto mejor será la calidad de conservación de la carne. Existen pocas referencias acerca de la influencia que tienen los procedimientos humanitarios de sacrificio sobre la calidad de conservación de la carne, aunque se ha señalado que en la carne de cerdo y en la panceta procedentes de animales sacrificados mediante aturdimiento con una descarga eléctrica, se ha encontrado un grado de enverdecimiento mayor que el que se produce en estos mismos productos procedentes de animales que fueron sacrificados con dióxido de carbono.
- 4 *Velocidad de enfriamiento de la canal.* El enfriamiento rápido de la canal reducirá la velocidad con que los microorganismos invaden los tejidos.

En la carne, los microorganismos se diseminan a través de los vasos sanguíneos y linfáticos y a través de los intersticios de tejido conectivo, mientras que en la carne picada se diseminan gracias a la operación del picado.

Multiplicación de los microorganismos en la carne

Para muchos microorganismos, la carne es un medio de cultivo ideal ya que su porcentaje de humedad es elevado, contiene gran cantidad de nutrientes nitrogenados de diversos grados de complejidad y está provista de abundantes sales minerales y factores accesorios del crecimiento. Además, suele contener algún hidrato de carbono fermentescible (glucógeno) y su pH es apropiado para que en ella se multipliquen la mayoría de los microorganismos.

Los factores que influyen en la multiplicación de los microorganismos y que determinan, por consiguiente, el tipo de alteración de la carne, son los que se citaron en el Capítulo 4. Estos factores, descritos de forma concisa, son los siguientes:

- 1 *Tipo y número de microorganismos contaminantes y diseminación de los mismos en la carne.* A temperaturas de refrigeración, por ejemplo, una carne cuya flora contaminante contuviese un elevado porcentaje de microorganismos psicrótrofos se alteraría con mayor rapidez que una carne que contuviese un bajo porcentaje de los citados microorganismos.
- 2 *Propiedades físicas de la carne.* La extensión de la superficie de la carne expuesta tiene una importante influencia en la velocidad con que aquélla se altera, debido a que la máxima carga microbiana se encuentra en la superficie y a que los microorganismos anaerobios disponen de aire. Es posible que la grasa proteja algunas superficies, aunque también está expuesta a experimentar alteraciones, principalmente de tipo enzimático y químico. El picado de la carne aumenta extraordinariamente la superficie expuesta a la contaminación y por esta razón y por liberar humedad y distribuir las bacterias por toda la masa de la carne, estimula la multiplicación de los microorganismos. La piel que recubre las canales sirve para proteger la carne que envuelve, aunque en la piel se multiplican los microorganismos*.
- 3 *Propiedades químicas de la carne.* Ya se ha indicado que la carne, en general, es un excelente medio de cultivo para los microorganismos. El porcentaje de humedad es importante para determinar si los microorganismos son capaces de multiplicarse en ella y qué especies son capaces de hacerlo, especialmente en su superficie en la que puede tener lugar un proceso de desecación. Por consiguiente, la superficie de la carne puede

*N. del T.: Los autores aluden a las carnes encorrambradas, es decir, que conservan la piel como medio de protección. Se trata de canales de reses vacunas, generalmente terneros, que se han sacrificado, se han eviscerado y circulan con sello y certificado de sanidad del matadero de origen. Se pueden trocear, aunque en España, la legislación no permite dividir las en más de seis trozos, tratándose por lo tanto de piezas definidas que permiten reconocer la región anatómica a la que pertenecen.

estar tan seca que no permita la multiplicación de ningún microorganismo, puede estar algo húmeda para que crezcan mohos, algo más húmeda para que sea estimulada la multiplicación de levaduras, y muy húmeda para favorecer la multiplicación de bacterias. A este respecto, es importante la humedad relativa de la atmósfera donde se encuentran almacenadas las carnes. Los microorganismos tienen a su disposición abundantes nutrientes, aunque el bajo porcentaje o la ausencia de carbohidratos fermentescibles y el elevado porcentaje de proteínas tienden a favorecer la multiplicación de los microorganismos de tipo no fermentativo, de aquéllos que son capaces de utilizar las proteínas y sus productos de descomposición para obtener nitrógeno, carbono y energía. El pH de la carne fresca puede oscilar desde aproximadamente 5,7 hasta valores superiores a 7,2, que dependen tanto de la cantidad de glucógeno existente en el tejido muscular del animal en el momento de ser sacrificado como de las modificaciones que posteriormente tienen lugar en la carne. Un valor de pH más elevado favorece el crecimiento de los microorganismos; un valor más bajo suele retardar la multiplicación de los microorganismos y es posible que sea selectivo para determinados microorganismos, por ejemplo para las levaduras.

- 4 *Disponibilidad de oxígeno.* Las condiciones de aerobiosis en la superficie de la carne son apropiadas para que en la misma se multipliquen mohos, levaduras y bacterias aerobias. En el interior de las piezas compactas de carne, las condiciones son anaerobias y tienden a continuar siéndolo debido a que el potencial de óxido-reducción está equilibrado a muy bajo nivel, aunque en la carne picada el oxígeno difundirá lentamente y elevará poco a poco el potencial de O-R, a no ser que el revestimiento o el material de la envoltura sea impermeable al oxígeno. La anaerobiosis facilita la putrefacción de la carne.
- 5 *Temperatura.* La carne se debe almacenar a temperaturas no excesivamente superiores a las de congelación, a las cuales únicamente son capaces de multiplicarse los microorganismos psicrótrofos. Los mohos, las levaduras y las bacterias psicrótrofas crecen lentamente, produciendo en las carnes las alteraciones típicas que se estudiarán más adelante. Cuando se mantiene la carne a las citadas temperaturas bajas, la putrefacción de las mismas es rara, aunque es probable que tenga lugar a temperatura ambiente. Lo mismo que ocurre en la mayoría de los alimentos, la temperatura tiene mayor importancia para seleccionar las especies de microorganismos que crecerán y el tipo de alteración que tendrá lugar en la carne. A temperaturas de refrigeración, por ejemplo, crecen mejor los microorganismos psicrófilos y es probable que tenga lugar la proteólisis, llevada a cabo por la especie bacteriana dominante, seguida de la utilización de los péptidos y aminoácidos resultantes de la proteólisis por una especie secundaria. A las temperaturas normales del ambiente, crecerían microorganismos mesófilos, como

por ejemplo bacterias coliformes y especies de los géneros *Bacillus* y *Clostridium*, con producción de cantidades moderadas de ácido a partir de las limitadas concentraciones de carbohidratos existentes.

Tipos generales de alteración de las carnes

Los tipos corrientes de alteración de las carnes se pueden clasificar teniendo en cuenta si tienen lugar en aerobiosis o en anaerobiosis y si son causadas por bacterias, por levaduras, o por mohos.

Alteraciones en aerobiosis. En aerobiosis, las bacterias pueden producir los siguientes tipos de alteraciones:

1 *Mucílago superficial*, que puede ser producido por especies de los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Alcaligenes*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Bacillus* y *Micrococcus*. Algunas especies de *Lactobacillus* son capaces de producir mucílago. La temperatura y la existencia de humedad influyen en el tipo de microorganismos que producen mucílago superficial. A temperaturas de refrigeración, el elevado porcentaje de humedad favorecerá el crecimiento de las bacterias del grupo *Pseudomonas-Alcaligenes*; cuando el porcentaje de humedad es menor, como es el caso de las salchichas de Frankfurt, será estimulado el crecimiento de micrococos y levaduras; y cuando el porcentaje de humedad es todavía menor, es posible que crezcan mohos. A temperaturas más elevadas, incluso a la temperatura ambiente, los micrococos y otras bacterias mesófilas compiten favorablemente con las pseudomonas y bacterias emparentadas con ellas. En la Tabla 14.4 se indica el número de microorganismos necesarios antes de que se descubra mal olor o mucílago en las carnes y en otros alimentos protei-

Tabla 14.4 Número de microorganismos existentes en los alimentos proteicos coincidiendo con la aparición del olor y de la mucosidad.

Alimento	Número	
	Cuando el olor es notorio	Cuando la mucosidad es notoria
Carne de ave	2,5–100 × 10 ⁶ /cm ²	10–60 × 10 ⁶ /cm ²
Carne de vaca	1,2–100 × 10 ⁶ /cm ²	3–300 × 10 ⁶ /cm ²
Salchichas de Frankfurt	100–130 × 10 ⁶ /cm ²	130 × 10 ⁶ /cm ²
Carnes tratadas		10–100 × 10 ⁶ /cm ²
Bacon de Wiltshire		1,5–100 × 10 ⁶ /cm ²
Pescado	1–130 × 10 ⁶ /cm ²	
Huevos con cáscara y huevos líquidos	10 × 10 ⁶ /g	

cos. Para producir este tipo de alteración es necesario un número de microorganismos del orden de millones por centímetro cuadrado.

2 *Modificaciones del color de los pigmentos de la carne* (véase la Figura 14.1).

El color rojo de la carne, conocido con la denominación de «frescura», se puede modificar hacia ciertas tonalidades de verde, pardo, o gris como consecuencia de que las bacterias producen compuestos oxidantes, por ejemplo, peróxidos, o sulfuro de hidrógeno. Como agentes causantes del enverdeamiento de los embutidos se han señalado especies de los géneros *Lactobacillus* (principalmente las especies heterofermentativas) y *Leuconostoc*.

3 *Modificaciones de las grasas*. La oxidación química de las grasas no saturadas de las carnes tiene lugar cuando están expuestas al aire, pudiendo ser catalizada por la luz y por el cobre. Es posible que las bacterias lipolíticas produzcan un cierto grado de lipólisis y que aceleren la oxidación de las grasas. Es posible que algunas grasas, como por ejemplo la grasa de la mantequilla, por oxidación, adquieran un aspecto parecido al del sebo y se enrancien tras ser hidrolizadas, aunque en la mayoría de las grasas animales, al ser oxidadas, aparece un enranciamiento de tipo oxidativo, con desprendimiento de un olor desagradable debido a los aldehídos y ácidos resultantes de su oxidación. Además, la hidrólisis de las grasas comunica a las carnes el sabor de los ácidos grasos liberados.

El enranciamiento de las grasas puede ser causado por especies lipolíticas de los géneros *Pseudomonas* y *Achromobacter** o por levaduras.

4 *Fosforescencia*. Esta alteración poco frecuente es producida por bacterias fosforescentes o luminiscentes, por ejemplo por especies del género *Photobacterium* que crecen en la superficie de la carne.

5 *Distintos colores de la superficie de la carne debidos a bacterias productoras de pigmentos*. El moteado rojo, por ejemplo, puede ser producido por *Serratia marcescens* o por otras bacterias que elaboran pigmentos rojos. *Pseudomonas synchyanea* puede comunicar un color azul a la superficie de la carne. Las manchas amarillas son debidas a bacterias que elaboran pigmentos de color amarillo, que suelen ser especies de los géneros *Micrococcus** o *Flavobacterium*. *Chromobacterium lividum* y otras bacterias producen motas de color azul-verdoso a negro-parduzco en la carne de vacuno almacenada. Las manchas moradas de «tinta de estampilla» de la grasa superficial son producidas por cocos y bacilos que elaboran pigmentos de color amarillo.

Cuando la grasa se enrancia y aparecen los peróxidos, el color amarillo cambia a verde y más tarde se vuelve de un color que varía de morado a azul.

6 Olores y sabores extraños. Los «husmos», u olores y sabores extraños, que aparecen en la carne como consecuencia de la multiplicación de bacterias en su superficie, con frecuencia suelen manifestarse antes de que aparezcan otros síntomas de alteración. El término «agriado» se suele aplicar a casi todas las alteraciones que comunican a la carne un olor agrio que puede ser debido a la presencia de ácidos volátiles, como son los ácidos fórmico, acético, butírico y propiónico, o incluso al crecimiento de levaduras. El sabor a «frigorífico», o husmo, es un término vago que se emplea para designar el sabor típico de la carne pasada. Es posible que los actinomicetos sean los responsables del sabor a enmohecido o a tierra de la carne.

En aerobiosis, es posible que en la superficie de las carnes crezcan levaduras que producen mucosidad, lipólisis, olores y sabores extraños, y coloraciones anormales (blanco, crema, rosa o pardo) debidos a pigmentos elaborados por estos microorganismos.

El crecimiento de los mohos en aerobiosis puede ocasionar los siguientes tipos de alteraciones de las carnes:

- 1 **Pegajosidad.** El crecimiento incipiente de mohos convierte en pegajosa al tacto la superficie de la carne.
- 2 **Barbas.** Cuando la carne se almacena a temperaturas próximas a la de congelación, en la misma tiene lugar un crecimiento de micelio limitado sin esporulación. Este crecimiento blanco y veloso puede ser debido a numerosos mohos, entre los que se incluyen *Thamnidium chaetocladoides* o *T. elegans*; *Mucor mucedo*, *M. lusitanicus* o *M. racemosus*; *Rhizopus*; y otros. Para mejorar el sabor de la carne de vacuno durante su maduración se ha recomendado el crecimiento controlado de una determinada especie de *Thamnidium*.
- 3 **Moteado negro.** Esta alteración suele ser producida por *Cladosporium herbarum*, aunque puede ser debida a otros mohos que elaboran pigmentos de color negro.
- 4 **Moteado blanco.** El agente causal que con mayor frecuencia produce esta alteración de la carne es la especie *Sporotrichum carnis*, aunque puede ser debida a cualquier mohos que produzca colonias húmedas parecidas a las colonias de las levaduras, por ejemplo las especies del género *Geotrichum*.
- 5 **Zonas verdes.** Son debidas casi siempre a las esporas verdes de especies de *Penicillium*, como por ejemplo *P. expansum*, *P. asperulum* y *P. oxalicum*.
- 6 **Descomposición de las grasas.** Muchos mohos poseen lipasas, y de aquí que hidrolicen las grasas. Los mohos también intervienen en la oxidación de las grasas.

- 7 *Olores y sabores extraños.* Los mohos comunican un sabor a enmohecido a la carne de las zonas próximas a los lugares donde crecen. A veces a la correspondiente alteración se le adjudica una denominación que indica su causa, por ejemplo, husmo debido a mohos del género *Thamnidium*.

Las manchas de alteración superficial debidas a levaduras y mohos suelen ocupar casi siempre una superficie circunscrita, y de aquí que se puedan expurgar sin perjudicar al resto de la carne. El tiempo que se han dejado difundir en la carne los productos originados en la descomposición y la rapidez con que tiene lugar esta difusión, determinarán la profundidad que alcanza esta alteración. El abundante crecimiento de bacterias en la superficie de la carne puede ocasionar una penetración de la alteración a bastante profundidad. En tal caso, además, es posible que las bacterias facultativas crezcan lentamente hacia adentro.

Alteraciones en anaerobiosis. Tanto las bacterias facultativas como las anaerobias son capaces de crecer en anaerobiosis en el interior de la carne y alterarla. La terminología que se emplea en relación con esta alteración es inexacta. Los más empleados son los términos «agriado», «putrefacción» y «husmo», aunque parece ser que tienen un significado diferente para cada persona.

- 1 *Agriado.* Este término supone que la carne desprende un olor agrio, y a veces tiene sabor agrio, que podría ser debido a los ácidos fórmico, acético, butírico, propiónico, y a ácidos grasos de un mayor número de átomos de carbono, o a otros ácidos orgánicos, como por ejemplo los ácidos láctico y succínico. El agriado puede ser consecuencia (a) de la actividad de los enzimas propios de la carne durante el envejecimiento o durante la maduración, (b) de la producción en anaerobiosis de ácidos grasos o de ácido láctico por la actividad de bacterias, o (c) de la proteólisis sin putrefacción, llevada a cabo por bacterias facultativas o anaerobias y a veces denominada «fermentación agria maloliente». La producción de ácido y de gas acompañan a la actividad de las especies «butíricas» de *Clostridium* y a la de las bacterias coliformes sobre los hidratos de carbono. En las carnes envasadas al vacío, sobre todo en las que se envasan con materiales impermeables a los gases, suelen crecer bacterias lácticas.

- 2 *Putrefacción.* La putrefacción verdadera consiste en la descomposición anaeróbica de proteína con producción de compuestos malolientes, como por ejemplo, sulfuro de hidrógeno, mercaptanos, indol, escatol, amoníaco, y aminas. Suele ser debida a especies de *Clostridium*, aunque es posible que las bacterias facultativas produzcan putrefacción o contribuyan a producirla, tal como se pone de manifiesto por la larga lista de especies designadas con los calificativos de *putrefaciens*, *putrificum*, *putida**, etc, principalmente dentro de los géneros *Pseudomonas* y *Alcaligenes*. Son asimismo putrefactivas algunas especies del género *Proteus*. La confusión en el empleo del

término «putrefacción» deriva del hecho de que es posible que se emplee para designar de forma errónea a cualquier tipo de alteración en la que se desprenden olores desagradables, tanto si es debida a la descomposición anaeróbica de la proteína, como si se debe al desdoblamiento de otros compuestos, incluso de compuestos no nitrogenados. Así por ejemplo, el olor a trimetilamina del pescado y el olor a ácido isovalérico de la manteca se definen como olores pútridos. La producción de gases acompaña a la putrefacción por clostridios, siendo los gases producidos el hidrógeno y el dióxido de carbono.

3 Husmo. El término «husmo» es un término todavía más impreciso que se aplica para designar a cualquier olor o sabor anormales. El término «husmo del hueso» de las carnes se refiere tanto al agriado como a la putrefacción que tienen lugar en las proximidades del hueso, sobre todo en los jamones. Suele ser sinónimo de putrefacción.

No sólo la presencia de aire, sino que también la temperatura tiene una importante influencia en el tipo de alteración que es de esperar tenga lugar en la carne. Cuando la carne se mantiene a temperaturas próximas a los 0 °C, tal como se recomienda, la multiplicación de los microorganismos se limita a la de los mohos, levaduras y bacterias capaces de multiplicarse a temperaturas bajas. Entre estos microorganismos se encuentran muchos de los tipos que producen viscosidad, coloraciones anormales, y manchas de crecimiento en la superficie de la carne y muchos de los que producen su agriado, como son las especies de los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Alcaligenes*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, y *Flavobacterium*. La mayoría de los verdaderos agentes de putrefacción, como son las especies del género *Clostridium*, necesitan temperaturas superiores a las del refrigerador.

ALTERACION DE LOS DISTINTOS TIPOS DE CARNES

Los distintos tratamientos a los que se someten las carnes, como son el curado, el ahumado, la desecación o el enlatado, suelen introducir cambios en las mismas y modificar lo suficiente su flora microbiana como para que en las mismas aparezcan tipos de alteración que no suelen experimentar las carnes frescas.

Alteración de las carnes frescas

En la revisión que antecede relativa a los tipos generales de alteración, se ha tratado la alteración de las carnes frescas. Normalmente, cuando las carnes

frescas se conservan bajo refrigeración durante un tiempo prolongado, las alteran especies de los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, y *Moraxella*.

En la mayoría de las carnes, tanto si se trata de carnes frescas como de carnes curadas, se encuentran bacterias lácticas, pertenecientes principalmente a los géneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Brevibacterium* y *Pediococcus*, que son capaces de multiplicarse incluso a temperaturas de refrigeración. Normalmente, su multiplicación limitada no disminuye la calidad de la carne; por el contrario, en ciertos tipos de embutidos, como por ejemplo en el salami, en los embutidos libaneses y en los de Turingia, se estimula la fermentación láctica. No obstante, las bacterias lácticas pueden ser las causantes de tres tipos de alteración: (1) la formación de viscosidad en la superficie o en el interior de la carne, sobre todo en presencia de sacarosa, (2) la producción de una coloración anormal verde, y (3) el agriado, cuando se han producido cantidades excesivas de ácido láctico y de otros ácidos.

Carne fresca de vacuno. La carne fresca de vacuno experimenta los cambios de color ya citados: (1) cambios de color de la hemoglobina y de la mioglobina, pigmento rojo de la sangre y de los músculos, respectivamente, de forma que originan la pérdida del aspecto fresco de la carne y la producción de metahemoglobina y metamioglobina, de color pardo-rojizo, y los pigmentos de oxidación de color pardo-gris-verde por la acción del oxígeno y de los microorganismos, (2) manchas de color blanco, verde, amarillo, y de un color que varía de azul verdoso a negro-pardo y coloraciones anormales moradas debidas a microorganismos pigmentados; (3) fosforescencia, y (4) manchas debidas a distintas bacterias, levaduras, y mohos. La carne de vacuno está asimismo expuesta a la formación de viscosidad superficial debida al crecimiento de bacterias o de levaduras, de pegajosidad debida al crecimiento de mohos, de barbas como consecuencia del crecimiento miceliar de mohos, y al agriado y a la putrefacción por bacterias. En la carne de vacuno que se conserva a 10°C o a temperaturas inferiores, suelen predominar las pseudomonas, si bien a temperaturas de 15°C o superiores crecen en igual número los micrococos* y las pseudomonas.

Hamburguesas. Las hamburguesas mantenidas a la temperatura ambiente se suelen descomponer, pero a temperaturas próximas a la de congelación adquieren un olor ácido, a carne pasada. A bajas temperaturas, la acidez es originada principalmente por especies de los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *Moraxella*, con el concurso de bacterias lácticas. En algunas muestras es posible que crezcan especies de los géneros *Alcaligenes*, *Micrococcus*, y *Flavobacterium*. En las hamburguesas que se conservan a temperaturas más elevadas, se han encontrado un elevado número de especies de microorganismos, aunque no se ha hecho distinción entre la simple presencia de las mismas y su multiplicación real en las hamburguesas. Entre los géneros que se señalan que se han encontrado en las hamburguesas se incluyen *Bacillus*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Entero-*

bacter, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, y *Sarcina*, por lo que se refiere a bacterias, y los géneros *Penicillium* y *Mucor*, por lo que se refiere a mohos. También se han encontrado algunas levaduras.

Embutidos de carne de cerdo fresca. Los embutidos frescos se elaboran principalmente a base de carne de cerdo picada a la que se ha añadido sal y especias. La carne picada se puede vender a granel o bien embutida en tripas naturales o artificiales. Los embutidos de carne de cerdo son un alimento perecedero que se debe conservar refrigerado y, aún así, sólo se pueden conservar durante un tiempo relativamente corto sin que se alteren. El agriado, que es el tipo de alteración más corriente a temperaturas de refrigeración comprendidas entre 0 y 11 °C, se ha atribuido a la multiplicación y a la producción de ácido por los lactobacilos y leuconostocs, aunque es posible que a temperaturas de almacenamiento más elevadas se multipliquen los microorganismos pertenecientes a los géneros *Microbacterium* y *Micrococcus**

Los embutidos de carne de cerdo en cajas, sobre todo los de tipo «lechón», están expuestos, tras un almacenamiento prolongado, a la formación de mucflago en la superficie externa de la tripa o a la aparición de un moteado de distintos colores debido al crecimiento de mohos. Se han encontrado mohos del género *Alternaria*, por ejemplo, que producen pequeñas motas de color oscuro en las ristas de embutidos refrigerados.

Alteraciones de las carnes curadas

La mayoría de las carnes curadas son de cerdo, aunque es posible que se curen ciertas piezas de carne de vacuno. Ya se ha citado anteriormente el efecto inhibitorio de los nitritos frente a los microorganismos anaerobios. Se ha afirmado que el nitrito sódico estimula la multiplicación de las bacterias lácticas en embutidos tales como los de Turingia y Essex, que experimentan una fermentación ácida. Las sales que se emplean en el curado favorecen más el crecimiento de las bacterias grampositivas, de las levaduras y de los mohos, que el de las bacterias gramnegativas que suelen producir la alteración de las carnes. Estas sales también reducen el tratamiento térmico necesario para producir productos cárnicos estables, como por ejemplo los fiambres de carne de cerdo para bocadillos. Algunas carnes, como por ejemplo la carne picada de vacuno a granel, se conservan gracias a la elevada cantidad de cloruro sódico que se les añade.

La carga microbiana existente en la superficie de la pieza de carne a curar y cualquier alteración que haya tenido lugar en la misma, influirán en el resultado de la operación de curado. Y así, las modificaciones indeseables de los pigmentos de la carne darán lugar a un producto curado de color normal, la alteración incipiente de la carne que se va a curar comunicará al producto un sabor y un aspecto

propios de las carnes curadas de calidad inferior y es posible que el elevado número de microorganismos dificulte su curado.

Cecina o pernils de vacuno. Los pernils de vacuno adquieren una consistencia esponjosa como consecuencia del crecimiento de especies de *Bacillus*, se agrian como consecuencia de la actividad de varias bacterias, adquieren una coloración roja, debido a que en los mismos crece la especie *Halobacterium salinarium*, o una especie de *Bacillus* que elabora un pigmento rojo, o una coloración azul debida a *Pseudomonas synchyanea**, a *Penicillium spinulosum* (moraduzca), y a especies de levaduras del género *Rhodotorula*. Los principales factores determinantes de su alteración son la proporción de agua que contienen y la humedad relativa de la atmósfera del lugar donde se almacenan. Conforme la humedad relativa aumenta y el producto absorbe agua, se produce una disminución de su período de conservación.

La presencia de gas en los frascos de carne de vacuno picada y desecada ha sido atribuida a un microorganismo anaerobio parecido a *Pseudomonas fluorescens*. Estos gases son óxidos de nitrógeno. Se han identificado especies de *Bacillus* que producen dióxido de carbono en los frascos del citado producto cárnico.

Embutidos. En los embutidos, los microorganismos que los alteran pueden crecer en la superficie de la tripa, entre la tripa y la carne en ella contenida, o en el interior.

En la superficie externa de la tripa de los embutidos solamente pueden crecer microorganismos si en la misma existe la suficiente humedad. Si en la misma existe la suficiente humedad, los micrococos* y las levaduras pueden formar una capa mucilaginosa, como suele suceder con frecuencia en las salchichas de Frankfurt que se han humedecido al sacarlas de la nevera para mantenerlas a temperaturas más elevadas. Cuando la humedad de los embutidos es menor, los mohos pueden producir una pelusa sobre su superficie y modificar su color. Es posible que el dióxido de carbono, producido principalmente por las bacterias lácticas heterofermentativas, hinche los paquetes de embutidos de tipo vienés o para desayunos cuando al envasarlos se emplea una envoltura flexible impermeable a los gases.

La multiplicación de los microorganismos entre la tripa y la carne que ésta contiene se encuentra favorecida por la acumulación de humedad en esta parte durante la cocción en el caso de que la tripa sea permeable al agua; cuando se emplean dos tripas, la interna se puede humedecer antes de colocar la segunda, con lo cual el agua queda atrapada entre ambas. El mucílago de la superficie de la carne o el existente entre ambas tripas lo originan principalmente micrococos* productores de ácido. La permeabilidad de la tripa interna a los nutrientes solubles favorece la multiplicación de las bacterias.

Se han señalado varias especies de bacterias capaces de multiplicarse en el interior de los embutidos durante períodos de almacenamiento de larga duración

o almacenados a temperaturas por encima de los 10,5°C. Es posible que en los embutidos de hígado y en la mortadela boloñesa crezcan micrococcos* como por ejemplo *Micrococcus candidus**, habiéndose encontrado especies de *Bacillus* que crecen en los embutidos de hígado. También pueden crecer leuconostocs y lactobacillos psicrótrofos que dan lugar a un agriado que no se busca en la mayoría de los embutidos, pero que se favorece en algunas variedades, como por ejemplo en los embutidos de Líbano, de Turingia y de Essex. El desvanecimiento del color rojo de los embutidos hacia un color gris yesoso ha sido atribuido al oxígeno y a la luz y es posible que sea acelerado por la actividad de ciertas bacterias. Para explicar la formación de los llamados «anillos del frío» se han señalado varias causas, como por ejemplo la oxidación, la producción por parte de bacterias de ácidos orgánicos o de sustancias reductoras, el exceso de agua y la cocción insuficiente.

El enverdecimiento de los embutidos es posible que aparezca como un anillo verde no lejos de la envoltura, como un centro verde, o como una zona superficial de color verde. Según Niven (1961), la causa del enverdecimiento probablemente sea la producción de peróxidos, por ejemplo, de peróxido de hidrógeno, por las especies heterofermentativas de *Lactobacillus* y por las especies de *Leuconostoc* o por otras bacterias catalasa-negativas. Jensen (1954) señaló que también puede intervenir el sulfuro de hidrógeno. Un pH ligeramente ácido y la presencia de pequeñas cantidades de oxígeno favorecen el enverdecimiento de los embutidos. El anillo verde debajo de la envoltura de los embutidos de gran tamaño o el centro verde de los de pequeño tamaño aparece entre las 12 y las 36 horas después de haber sido tratados los embutidos, incluso en el caso de que se conserven refrigerados; se pone de manifiesto tan pronto como se corta el embutido y no suele ir acompañado de mucílago superficial. Antes de proceder al ahumado y a la cocción del embutido ya han tenido lugar el crecimiento bacteriano y la producción de peróxidos estables, y de aquí que los peróxidos sigan produciendo el enverdecimiento aún después de haber sido sometidos a los citados tratamientos. Los centros verdes en los embutidos de gran calibre, por ejemplo en la mortadela boloñesa de gran calibre, suelen aparecer transcurridos 4 o más días después de haberlos elaborado y en un plazo comprendido entre 1 y 12 horas después de haberlos cortado en rodajas, debido al crecimiento de un elevado número de bacterias causantes de este tipo de alteración como consecuencia de un tratamiento térmico o de una refrigeración insuficientes. El enverdecimiento de la superficie de corte de los embutidos indica que están contaminados y que en ellos se han multiplicado bacterias halotolerantes, productoras de peróxidos (probablemente bacterias lácticas), que son capaces de crecer a temperaturas bajas. El enverdecimiento suele ir acompañado de la formación de mucílago en la superficie del embutido. Esta alteración se puede transmitir de unos embutidos a otros.

En los embutidos se ha señalado la producción de óxido nítrico gaseoso por bacterias reductoras de los nitratos. A no ser que el material de la tripa o envoltura de los embutidos permita la salida del dióxido de carbono, este gas, producido

como consecuencia de la actividad de las bacterias lácticas, se puede acumular y ser la causa de que se hinchen. Esto también puede suceder en las carnes curadas envasadas en rodajas; en las pastas para emparedados; y en productos parecidos recubiertos de plástico o en envases de este material.

Bacon*. Como quiera que las partes del cerdo que se emplean para elaborar el bacon y los tratamientos de curado son distintos en cada una de las partes del mundo, los tipos de alteración de este producto cárnico y los microorganismos implicados también son distintos. Las pancetas que se emplean en el sistema americano suelen experimentar pocas modificaciones, señalándose que salen de la cámara de ahumado relativamente exentas de mohos y de levaduras y con un reducido número de bacterias. En el bacon se suele encontrar la especie bacteriana *Streptococcus faecalis*, debido a su tolerancia a la sal y a su capacidad para crecer a temperaturas bajas. En su flora superficial también se pueden encontrar micrococos* y estafilococos.

Los mohos son los principales microorganismos que alteran el bacon curado, sobre todo cuando se trata de bacon cortado en lonchas, envuelto con una cubierta (permeable al aire) y conservado en los frigoríficos caseros. La mayoría de los problemas de alteración de este producto cárnico se presentan al fin del verano y a principios del otoño y son debidos a las especies de los géneros *Aspergillus*, *Alternaria*, *Monilia*, *Oidium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Botrytis* y *Penicillium*. En las pancetas saladas en seco y en las pancetas al estilo de Oxford se dan pocos problemas microbiológicos. Cualquier enranciamiento que pueda aparecer suele ser debido a reacciones químicas. Tras un largo almacenamiento, el bacon en lonchas puede ser deteriorado por bacterias oxidantes y lipolíticas, aunque también pueden experimentar una oxidación química. En la producción de un color anormal en la parte carnosa del bacon también pueden intervenir bacterias oxidantes y bacterias productoras de sulfuros, aunque es más probable que estos colores anormales sean debidos a concentraciones incorrectas del nitrito, y asimismo las bacterias cromógenas pueden dar lugar a zonas de bacon con coloraciones anormales. Se ha achacado a las bacterias proteolíticas la aparición de un color pardo-amarillento que pone de manifiesto la existencia de tirosina. La gomosidad de los adobos y pancetas, poco corriente en la actualidad, es consecuencia de la formación de goma por un gran número de especies de bacterias y levaduras.

En Canadá se ha realizado un estudio completo de la bacteriología del bacon de Wiltshire. En la elaboración de este tipo de bacon, las faldas de cerdo se curan durante un corto tiempo (de 6 a 8 días) en una salmuera muy concentrada, a baja temperatura (de 3,3 a 4,5°C), con lo cual sólo se permite que crezcan las bacterias psicrótrofas halotolerantes. En la salmuera que se emplea para el curado tiene

*N. del T.: Tocino entreverado.

lugar el crecimiento de un escaso número de microorganismos, aunque en las faldas de cerdo existe un notable aumento de la población microbiana, que a veces es suficiente para producir mucflago en la superficie de este producto cárnico. El crecimiento visible o el mucflago suelen aparecer cuando los recuentos son superiores a los 71,5 millones de microorganismos por centímetro cuadrado. Los micrococcos son los microorganismos más corrientes en la salmuera, aunque antes del tratamiento de las faldas con salmuera, o durante su almacenamiento una vez empaquetadas, pueden crecer en las mismas otros microorganismos que son incapaces de crecer en la salmuera fría.

El bacon en lonchas envasado herméticamente (en envolturas impermeables al aire) es alterado principalmente por lactobacilos, aunque es posible que en las lonchas de este producto crezcan micrococcos* y estreptococos fecales, sobre todo si la envoltura es algo permeable al oxígeno. Una vez abierta la envoltura, puede ser alterado por mohos.

Con el fin de reducir la concentración de nitrito en el bacon, se ha propuesto el tratamiento de Wisconsin (Tanaka y otros, 1985). La adición al bacon de 40 a 80 ppm de nitrito sódico, un 0,7% de sacarosa, y un cultivo de *Lactobacillus plantarum* tuvo mayor efecto antibotulínico que el bacon elaborado con solamente 120 ppm de nitrito sódico.

Jamón. El término «agriado», empleado para designar la alteración de los jamones, abarca todos los tipos importantes de alteración que van desde la proteólisis relativamente inodora a la verdadera putrefacción con sus olores extraordinariamente desagradables a mercaptanos, a sulfuro de hidrógeno, a aminas, a indol, etc., pudiendo ser producido por una gran cantidad de bacterias psicrótrofas halotolerantes. Jensen (1954) citó numerosos géneros cuyas especies pueden producir el agriado: *Acaligenes*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, *Proteus*, *Serratia*, *Bacterium**, *Micrococcus*, *Clostridium*, y otros, además de algunos estreptobacilos productores de sulfuro de hidrógeno, no citados por dicho autor, que originan el agriado de la carne de jamón. Según su localización, los distintos tipos de agriado se clasifican en agriados de la caña o de la médula de la tibia, del cuerpo o carne, de la rabadilla, de la articulación fémoro-tibio-rotuliana, del fémur o de la médula del fémur, y de la nalga. Los jamones «hinchados» o jamones con gas, no se encuentran en el comercio, pero a veces se presentan cuando el curado lo realizan personas inexpertas.

El procedimiento corriente de curado de jamones, o curado rápido, en el cual la solución de curado es bombeada al interior del jamón a través de las venas, ha reducido en gran manera los casos de agriado. La reducción de la contaminación y multiplicación bacterianas mediante el empleo de sistemas apropiados de sacrificio y sangría de los cerdos, la adecuada refrigeración, el sellado de las médulas óseas serrándolas en los sitios apropiados, la inmediata manipulación, el empleo de una solución de adobo satisfactoria desde el punto de vista bacteriológico, y una buena higiene general, han contribuido en la disminución del número de casos de agriado.

Los jamones ablandados son en realidad precocinados y se les ha sometido a un curado moderado. Este tipo de jamones son perecederos y de aquí que deban ser protegidos de la contaminación y se deban conservar refrigerados mientras permanecen almacenados para evitar que los microorganismos los alteren. Los jamones ablandados, manipulados de forma incorrecta, pueden ser alterados por cualquiera de las bacterias que normalmente alteran la carne, entre las cuales se han señalado *Escherichia coli*, especies del género *Proteus*, y estafilococos productores de intoxicaciones alimentarias (*Staphylococcus aureus*).

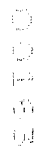
Carnes refrigeradas envasadas. Las envolturas protectoras que permiten una adecuada penetración del oxígeno, y por lo tanto del dióxido de carbono, favorecen el crecimiento de las bacterias más aerobias, como son las pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, y *Moraxella*, y la producción por las mismas de sabores extraños, mucílago, e incluso putrefacción. Esta alteración es muy parecida a la de la carne sin envasar. Las envolturas protectoras poco permeables a los gases estimulan el crecimiento de las bacterias productoras de ácido láctico, sobre todo cuando el empleo de este tipo de envolturas se combina con el envasado al vacío. Con el tiempo, estas bacterias producen agriado, mucílago y sabores atípicos. En el Capítulo 19 se revisan las alteraciones de la carnes enlatadas.

Soluciones de curado o adobos. La alteración de las soluciones que se emplean para adobar o curar el jamón y otras carnes curadas es probable que tenga lugar cuando contienen azúcar y su pH es muy superior a 6,0. La alteración de las salmueras multiuso suele ser putrefactiva y es debida al crecimiento de especies de los géneros *Vibrio*, *Alcaligenes*, o *Spirillum*. El agriado de estas soluciones puede ser producido por especies de los géneros *Lactobacillus* y *Micrococcus*, y el mucílago por especies de *Leuconostoc* o por *Micrococcus lipolyticus**

La turbiedad y la viscosidad del vinagre en el que se conservan las manos de cerdo adobadas o los embutidos, se deben principalmente a las bacterias lácticas de las carnes, aunque las levaduras también pueden enturbiarlo. Las manchas negras que aparecen sobre las manos de cerdo adobadas pueden ser producidas por bacterias productoras de sulfuro de hidrógeno y, por último, la presencia de gas en los adobos envasados al vacío puede ser debido al crecimiento de bacterias lácticas heterofermentativas o al crecimiento de levaduras.

BIBLIOGRAFIA

- Allen, J. R., and E. M. Foster. 1960. Spoilage of vacuum-packed, sliced processed meats during refrigerated storage. *Food Res.* 25:19-25.
- American Meat Institute Foundation. 1960. The science of meat and meat products. W. H. Freeman and Company, San Francisco.
- Anderton, J. I. 1963. Pathogenic organisms in relation to pasteurized cured meats. *Sci. Technol. Surv.* 40. The British Food Manufacturing Industries Research Association, Leatherhead, Surrey.
- Ayres, J. C. 1955. Microbiological implications in the handling, slaughtering, and dressing of meat animals. *Adv. Food Res.* 6:110-161.
- Ayres, J. C. 1960a. Temperature relationships and some other characteristics of the microbial flora developing on refrigerated beef. *Food Res.* 25:1-18.
- Ayres, J. C. 1960b. The relationship of organisms of the genus *Pseudomonas* to the spoilage of meat, poultry and eggs. *J. Appl. Bacteriol.* 23:471-486.
- Brown, M. H. (ed.). 1982. Meat microbiology. Applied Science Publications, New York.
- Brown, W. L., C. Vinton, and C. E. Gross. 1960. Radiation resistance of natural bacterial flora of cured ham. *Food Technol.* 14:622-625.
- Cavett, J. J., 1962. The microbiology of vacuum packed sliced bacon. *J. Appl. Bacteriol.* 25:282-289.
- Drake, S. D., J. B. Evans, and C. F. Niven, Jr. 1959. The identity of yeasts in the surface flora of packaged frankfurters. *Food Res.* 24:243-246.
- Draudt, H. N. 1963. The meat smoking process: a review. *Food Technol.* 17:1557-1562.
- Dyett, E. J. 1963. Microbiology of raw materials for the meat industry. *Chem. Ind.* 6: 234-237.
- Eddy, B. P. (ed.). 1958. Microbiology of fish and meat curing brines. *In* II Int. Symp. Food Microbiol., Proc. H.M. Stationery Office, London.
- Empey, W. A., and W. J. Scott. 1939. Investigations on chilled beef. I. Microbial contamination acquired in the meatworks. *Council Sci. Ind. Res. [Aust.] Bull.* 126.
- Evans, J. B., and C. F. Niven, Jr. 1955. Slime and mold problems with prepackaged processed meat products. *Am. Meat Inst. Found. Bull.* 24.
- Food Engineering Staff. 1962. Humane slaughter. *Food Eng.* 34(2):52.
- Gardner, G. A. 1981. *Brochotrix thermosphacta* (*Microbacterium thermosphacta*) in the spoilage of meats. *In* T. A. Roberts, G. Hobbs, J. H. Christian, and N. Skovgaard (eds.), Psychrotrophic microorganisms in spoilage and pathogenicity. Academic Press, Inc., New York.
- Haines, R. B. 1937. Microbiology in the preservation of animal tissues. G.B. Dept. Sci. Ind. Res. *Food Invest. Spec. Rep.* 45.
- Halleck, F. E., C. O. Ball, and E. F. Stier. 1958. Factors affecting quality of prepackaged meat. IV. Microbiological studies. B. Effect of package characteristics and of atmospheric pressure in package upon bacterial flora of meat. C. Effects of initial bacteria count, kind of meat, storage time, storage temperature, antioxidants, and antibiotics on the rate of bacterial growth in packaged meat. *Food Technol.* 12: 301-306; 654-659.
- Ingram, M. 1960. Bacterial multiplication in packed Wiltshire bacon. *J. Appl. Bacteriol.* 23:206-215.



- Ingram, M., and B. Simosen. 1980. Meat and meat products. *In* J. H. Silliker (ed.), Microbial ecology of foods. Volume II. Food commodities. Academic Press, Inc., New York.
- Jaye, M., R. S. Kittaka, and Z. J. Ordal. 1962. The effect of temperature and packaging material on the storage life and bacterial flora of ground beef. *Food Technol.* 16(4):95-98.
- Jensen, L. B. 1954. *Microbiology of meats*. 3d ed. The Garrard Press, Champaign, Ill.
- Johnston, R. W., and R. B. Tompkin. 1984. Meat and poultry products. *In* M. L. Speck (ed.), *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Kempton, A. G., and S. R. Bobier. 1970. Bacterial growth in vacuum-packed luncheon meats. *Can. J. Microbiol.* 16:287-297.
- Kitchell, A. G. 1962. Micrococci and coagulase negative staphylococci in cured meats and meat products. *J. Appl. Bacteriol.* 25:416-431.
- Leistner, L. 1960. Microbiology of ham curing. 12th Res. Conf. Am. Meat Inst. Found. Proc. Circ. 61:17-23.
- Miller, W. A. 1961. The microbiology of some self-service packaged luncheon meats. *J. Milk Food Technol.* 24:374-377.
- Miller, W. A. 1964. The microbiology of self-service, prepackaged, fresh pork sausage. *J. Milk Food Technol.* 27:1-3.
- Niinivaara, F. P., M. S. Pohja, and S. E. Komulainen. 1964. Some aspects about using bacterial pure cultures in the manufacture of fermented sausages. *Food Technol.* 18:147-153.
- Niven, C. F., Jr. 1951. Influence of microbes upon the color of meats. *Am. Meat Inst. Found. Circ.* 2.
- Niven, C. F., Jr. 1956. Vinegar pickled meats. A discussion of bacterial and curing problems encountered in processing. *Am. Meat Inst. Found. Bull.* 27.
- Niven, C. F., Jr. 1961. Microbiology of meats. *Am. Meat Inst. Found. Circ.* 68.
- Nottingham, P. M. 1960. Bone-taint in beef. II. Bacteria in ischiatic lymph nodes. *J. Sci. Food Agr.* 11:436-441.
- Ordal, Z. J. 1962. Anaerobic packaging of fresh meat. 14th Res. Conf. Am. Meat Inst. Found. Proc., Circ. 70:39-45.
- Palumbo, S. A., C. N. Huhtanen, and J. L. Smith. 1974. Microbiology of the frankfurter process: *Salmonella* and natural aerobic flora. *Appl. Microbiol.* 27:724-732.
- Phillips, A. W., H. R. Newcomb, T. Robinson, F. Bach, W. L. Clark, and A. R. Whitehill. 1961. Experimental preservation of fresh beef with antibiotics and radiation. *Food Technol.* 15:13-15.
- Riemann, H. 1963. Safe heat processing of canned cured meats with regard to bacterial spores. *Food Technol.* 17:39-49.
- Roberts, T. A. 1980. Contamination of meat. *Royal Soc. Health J.* 100:3-9.
- Shank, J. L., and B. R. Lundquist. 1963. The effect of packaging conditions on the bacteriology, color, and flavor of table-ready meats. *Food Technol.* 17:1163-1166.
- Shank, J. L., J. H. Silliker, and P. A. Goeser. 1962. The development of a nonmicrobial off-condition in fresh meat. *Appl. Microbiol.* 10:240-246.
- Sharpe, M. E. 1962. Lactobacilli in meat products. *Food Manuf.* 37:582-589.
- Steinke, P. K. W., and E. M. Foster. 1961. Effect of temperature of storage on microbial changes in liver sausage and bologna. *Food Res.* 16:372-376.

- Steinkraus, K. H., and J. C. Ayres. 1964. Biochemical and serological relationships of putrefactive anaerobic sporeforming rods isolated from pork. *J. Food Sci.* 29:100-104.
- Surkiewicz, B. F., M. E. Harris, and R. W. Johnston. 1973. Bacteriological survey of frozen meat and gravy produced at establishments under federal inspection. *Appl. Microbiol.* 26:574-576.
- Surkiewicz, B. F., R. W. Johnston, and J. M. Carosella. 1976. Bacteriological survey of frankfurters produced at establishments under federal inspection. *J. Milk Food Technol.* 39:7-9.
- Surkiewicz, B. F., R. W. Johnston, R. P. Elliott, and E. R. Simmons. 1972. Bacteriological survey of fresh pork sausage produced at establishments under federal inspection. *Appl. Microbiol.* 23:515-520.
- Tanaka, N. L., M. P. Doyle, L. Meske, E. Traisman, D. W. Thayer, and R. W. Johnston. 1985. Plant trials of bacon made with lactic acid bacteria, sucrose and lowered sodium nitrite. *J. Food Prot.* 48:679-686.
- Wang, S. Y., T. R. Dockerty, R. A. Ledford, and J. R. Stouffer. 1985. Shelf-life extension of vacuum packaged frankfurters made from beef inoculated with *Streptococcus lactis*. *J. Food Prot.* 49:130-134.
- Zottola, E. A. 1972. Introduction to meat microbiology. American Meat Institute, Chicago.

Contaminación, conservación y alteración del pescado y otros alimentos marinos

Los alimentos marinos que se estudian en este Capítulo incluyen el pescado fresco, el congelado, el desecado, el escabechado y el conservado por salazón, lo mismo que los diferentes mariscos. También se estudia el pescado de agua dulce.

CONTAMINACION

La flora microbiana del pez vivo depende de la carga microbiana de las aguas donde vive. En el mucílago que recubre la superficie externa del pescado se han encontrado bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Alcaligenes*, *Micrococcus**, *Flavobacterium*, *Corynebacterium*, *Sarcina*, *Serratia*, *Vibrio* y *Bacillus*. Las bacterias existentes en la superficie del pescado procedente de las aguas del norte son principalmente psicrófilas, mientras que en el pescado procedente de las aguas tropicales las bacterias que se encuentran son principalmente mesófilas. En el pescado de agua dulce se encuentra la flora bacteriana propia de estas aguas, que incluye representantes de la mayoría de los géneros que se encuentran en las aguas saladas, y, además, especies de los géneros *Aeromonas*, *Lactobacillus*, *Brevibacterium*, *Alcaligenes* y *Streptococcus*. En el intestino de los pescados de ambas procedencias se encuentran bacterias de los géneros *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Clostridium* y *Escherichia*. Los barcos, las cajas, los recipientes, las pesquerías, y los pescadores pronto se contaminan abundantemente con estas bacterias y las transmiten al pescado durante las operaciones de limpieza. El número de bacterias existentes en el mucílago y en la superficie de la piel del pescado recién capturado en el mar puede oscilar de desde cifras tan bajas como 100 por centímetro cuadrado, a cifras del orden de varios millones por centímetro cuadra-

do, mientras que en el líquido intestinal se pueden encontrar de desde 1.000 a 1 millón de bacterias por mililitro. El tejido de las branquias puede albergar de 1.000 a 1 millón de bacterias por gramo. El lavado reduce las cifras de los recuentos de bacterias de la superficie del pescado.

Las ostras y otros mariscos a través de cuyos organismos pasa gran cantidad de agua, recogen de esta forma los microorganismos del suelo y del agua, incluso los patógenos si los hay. En estos alimentos marinos se encontrarán especies de los géneros *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, y algunas bacterias grampositivas.

Los camarones, los cangrejos, las langostas y alimentos marinos parecidos, poseen en su superficie un mucílago con una carga bacteriana que probablemente recuerde a la del pescado. En los camarones se han encontrado especies de los géneros *Bacillus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes* y *Proteus*.

El número de microorganismos existentes en la piel del pescado puede estar influido por los sistemas de pesca. Por ejemplo, el sistema de pesca de arrastre en el que las redes recorren el fondo del mar durante un tiempo prolongado, da como resultado que el pescado esté expuesto a los elevados recuentos de bacterias del sedimento removido del fondo, y este elevado número de bacterias se puede reflejar en la carga microbiana inicial de la superficie del pescado.

Los pasteles y los palitos de pescado o alimentos parecidos representan un elevado porcentaje de los alimentos marinos que se consumen en los Estados Unidos. Los alimentos de este tipo están expuestos a otras contaminaciones. En la fabricación de los pasteles, al pescado se le mezclan otros ingredientes, entre los que se incluyen patata, especias, y condimentos y después el producto se moldea, se recubre con huevo batido y pan rallado, se envasa y se suele congelar si no se consume inmediatamente. Los palitos de pescado se cortan mecánicamente a partir de bloques de pescado congelados, se recubren con huevo batido y pan rallado, se envasan, y se congelan para distribuirlos. Algunas partidas de palitos de pescado congelados se precocinan en aceite que se ha calentado a una temperatura comprendida entre 204 y 232 °C. El tratamiento de cocción a que se someten, es de corta duración (2 minutos o menos), y de aquí que el interior de los palitos permanezca congelado. Por supuesto que, como consecuencia de la contaminación de los ingredientes, de su mayor grado de manipulación, del contacto con la maquinaria y del envasado, la carga microbiana de los citados alimentos sería muy diferente de la del pescado fresco.

CONSERVACION

De todos los alimentos carnosos, el pescado es el más sensible a la autólisis, a la oxidación y a la hidrólisis de las grasas, y a la alteración por microorganismos. Por consiguiente, su conservación supone el empleo de un tratamiento rápido me-

dianete métodos de conservación, y con frecuencia estos métodos son de mayor intensidad que los que se emplean para conservar las carnes. Cuando el pescado se captura lejos de la planta de tratamiento, los métodos de conservación se deben aplicar incluso en el mismo barco pesquero. Inmediatamente después de su captura, se debe llevar a cabo el eviscerado con el fin de detener la actividad de las enzimas digestivas del intestino. Es posible que las ventajas conseguidas mediante el eviscerado sean anuladas por el posible retraso en el enfriamiento rápido del pescado.

La rigidez cadavérica es especialmente importante para que se conserve el pescado, ya que retarda la aparición de la autólisis post-mortem y la descomposición bacteriana. Por consiguiente, cualquier procedimiento que prolongue la duración de la rigidez cadavérica alarga el tiempo de conservación. Tiene mayor duración si, antes de morir, el pez ha tenido poca actividad muscular, no ha sido manipulado bruscamente y no ha sido magullado durante su captura y su ulterior tratamiento, y de aquí que en algunas especies de pescados tenga una duración mayor que en otras. Después de la muerte, el pH definitivo de su carne depende de la cantidad de glucógeno existente en la misma en el momento de morir. Cuanto más glucógeno existe, tanto menor es el pH. Cuanto menor es la actividad muscular antes de la muerte, tanto mayor es la concentración de glucógeno en el músculo, y tanto menor es su pH definitivo. La reducción de la temperatura de mantenimiento prolongará el tiempo de conservación.

Los métodos de asepsia para reducir la contaminación de los alimentos marinos son difíciles de aplicar, aunque parte de la contaminación grosera que tiene lugar antes de tratar el pescado se puede evitar mediante una limpieza y una desinfección generales de los barcos, de las cubiertas, de las bodegas, de los cubos y demás recipientes y del equipo de la planta de tratamiento, y empleando hielo de excelente calidad bacteriológica. La eliminación de la tierra, tanto de las superficies contaminantes como del pescado, mediante procedimientos apropiados de limpieza, incluso empleando soluciones de detergentes eficaces, contribuye en gran manera a reducir la carga bacteriana de la superficie del pescado.

La eliminación de los microorganismos resulta difícil, aunque el hecho de que la mayor parte de la contaminación del pescado y de los demás alimentos marinos se localiza en la parte externa de los mismos, permite eliminar muchos de los microorganismos arrastrando con agua el mucílago y la suciedad de su superficie.

EMPLEO DEL CALOR

Los cangrejos vivos se cuecen en calderas a temperaturas superiores a 121°C con el fin de que resulte más fácil separar la carne de la cáscara. La obtención y envasado de la carne se suelen realizar de forma manual. Los tiempos y las temperaturas que se emplean para tratar la carne de cangrejo enlatada oscilan

entre 85,6 y 87,2°C durante un tiempo de 92 a 150 minutos (Dickerson y Berry, 1974). Se considera que estos tratamientos equivalen a una pasteurización, y de aquí que las latas se conserven bajo refrigeración. Algunos alimentos marinos, por ejemplo, las ostras, se «enlatan» envasándolas en latas o frascos y no son sometidas a tratamiento térmico alguno, pero se conservan por refrigeración.

No obstante, la mayoría de los alimentos marinos se someten a tratamiento para que sean estériles o, por lo menos, «comercialmente estériles». Lo mismo que las carnes, los alimentos marinos son alimentos de baja acidez y en la mayoría de ellos el calor penetra de forma lenta y, por consiguiente, su tratamiento térmico presenta dificultades. Asimismo, algunos alimentos marinos, cuando se intenta esterilizarlos enlatados, se ablandan considerablemente o incluso se desmenuzan.

El tratamiento a que se someten depende del alimento que se está enlatando, así como del tamaño y de la forma del envase. En general, los tratamientos térmicos a que se someten estos alimentos son más intensos que los que se emplean en las carnes, aunque determinados tipos se someten a tratamientos de poca intensidad. Los procedimientos de enlatado que se ajustan a las normas prácticas recomendadas por la FAO (FAO, 1973) reducen al mínimo el riesgo de contraer enfermedades como consecuencia del consumo de alimentos marinos enlatados.

EMPLEO DE TEMPERATURAS BAJAS

Únicamente después de la muerte del pez o de cualquier animal marino es cuando se pone en marcha el proceso de autodescomposición, que va acompañado de ablandamiento y de la aparición de sabores extraños, teniendo lugar una multiplicación incontrolada de los microorganismos; como ya se ha dicho, la rigidez cadavérica retarda estas modificaciones. Así por ejemplo, cuando las ostras se encuentran dentro de sus valvas, no se descomponen mientras permanecen vivas y su vida se prolonga conservándolas bajo refrigeración provistas de sus valvas. Las carpas pescadas con jábega* en los lagos del Oeste Medio se han mantenido vivas, y por consiguiente en buen estado, para enviarlas en tanques al mercado de Nueva York. Parece ser que el pescado «cebado», es decir el que se alimenta con abundante pienso compuesto, se descompone más rápidamente que el pescado normal.

Refrigeración

Como quiera que la parte muscular del pescado experimenta la descomposición autolítica, y a temperaturas por encima de la de congelación las grasas se

*N. del T.- Red muy grande y pesada, que se usa para pescar y de cuyas bandas se tira desde tierra mediante largos cabos para sacarla del agua.

oxidan rápidamente a las temperaturas que se dan en verano y más lentamente conforme la temperatura se aproxima a la de congelación-la conservación mediante temperaturas de refrigeración es, en el mejor de los casos, una conservación temporal.

Cuando el pescado, o cualquier otro alimento marino, se captura lejos de la factoría pesquera, la necesidad de someterlo a refrigeración en el barco depende de la especie de pescado de que se trate, de si se eviscera en el barco, y de la temperatura atmosférica reinante. En general, los pescados pequeños son más perecederos que los grandes, y los eviscerados se autolizan más lentamente que los enteros, aunque aquéllos son alterados con mayor facilidad por las bacterias. Cuando las temperaturas ambientales son elevadas y las distancias a las que es preciso transportarlos son grandes, en el propio barco pesquero se hace necesario someter a refrigeración tanto el pescado como los productos derivados, introduciéndolos en cajas con hielo triturado o mediante refrigeración mecánica, con el fin de retardar la autólisis y la multiplicación de los microorganismos hasta tanto estos alimentos no sean vendidos o sometidos a otros tratamientos para conseguir que se conserven durante más tiempo. Más adelante se estudiará la incorporación de agentes conservadores al hielo. El tiempo que es posible conservar en hielo o mantener almacenados bajo refrigeración el pescado y productos derivados varía extraordinariamente según la especie de pescado o la clase de alimento marino de que se trate, aunque la mayoría de las veces la duración de su conservación en estas condiciones no será muy duradera. En general, el almacenamiento bajo refrigeración en la costa únicamente tiene utilidad cuando los mercados de venta al por menor están próximos y la venta es rápida. De no concurrir las citadas circunstancias, se emplea cualquier otro procedimiento de conservación, como por ejemplo la congelación, la salazón, la desecación, el ahumado, el enlatado, o distintas combinaciones de estos procedimientos de conservación.

Congelación

La mayoría de los procedimientos que se emplean en la actualidad para congelar alimentos fueron ideados para congelar el pescado. Cuando se empezó a emplear la congelación, se utilizaba hielo al que se le añadía sal. Con la llegada de la refrigeración mecánica, se empleó la congelación rápida y de aquí que el pescado se «escarchaba»; es decir, se formaba una capa de hielo alrededor de la superficie. Los pescados enteros, sobre todo los de mayor tamaño, se suelen someter a congelación rápida en aire o en salmuera. La congelación rápida se emplea en los filetes o tiras envueltos, aunque es posible que los pescados de menor tamaño se congelen por este procedimiento. Lo mismo que ocurre con las carnes, el pescado congelado por el procedimiento rápido, es posible que al descongelarlo se parezca más al pescado fresco que el que se congela por el procedimiento lento. Durante su almacenamiento, las grasas del pescado congelado están expuestas a la hidrólisis y a la oxidación. Los pescados grasos se

alteran con mayor facilidad que los magros, probablemente debido a que se hidrolizan más.

Los camarones se congelan y se escarchan crudos y desprovistos de cabeza, y algunos se congelan cocidos. Otros alimentos marinos que se conservan congelados son las veneras, las almejas, las ostras, las colas de langosta con su caparazón, y la carne cocida de cangrejo y de langosta. La mayoría de estos productos se envasan antes de congelarlos.

Lo mismo que sucede en las carnes, la congelación destruye algunos de los microorganismos existentes, aunque no todos, y de aquí que una vez descongelados en los mismos tendrá lugar su multiplicación si se les da tiempo para ello. El pescado contiene una flora de bacterias psicrótrofas, la mayoría de las cuales resisten la congelación y están dispuestas a multiplicarse tras su descongelación, por ejemplo, las especies de los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Alcaligenes* y *Flavobacterium*. Las esporas de *Clostridium botulinum* de tipo E resistirán la congelación y el almacenamiento y es posible que germinen y produzcan toxina cuando las temperaturas alcanzan 3,3 °C o temperaturas superiores. Los alimentos marinos que se congelan crudos contienen pocos enterococos, coliformes, o estafilococos. El número de los citados microorganismos es posible que aumente en la planta de tratamiento durante las operaciones de troceado, empanado y rebozado. El precocinado sólo reduce algo el número de coliformes.

EMPLEO DE RADIACIONES

Se ha ensayado la conservación del pescado mediante rayos ultravioleta, aunque no se ha puesto en práctica. Las experiencias llevadas a cabo han puesto de manifiesto que el tratamiento de ciertos tipos de pescado con rayos gamma o con rayos catódicos puede dar buenos resultados.

CONSERVACION POR DESECACION

La salazón en seco del pescado o su inmersión en salmuera es un procedimiento de desecación en el que la humedad se elimina o se liga. La desecación no retarda la oxidación de los aceites del pescado y es posible que esta oxidación sea la causa de que el pescado se altere. En los Estados Unidos, la salazón del pescado se emplea cada vez menos, aunque es un procedimiento de conservación que todavía se emplea bastante en todo el mundo. El bacalao salado se prepara combinando la salazón con la desecación al aire. Después, las espinas y la piel se separan de la parte muscular.

En los Estados Unidos, la desecación del pescado al sol, tanto si se trata de pescados de pequeño tamaño como de tiras de pescado, no se emplea en gran escala.

Parte del efecto conservador del ahumado se debe a la desecación del pescado.

EMPLEO DE CONSERVADORES

La salazón o tratamiento del pescado con sal marina seca o con salmuera, es eficaz no sólo por el efecto de desecación citado en el epígrafe anterior, sino también como consecuencia de la acción del cloruro sódico como conservador químico. En algunos países, este procedimiento para conservar el pescado todavía se emplea bastante. Tanto la composición química como la calidad bacteriológica de la sal son importantes, ya que las impurezas, tales como las sales de calcio y de magnesio, pueden impedir la penetración del cloruro sódico, y las bacterias halófilas o halotolerantes aportadas por la sal pueden originar coloraciones anormales en el pescado.

Como quiera que el pescado es un alimento muy perecedero, los investigadores han ensayado el empleo como conservadores de gran cantidad de compuestos químicos, tanto para aplicarlos directamente al pescado como para añadirlos al hielo que se emplea para refrigerarlo.

Conservadores utilizados en el pescado

En la gran cantidad de investigaciones llevadas a cabo para encontrar conservadores químicos que se puedan emplear para aplicarlos directamente sobre el pescado o como baños para introducir en los mismos las rodajas o los filetes de pescado, se han ensayado numerosos agentes químicos, desde aquéllos que la mayoría de los órganos de control los autorizarían hasta otros cuyo empleo sería discutible. Ya se ha hablado del cloruro sódico como conservador aceptable.

El pescado se puede salar en seco para que contenga del 4 al 5 por cien de sal. La sal aporta bacterias halófilas que pueden ser la causa de que en el pescado aparezcan coloraciones anormales. (por ej., el color rojo debido a *Serratia salinaria*). En la superficie del pescado tratado con sal suelen crecer especies de *Micrococcus**, disminuyendo en la misma las especies de los géneros *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas* y otras. El curado del pescado puede ser «intermedio», es decir, se somete a una ligera salazón, o se puede introducir en una salmuera concentrada o bien salarlo con sal sólida y después se puede ahumar. El ácido benzoico y los benzoatos sólo han resultado medianamente útiles como conservadores. Tanto los nitritos como los nitratos sódicos y potásicos prolongan

el período de conservación, estando permitidos en algunos países. Se ha comprobado que el ácido sórbico retarda la alteración del pescado ahumado o salado. En Europa, se ha empleado el ácido bórico para mejorar la calidad de conservación del pescado, aunque en Estados Unidos su empleo no está permitido por la ley. Otros compuestos químicos a los cuales se les atribuye haber dado buenos resultados como conservadores, aunque su empleo está contraindicado, son los siguientes: el formaldehído, los hipocloritos, el peróxido de hidrógeno, el dióxido de azufre, el ácido undecilénico, el ácido cáprico, el ácido *p*-oxibenzoico, y el cloroformo.

A nivel experimental también se han ensayado antibióticos, empleándose generalmente como soluciones o baños o incorporándolos al hielo. De los ensayados, parece ser que los que mejores resultados han dado han sido la clortetraciclina y la oxitetraciclina y en la actualidad está permitido emplearlos. El cloranfenicol es medianamente eficaz, mientras que la penicilina, la estreptomycinina y la subtilina tienen una eficacia escasa o nula.

Se ha comprobado que el almacenamiento del pescado en una atmósfera con elevadas concentraciones de dióxido de carbono prolonga su período de conservación. La flora microbiana que normalmente altera el pescado es sustituida por lactobacilos y otras bacterias, siendo ésta la razón de que el pescado salado «se agrie» cuando se empieza a alterar.

El escabechado del pescado puede significar su salazón o acidificación con vinagre, con vino, o con nata ácida. Los arenques se tratan de varias formas: se les añade sal, especias o ácidos. Con la combinación de varios de los citados tratamientos, unida a su envasado en recipientes de cierre hermético, se consigue la conservación del pescado, aunque para conservar algunos pescados escabechados es preciso emplear la refrigeración.

Antiguamente, el pescado se ahumaba principalmente para conservarlo, y de aquí que el ahumado a que se sometía era intenso, pero al disponerse en la actualidad de procedimientos de conservación tales como el enlatado, la refrigeración y la congelación para prolongar la duración de su conservación, el pescado se ahuma principalmente para darle sabor, y de aquí que se someta a un ligero ahumado. El ahumado y los demás tratamientos de conservación combinados con él dependen del tipo de pescado, del tamaño de las piezas, y del tiempo que se desee mantener conservado. El pescado que se va a ahumar se suele eviscerar y descabezar, aunque es posible que se presente en rodajas, desprovisto de espinas, o cortado en trozos. Corrientemente, al ahumado le suele preceder la salazón, tanto si es ligera como intensa, y sirve no sólo para comunicar sabor al pescado, sino también para mejorar su calidad de conservación por reducir su contenido de humedad. Se puede favorecer la desecación mediante corrientes de aire. El ahumado se puede llevar a cabo a temperaturas relativamente bajas (entre 26,7 y 37,8 °C) o a temperaturas elevadas, como por ejemplo a temperaturas comprendidas entre 63 y 92 °C, con las cuales el pescado se cuece parcialmente.

Los fundamentos de conservación que intervienen en el pescado ahumado son parecidos a los citados en el Capítulo 9.

Microbiología de las salmueras que se emplean para conservar el pescado. El número de bacterias existentes en las salmueras que se emplean para curar el pescado depende de la concentración de sal, de la temperatura de la salmuera, del tipo y grado de contaminación del pescado que se introduce en la salmuera, y del tiempo durante el cual se utiliza la salmuera, oscilando entre 10.000 y 10 millones de bacterias por mililitro. Cuanto más elevada es la temperatura de la salmuera, tanto mayor es la cantidad de sal que se necesita para evitar que se altere. La contaminación de las salmueras procede del pescado, el cual normalmente aporta especies de los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Alcaligenes Flavobacterium*; del hielo, que aporta los citados géneros y, además, especies del género *Corynebacterium* y cocos; y de fuentes debidas a su manipulación, por ejemplo, del polvo, el cual incorpora cocos a las salmueras. Conforme la salmuera se sigue empleando, aumenta en ella el número de microorganismos como consecuencia de introducir nuevos lotes de pescado y de que en ella se multiplican bacterias halotolerantes como son los micrococos*. Conforme la salmuera envejece, disminuye en la misma el número total de microorganismos, aunque aumentan principalmente las corinebacterias en las salmueras con bajas concentraciones de sal, y los micrococos* en las que contienen elevadas concentraciones de sal.

Conservadores que se incorporan al hielo

Los denominados hielos germicidas se preparan añadiendo un conservador químico al agua antes de congelarla. Este tipo de hielos son **eutéticos** cuando el conservador químico incorporado se distribuye uniformemente en el mismo, cosa que sucede cuando se trata de cloruro sódico, y **no eutéticos** cuando la distribución del conservador químico no es uniforme, lo que sucede cuando se trata de benzoato sódico. Para emplearlo en el pescado, el hielo no eutético se tritura finamente con el fin de que el conservador químico se distribuya uniformemente sobre él.

Algunos investigadores han buscado el conservador ideal para incorporar al hielo que se emplea para refrigerar el pescado, habiendo ensayado con resultados relativamente buenos un gran número de compuestos químicos entre los que se incluyen los hipocloritos, las cloraminas, el ácido benzoico y los benzoatos, la plata coloidal, el peróxido de hidrógeno, el ozono, el nitrito sódico, sulfonamidas, antibióticos, los propionatos, el ácido levulínico y algunos otros. En la actualidad, tanto el gobierno del Canadá como el de los Estados Unidos y los gobiernos de otras naciones, permiten incorporar tetraciclinas al hielo que emplean los pescadores para conservar el pescado en los barcos de pesca de arrastre y durante su transporte, en la proporción de hasta 7 ppm.

El objeto de aplicar conservadores químicos al pescado, bien directamente, o en forma de baños o como hielos germicidas, consiste en destruir o inhibir los

microorganismos de la superficie del pescado, en donde al principio más abundan y son más activos.

Antioxidantes

Las grasas y los aceites de algunas clases de pescados, sobre todo de los más grasos, como por ejemplo el arenque, la caballa, el mágil, y el salmón, están formados en su mayor parte por ácidos grasos no saturados y, por consiguiente, están expuestos a experimentar modificaciones oxidativas que originan el enranciamiento debido a su oxidación, y, a veces, modificaciones indeseables del color del pescado. Para evitar que tengan lugar estas modificaciones indeseables se pueden emplear antioxidantes en forma de baños, de revestimientos, recubriendo el pescado con una capa de hielo, o empleando gases. Se citan casos en los que se han obtenido buenos resultados empleando como antioxidantes el ácido nordihidroguayarético, el galato de etilo, el ácido ascórbico y otros compuestos, así como almacenando el pescado en una atmósfera de dióxido de carbono.

ALTERACION

Lo mismo que sucede en la carne, el pescado y los demás alimentos marinos se pueden alterar por autólisis, por oxidación, o como consecuencia de la actividad de las bacterias, o, lo que es lo más corriente, como consecuencia de la combinación de estas causas. Se considera no obstante, que la mayor parte de la masa muscular del pescado es más percedera que la carne debido a que en ella es más rápida la autólisis producida por la acción de sus propios enzimas, y a que tiene un pH menos ácido que favorece la multiplicación de las bacterias. Asimismo, parece ser que algunos de los aceites no saturados del pescado son más sensibles que la mayoría de las grasas animales a la alteración por oxidación. Los expertos coinciden en que la alteración bacteriana del pescado no se inicia hasta después de haber desaparecido la rigidez cadavérica, momento en el cual son liberados los jugos de las fibras musculares. Por lo tanto, cuanto más se retrase o prolongue la rigidez cadavérica, tanto mayor será el período de conservación del pescado. La rigidez cadavérica se adelanta por los esfuerzos que hace el pez antes de morir, por la falta de oxígeno, y por la temperatura elevada, mientras que el pH bajo y la refrigeración del pescado la retardan. El pH del músculo del pescado influye de modo importante en la rapidez con que se altera, no sólo porque influye en la rapidez con que aparece la rigidez cadavérica, sino también porque influye en la multiplicación de las bacterias. En general, cuanto más bajo sea el pH del tejido muscular del pescado, tanto más lenta será la descomposición debida a la actividad de las bacterias. La disminución del pH del tejido muscular del pescado se debe a que el glucógeno muscular se transforma en ácido láctico.

FACTORES QUE INFLUYEN EN EL TIPO Y VELOCIDAD DE LA ALTERACION

En el pescado, tanto el tipo de alteración como la velocidad con que tiene lugar, dependen de una serie de factores:

- 1 *Tipo de pescado.* Los distintos tipos de pescado se diferencian bastante por lo que se refiere a la facilidad con que se alteran. A este respecto, los pescados cuyo cuerpo tiene forma aplanada se alteran con mayor facilidad que aquéllos cuyo cuerpo es cilíndrico debido a que en los primeros la rigidez cadavérica transcurre con mayor rapidez, si bien un pescado de forma aplanada como es el hipogloso* se conserva durante más tiempo debido al bajo pH (5,5) de su músculo. Determinados pescados grasos se alteran con rapidez debido a la oxidación de las grasas no saturadas de sus aceites. Los pescados ricos en óxido de trimetilamina producen pronto una importante cantidad de trimetilamina con el típico «olor a pescado estropeado».
- 2 *Estado del pescado en el momento de su captura.* Los peces que están agotados como consecuencia de los esfuerzos que hacen antes de morir, a la falta de oxígeno, y a una excesiva manipulación, se alteran más rápidamente que aquéllos que, una vez capturados, realizan menos esfuerzos, probablemente debido al menor consumo de glucógeno y, por tanto, a un menor descenso del pH de su tejido muscular. Los pescados «cebados», es decir, aquéllos que han sido capturados repletos de alimentos, se alteran con mayor facilidad que aquéllos cuyo tubo intestinal está vacío.
- 3 *Clase y número de bacterias contaminantes existentes en el tejido muscular del pescado.* Las bacterias pueden proceder del lodo, del agua, de los manipuladores y también del mucílago que recubre la superficie externa del pescado o de su tubo intestinal, suponiéndose que penetran a través de sus branquias, desde las cuales pasan al sistema vascular, desde donde invaden el tejido muscular, o bien penetran en el tubo intestinal y, por lo tanto, en la cavidad abdominal. Incluso en este caso, es probable que la mayor parte de la multiplicación de las bacterias se encuentre localizada, si bien los productos resultantes de la descomposición llevada a cabo por las bacterias penetran por difusión con bastante rapidez en el tejido muscular. En general, cuanto mayor es la carga bacteriana de la superficie del pescado, tanto más rápidamente se altera éste. Esta contaminación puede tener lugar en la red

* N. del T.- También conocido con los nombres de halibut y paralictis. Se trata de la especie *Hippoglossus vulgaris*. Pez de gran tamaño del grupo de los Pleuronéctidos, abundante en los mares del hemisferio Norte muy utilizado como alimento. Su nombre en inglés (*halibut*) significa que se trata de un pez cuyo cuerpo tiene forma aplanada (*butt*) y que se come los días festivos (*holidays, holy, haly*).

(Iodo), en el barco pesquero, en los muelles, o, posteriormente, en las factorías pesqueras. En el pescado entero, es decir, no eviscerado, el tejido muscular no ha sido contaminado con microorganismos de procedencia intestinal, aunque puede desprender olor como consecuencia de la descomposición de las sustancias existentes en el intestino y de la difusión al tejido muscular de los productos resultantes de la misma. Aceleran este proceso de descomposición los enzimas digestivos que atacan y perforan las paredes del intestino y del abdomen y las vísceras, las cuales ya de por sí experimentan un rápido proceso de autodescomposición. El eviscerado del pescado en el propio barco pesquero disemina al tejido muscular las bacterias intestinales y las del mucflago superficial, aunque el lavado a fondo eliminará la mayoría de los microorganismos, y la apropiada refrigeración inhibirá a los que hayan quedado. Toda lesión de la piel o de las mucosas del pescado disminuirá su calidad de conservación.

- 4 *Temperatura.* La refrigeración del pescado es el procedimiento más corrientemente utilizado para impedir o retardar la multiplicación de las bacterias y, por lo tanto su alteración, hasta tanto no se consume o se somete a cualquier otro tratamiento para conservarlo. El pescado se debe refrigerar lo más rápidamente posible hasta una temperatura comprendida entre 0 y -1°C , debiéndose mantener el pescado a esta baja temperatura. No cabe duda que cuanto mayor sea la temperatura, más corto es el tiempo de conservación del pescado. La inmediata y rápida congelación del pescado todavía es más eficaz como procedimiento para conservarlo.

5 *Empleo de un antibiótico incorporado al hielo o en forma de baño.*

SIGNOS DE ALTERACION

Como quiera que la alteración del pescado desde su estado fresco al de pescado pasado, para pasar posteriormente a ser un alimento no apto para el consumo es gradual, resulta difícil señalar o coincidir acerca de cuándo aparece el primer signo de alteración. Durante muchos años se ha estado buscando una prueba práctica para determinar la calidad del pescado, aunque ninguna se ha mostrado totalmente satisfactoria. En los pescados de agua salada, la mayoría de los autores son partidarios de la prueba química para la determinación de la trimetilamina, aunque algunos prefieren utilizar otras pruebas, como por ejemplo la determinación de los ácidos volátiles o la determinación de las bases volátiles, o bien las valoraciones del pH, del sulfuro de hidrógeno, del amoníaco, etc. Las pruebas bacteriológicas son excesivamente lentas para que resulten útiles.

Reay y Shewan (1949) describieron la sucesión de modificaciones externas que experimenta el pescado conforme se altera hasta que finalmente se pudre.

Los colores vivos, típicos del pescado fresco, palidecen y aparecen coloraciones anormales indefinidas de un tono amarillo o pardo. Aumenta la cantidad de mucílago existente en la piel del pescado, sobre todo a nivel de las aletas y branquias. Los ojos se hundén y se arrugan de forma gradual, la pupila se vuelve turbia y la córnea opaca. Las branquias adquieren un color rosa pálido y finalmente amarillo grisáceo. El signo más visible es el ablandamiento de la masa muscular, de forma que, al comprimirla, exuda un jugo y quedan marcadas con facilidad las huellas de los dedos. La masa muscular se separa fácilmente de la espina dorsal en la que, como consecuencia de la oxidación de la hemoglobina, aparece una coloración anormal de color pardo rojizo cerca de la cola.

Mientras tanto, se suceden una serie de olores: primeramente el olor normal a algas marinas del pescado fresco, a continuación un ligero olor dulce, después un olor a pescado pasado debido a la trimetilamina, seguido de los olores amoniacal y pútrido debidos al sulfuro de hidrógeno, al indol, y a otros compuestos malolientes. En los pescados grasos también pueden aparecer olores a rancio. La cocción del pescado acentuará estos olores.

BACTERIAS QUE ALTERAN EL PESCADO

Las bacterias que con mayor frecuencia intervienen en la alteración del pescado forman parte de la flora propia del mucílago que recubre el cuerpo de los peces y de la flora de su contenido intestinal. Las principales especies de bacterias que alteran el pescado dependen de la temperatura a la que se mantiene el pescado, aunque a las temperaturas que normalmente se emplean para refrigerarlo es más probable que predominen las especies de *Pseudomonas*, siguiéndoles en orden de mayor a menor importancia las especies de los géneros *Acinetobacter*, *Moraxella*, y *Flavobacterium*. Con menor frecuencia, y en caso de que las temperaturas sean más elevadas, aparecen en el pescado bacterias de los géneros *Micrococcus* y *Bacillus*. Algunas referencias bibliográficas citan otros géneros en los que se encuentran especies que intervienen en la alteración del pescado, como, por ejemplo, los géneros *Escherichia*, *Proteus*, *Serratia*, *Sarcina*, y *Clostridium*. La mayoría de las especies de estos géneros sólo crecerían a las temperaturas ambientales normales y probablemente crecerían escasamente a las temperaturas de refrigeración.

Normalmente, durante el tiempo que se mantiene la masa muscular del pescado en refrigeración, aumenta el número de *Pseudomonas* y disminuye el número de bacterias del género *Achromobacter*, mientras que las pertenecientes al género *Flavobacterium* aumentan al principio para disminuir después. Las bacterias se multiplican al principio en la superficie y posteriormente penetran en la masa muscular. El pescado es rico en nitrógeno no proteico y la autólisis originada por sus enzimas aumenta el aporte de nutrientes nitrogenados (por ej.,

aminoácidos y aminas) y de glucosa que necesitan las bacterias para multiplicarse. A partir de estos compuestos las bacterias producen trimetilamina, amoníaco, aminas (por ej., putrescina y cadaverina), ácidos grasos inferiores, y aldehídos y, finalmente, sulfuro de hidrógeno y otros sulfuros, mercaptano e indol, compuestos que son indicadores de putrefacción. El olor a enmohecido o a lodo se ha atribuido a especies de *Streptomyces* que crecen en el lodo del fondo de la masa de agua y a que el pescado absorbe este sabor.

Según ya se ha señalado, durante la alteración pueden aparecer coloraciones anormales en el músculo del pescado; *Pseudomonas fluorescens*, los micrococcos amarillos, y otras bacterias pueden originar una coloración que puede variar desde el amarillo al amarillo grisáceo; las especies de los géneros *Sarcina*, *Micrococcus* y *Bacillus*, algunos mohos y algunas levaduras pueden originar una coloración roja o rosada; una levadura asporógena puede ser la causante de la aparición de una coloración pardo-achocolatada. Los microorganismos patógenos que parasitan el pescado pueden ocasionar coloraciones anormales o lesiones.

ALTERACION DE DETERMINADOS TIPOS DE PESCADO Y ALIMENTOS MARINOS

La revisión de las alteraciones del pescado que antecede se refiere principalmente a las que se presentan en el pescado que se conserva refrigerado. Las salazones de pescado son alteradas por bacterias halotolerantes o halófilas de los géneros *Serratia*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, y otras, las cuales a veces originan coloraciones anormales en el pescado, siendo corriente la aparición de un color rojo. Los mohos son los principales microorganismos que alteran el pescado ahumado. El pescado escabechado (adobado con ácidos) no debe presentar problemas de alteración, a no ser que la acidez no sea suficiente para impedir la multiplicación de las bacterias lácticas, o que la penetración de aire permita el crecimiento de mohos. De igual modo, tras su congelación, el pescado congelado no debe presentar problemas bacteriológicos, aunque no cabe duda que su calidad depende de cuanto haya ocurrido en el mismo antes de congelarlo. En el Capítulo 19 se estudiarán las alteraciones del pescado y demás alimentos marinos enlatados. El embutido de pescado que se prepara en Japón está expuesto al agriado debido a la producción de ácidos volátiles por parte de bacilos, o a la putrefacción, a pesar de que se le añaden nitritos y conservadores permitidos.

En general, los mariscos están expuestos a tipos de alteración microbiana parecidos a los del pescado. No obstante en los camarones refrigerados los principales microorganismos responsables de su alteración son especies de los géneros *Acinetobacter*, *Moraxella* y *Vibrio*, aunque es posible que en los mismos exista un aumento temporal de las especies de *Pseudomonas*, y una disminución de las pertenecientes a los géneros *Flavobacterium*, *Micrococcus** y *Bacillus*. A

temperaturas de refrigeración, la carne de cangrejo es alterada por especies de *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *Moraxella*, mientras que a temperaturas elevadas son especies del género *Proteus* las que la alteran. La alteración de las langostas frescas se ha atribuido principalmente a especies de los géneros *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* y *Bacillus*. Tanto en los cangrejos como en las langostas se pueden encontrar especies de *Vibrio*, incluso la especie *V. parahemolyticus*. El número de estos microorganismos varía de acuerdo con los cambios estacionales de la temperatura.

Mantenidas a temperatura de refrigeración, las ostras se conservan en buen estado mientras siguen estando vivas dentro de las conchas, pero se descomponen rápidamente en cuanto mueren, ocurriendo lo mismo en las que se conservan sin sus conchas. El tipo de alteración de las ostras desprovistas de sus conchas depende de la temperatura de almacenamiento. Las ostras no sólo contienen una elevada cantidad de proteínas, sino que también contienen azúcares, los cuales son originados por la hidrólisis del glucógeno. A temperaturas próximas a las de congelación, las bacterias más importantes que las alteran son las especies de los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *Moraxella*, aunque también se pueden multiplicar en ellas especies de los géneros *Flavobacterium* y *Micrococcus**. Si bien a la alteración que experimentan se le denomina «agriado», las modificaciones que tienen lugar en ellas son principalmente de tipo proteolítico. A temperaturas más elevadas, el agriado puede ser consecuencia de la fermentación de los azúcares llevada a cabo por bacterias coliformes, por estreptococos, por lactobacilos y por levaduras que producen ácidos y un olor agrio. Al principio puede haber multiplicación de especies de los géneros *Serratia*, *Pseudomonas*, *Proteus* y *Clostridium*. Un tipo de alteración no corriente debido a una levadura asporógena, comunica a las ostras un color rosado.

BIBLIOGRAFIA

- Akamatsu, M. 1959. Bacteriological studies on the spoilage of fish sausage. I. Number of bacteria present in the meat of fish sausage on the market. Jap. Soc. Sci. Fish. Bull. 25:545-548.
- Borgstrom, G. (ed.). 1961. Fish as food. Volume I. Production, biochemistry, and microbiology. Academic Press, Inc., New York.
- Borgstrom, G. (ed.). 1962. Fish as food. Volume II. Nutrition, sanitation, and utilization. Academic Press, Inc., New York.
- Chichester, C. O., and H. D. Graham. 1973. Microbial safety of fishery products. Academic Press, Inc., New York.
- Colwell, R. R., and J. Liston. 1960. Microbiology of shellfish: bacteriological study of the natural flora of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). Appl. Microbiol. 8:104-109.
- Dickerson, R. W., and M. R. Berry. 1974. Temperature profiles during commercial pasteurization of meat from the blue crab. J. Milk Food Technol. 37:618-621.
- Eddy, B. P. (ed.). 1958. Microbiology of fish and meat curing brines. II Int. Symp. Food Microbiol. Proc. H.M. Stationery Office, London.

- Evelyn, T. P. T., and L. A. McDermott. 1961. Bacteriological studies of fresh-water fish. I. Isolation of aerobic bacteria from several species of Ontario fish. *Can. J. Microbiol.* 7:375-382.
- FAO. 1973. Code of practice for canned fishery products. *FAO Fish. Circ.* 315.
- Hess, E. 1950. Bacterial fish spoilage and its control. *Food Technol.* 4:477-480.
- Licciardello, J. J., and W. S. Hill. 1978. Microbiological quality of commercial frozen minced fish blocks. *J. Food Prot.* 41:948-952.
- Maclean, D. P., and Camille Walander. 1960. The preservation of fish with ionizing radiation: bacterial studies. *Food Technol.* 14:251-254.
- Masurovsky, E. B., J. S. Voss, and S. A. Goldblith. 1963. Changes in the microflora of haddock fillets and shucked soft-shelled clams after irradiation with ^{60}Co gamma rays and storage at 0 C and 6 C. *Appl. Microbiol.* 11(3):229-234.
- Post, L. S., D. A. Lee, M. Solberg, D. Furgang, J. Specchio, and C. Graham. 1985. Development of botulinal toxin and sensory deterioration during storage of vacuum and modified atmosphere packaged fish fillets. *J. Food Sci.* 50:990-996.
- Reay, G. A., and J. M. Shewan. 1949. The spoilage of fish and its preservation by chilling. *Adv. Food Res.* 2:343-398.
- Shewan, J. M. 1971. The microbiology of fish and fishery products—a progress report. *J. Appl. Bacteriol.* 34:299-308.
- Shewan, J. M., and G. Hobbs. 1967. The bacteriology of fish spoilage and preservation. *Prog. Ind. Microbiol.* 6:169-208.
- Silliker, J. H., and S. K. Wolfe. 1980. Microbiological safety considerations in controlled atmosphere storage of meats. *Food Technol.* 34:59-63.
- Spencer, R. 1959. The sanitation of fish boxes. I. The quantitative and qualitative bacteriology of commercial wooden fish boxes. *J. Appl. Bacteriol.* 22:73-84.
- Spencer, R., and R. B. Hughes. 1963. Recent advances in fish processing technology. *Food Manuf.* 38:407-412.
- Stansby, M. E. 1962. Speculations on fishy odors and flavors. *Food Technol.* 16(4):28-32.
- Tanikawa, E. 1963. Fish sausage and ham industry in Japan. *Adv. Food Res.* 12:367-424.
- Tarr, H. L. A. 1954. Microbiological deterioration of fish post mortem, its detection and control. *Bacteriol. Rev.* 18:1-15.
- Tomiyasu, Y., and B. Zentani. 1957. Spoilage of fish and its preservation by chemical agents. *Adv. Food Res.* 7:42-82.
- Wentz, B. A., A. P. Duran, A. Swartzentruber, A. H. Schwab, and R. B. Read, Jr. 1983. Microbiological quality of fresh blue crabmeat, clams and oysters. *J. Food Prot.* 46:978-981.
- World Health Organization. 1974. Fish and shellfish hygiene. Geneva.
- U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, National Shellfish Sanitation Program. 1965. Manual of Operations. Washington.

Contaminación, conservación y alteración de los huevos

Si bien en este Capítulo se estudian solamente los huevos de gallina, se supone que la microbiología de los huevos de las demás aves de corral será parecida.

CONTAMINACION

La mayoría de los huevos recién puestos son estériles, al menos en su interior, aunque la cáscara se contamina enseguida con los microorganismos existentes en la materia fecal de la gallina, en la jaula o en el nidal, con los existentes en el agua si los huevos se lavan, con los procedentes de los manipuladores, y tal vez con los existentes en el material en el cual se empaquetan. Se ha señalado que el número total de microorganismos existentes en la cáscara de un huevo de gallina oscila entre 10^2 y 10^7 con una media de aproximadamente 10^5 . Los tipos de microorganismos aislados en la cáscara son variados. Si se compara la flora de la cáscara (Tabla 16.1) con la flora aislada en los huevos alterados (Tabla 16.2) se observa que en la primera existe un elevado número de microorganismos grampositivos, pero en la última el número de este tipo de microorganismos es escaso. Por consiguiente, los microorganismos que con frecuencia alteran o «pudren» el huevo, se encuentran inicialmente en la cáscara en cantidades relativamente escasas.

Tabla 16.1. Incidencia de microorganismos en la cáscara de los huevos de gallina.

Tipo	Porcentaje de la flora		
	Granjas	Al abrirlos en plantas industriales	Punto de embalaje*
<i>Streptococcus</i>		8(5)	
<i>Staphylococcus</i>	5	30	9(16)
<i>Micrococcus</i> *	18	23(20)	37(94)
<i>Sarcina</i>	2	20	
<i>Arthrobacter</i>			5(23)
<i>Bacillus</i>	30	(18)	(2,5)
<i>Pseudomonas</i>	6		22,5(36,5)
<i>Achromobacter</i> *	19		1,5(3)
<i>Alcaligenes</i>			(2)
<i>Flavobacterium</i>	3		
<i>Cytophaga</i>			(1)
<i>Coli-aerogenes</i>	5	19(12)	10,5(11,5)
<i>Aeromonas</i>		20(20)	1
<i>Proteus</i>	1	20(50)	
<i>Serratia</i>		10(20)	
Mohos	7		
No clasificados			12(11)

* Las cifras representan datos obtenidos a partir de huevos limpios; las cifras entre paréntesis, son datos obtenidos a partir de huevos manchados o con grietas.

Fuente: Resumido de Board (1969).

Es posible que tanto en la superficie externa de la cáscara como en el interior del huevo recién puesto existan especies del género *Salmonella*, que su número aumente durante los tratamientos a que se someten los huevos, y que aparezcan en cantidades importantes tanto en los congelados como en los desecados.

Tabla 16.2. Tipos de microorganismos aislados en los huevos alterados.

Micro-organismos	Haines (1939)	Alford et al., (1950)	Florian y Trussell (1957)	Board (1965)	Board y Board (1968)
Grampositivos:	-	-	+/-	+/-	+/-
<i>Coli-aerogenes</i>	+	+	+	+	+
<i>Proteus</i>	+	+	+	+	+
<i>Aeromonas</i>	-	-	+	+	+
<i>Pseudomonas</i>	+	+	+	+	+
<i>Alcaligenes</i>	+	+	+	+	+
<i>Achromobacter</i> *	+	+	+	+	+

+ = aislado muchas veces; +/- aislado a veces; - no aislado.

Fuente: Resumida de Board (1969).

CONSERVACION

Se ha prestado gran atención a los procedimientos de conservación de los huevos debido a que son un alimento muy perecedero. «¿Qué fabricante sería tan temerario como para intentar envasar un alimento perecedero rodeado por una membrana semipermeable, dentro de una cáscara frágil y porosa para tener que distribuirlo y venderlo de forma no controlada?» Board (1969), sigue diciendo: «Parece ser que esto es lo que ha hecho la gallina».

El huevo dispone de varios mecanismos para protegerse de la invasión de microorganismos. La cáscara y la delicada capa superficial de naturaleza proteica conocida con la denominación de cutícula o frescura constituyen la primera línea de defensa que sirve para retardar la penetración de los microorganismos. No obstante, durante el desarrollo del embrión la cáscara permite el intercambio de gases. Las membranas existentes en la parte interna de la cáscara (Figura 16.1) también suelen funcionar como una barrera mecánica. Probablemente esta barrera sólo es temporal y tampoco protege al huevo frente a la penetración de las hifas de los mohos a través de los poros de las membranas y de la cáscara. Este hecho pone de relieve la necesidad de almacenar los huevos de forma que se evite la acumulación de humedad en la superficie de la cáscara. Todo cambio rápido de la temperatura de almacenamiento puede hacer posible que las bacterias atraviesen la barrera constituida por la cáscara y su membrana. Por ejemplo, si un huevo caliente se coloca en un ambiente frío, los microorganismos existentes en la superficie externa de la cáscara pueden ser aspirados al interior del huevo, a través de los poros, como consecuencia de la contracción que experimenta su contenido. Conforme el huevo envejece, en sus membranas tienen lugar cambios que con-

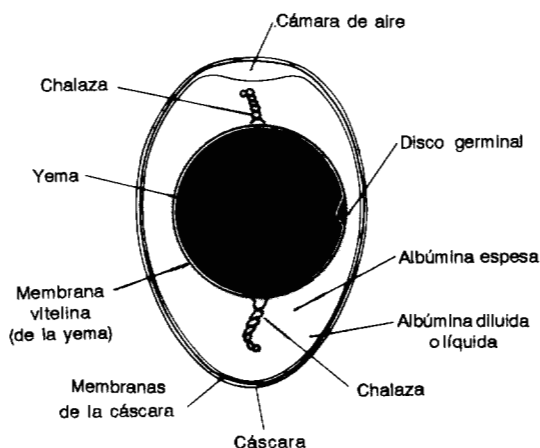


Figura 16.1. Estructura interna de un huevo. (*Gentileza de Poultry and Egg National Board, Chicago.*)

tribuyen a que la multiplicación de las bacterias sea más rápida. La rapidez con que tienen lugar los cambios físicos y químicos de los huevos depende tanto del tiempo durante el cual se mantienen almacenados como de la temperatura a la que se conservan, de la humedad relativa y de la composición de la atmósfera existente en torno a los huevos.

Además de la barrera física constituida por la cáscara y sus membranas, numerosas investigaciones han demostrado que la clara del huevo es un medio inapropiado para el crecimiento de muchos microorganismos. Entre las propiedades de la clara que impiden la multiplicación de las bacterias, se incluyen las siguientes: su pH comprendido entre 9 y 10 que es posible que se alcance durante el almacenamiento de los huevos; la baja concentración de compuestos nitrogenados sencillos; su apoproteína que fija la riboflavina; su avidina que fija la biotina; sus factores antiproteolíticos, los cuales podrían evitar que las proteinasas bacterianas liberasen los compuestos nitrogenados necesarios para la multiplicación de las bacterias; su conalbúmina (ovotransferrina), que quela el hierro; y su lisozima, enzima que degrada la pared celular de las bacterias grampositivas.

ASEPSIA

Consiste en tener sumo cuidado para reducir la contaminación de la superficie externa de la cáscara con heces de la gallina y con la suciedad de los nidales. Cuando los huevos se rompen para desecarlos o congelarlos, se procura desecharlos en los cuales ha habido crecimiento de microorganismos y reducir la contaminación del equipo limpiándolo y desinfectándolo.

ELIMINACION DE MICROORGANISMOS

Debido a que los huevos sucios se cotizan a un precio más bajo que los limpios, se han ensayado diversos métodos para desproverles de la suciedad. La limpieza en seco, por ejemplo con un chorro de arena, elimina la suciedad, pero también la cutícula (mucina). El simple lavado con agua caliente, elimina la suciedad, la cutícula, y parte de los microorganismos, pero favorece la penetración de bacterias al interior del huevo a través de los poros de la cáscara. A no ser que se tomen precauciones, el agua que se emplea para lavar los huevos aumentará el número de bacterias capaces de alterarlos, de modo que durante el lavado de los mismos aumentará la contaminación. Se ha comprobado experimentalmente que los huevos lavados a mano están más expuestos a la putrefacción que los que no han sido lavados, mientras que en los lavados mecánicamente existen mayor número de putrefacciones que en los que han sido lavados manualmente. La cantidad de huevos que se pudren depende del tipo de máquina con que se lavan y del tipo de

solución empleada para lavarlos. Los intentos para reducir la contaminación de los huevos con bacterias causantes de putrefacción limpiando las máquinas que se emplean para lavarlos y desinfectándolas con una solución de hipoclorito al 1%, no siempre han dado buenos resultados, aunque si se emplea esta solución desinfectante como agua de lavado, en los huevos que se lavan con ella se reduce el porcentaje de huevos que se pudren. El empleo de una solución de ácido acético en agua a concentraciones comprendidas entre el 1 y el 3% no consiguió eliminar la flora contaminante de los huevos, antes bien disminuyó tanto el espesor de la cáscara como su calidad (Heath y Wallace, 1978). En las soluciones que se emplean para lavar los huevos se han ensayado la lejía, diversos ácidos, el formol, los hipocloritos, los compuestos de amonio cuaternario, varios detergentes, y asociaciones de un detergente y un desinfectante. Estas soluciones se utilizan a temperaturas que oscilan entre 32,2 y 60°C, según el compuesto químico que se emplee para prepararlas. Es indispensable que la solución que se emplee para lavar los huevos esté caliente para evitar que el líquido sea aspirado al interior de los huevos cuando éstos están fríos. Una lavadora mecánica apropiada para lavar huevos eliminará esencialmente toda la flora microbiana de la cáscara.

EMPLEO DEL CALOR

El hecho de que la clara de huevo se coagule por el calor determina en gran parte la máxima intensidad del tratamiento térmico a que se pueden someter los huevos con cáscara. Salton y otros (1951), han calculado el tiempo máximo a diferentes temperaturas para calentar los huevos introduciéndolos en agua con el fin de evitar precisamente que no se coagule la clara, por ejemplo durante 800 segundos a 57,5 °C; cuando se mantenían durante 320 segundos a 60°C o a temperaturas superiores, tenía lugar cierta coagulación de la clara cuando se empleaban tratamientos térmicos que habrían controlado la putrefacción. La putrefacción era controlada perfectamente, por ejemplo, mediante el calentamiento de los huevos a 60°C durante 320 segundos. El calentamiento de los huevos introducidos en un baño de agua dio mejores resultados que cuando se calentaban introduciéndolos en un baño de aceite.

Los tratamientos ideados incluyen el calentamiento de los huevos con cáscara en un baño de aceite durante 10 minutos o en un baño de agua durante 30 minutos a 54,4°C; el tratamiento del contenido del huevo a 61,7°C durante 30 minutos; la inmersión de los huevos con cáscara en agua hirviendo durante algunos segundos o en un baño de aceite caliente (57,2°C), con o sin vacío; y la inmersión de los huevos en una solución caliente (a una temperatura comprendida entre 43,3 y 54,4°C) de una asociación de un detergente con un desinfectante (siendo el desinfectante un compuesto de amonio cuaternario).

El método de la **termoestabilización**, consistente en sumergir los huevos en agua caliente, reduce la evaporación de la humedad del huevo gracias a una ligera coagulación de la parte más externa de la albúmina.

Los tratamientos térmicos que se emplean en los Estados Unidos para eliminar las salmonelas son los siguientes: (1) líquido de huevo completo, 60°C durante 3,5 minutos como mínimo; (2) líquido de yema sola, 61,1°C durante 3,5 minutos como mínimo, o 60°C durante 6,2 minutos como mínimo; (3) yema con hidratos de carbono, 63,3°C durante 3,5 minutos como mínimo, o 62,2°C durante 6,2 minutos como mínimo; (4) yema con sal, 63,3°C durante 3,5 minutos como mínimo, o 62,2°C durante 6,2 minutos como mínimo. Los tratamientos que se emplean en otros países son parecidos, aunque ofrecen ligeras variaciones.

La mayoría de los ovoderivados es preciso pasteurizarlos. La yema de huevo con sal que se utiliza para aderezar ensaladas es una excepción. Este ovoderivado no es preciso pasteurizarlo si contiene como mínimo un porcentaje del 1,4 por cien de ácido acético (pH 4,1 o inferior). Como quiera que los huevos se coagulan por la acción del calor, antes de pasteurizarlos es preciso someterlos a un tratamiento de estabilización. Este tratamiento incluye la adición de sales de aluminio y el ajuste del pH.

EMPLEO DE TEMPERATURAS BAJAS

El procedimiento más corriente para conservar huevos consiste en el empleo de temperaturas bajas, el cual incluye la refrigeración para los huevos con cáscara y la congelación para las denominadas «carnes» de huevo. El embadurnado de los huevos con un aceite, el almacenamiento en gas, o el tratamiento con conservadores químicos se pueden combinar con la refrigeración de los huevos provistos de cáscara.

Refrigeración

La mayoría de los huevos con cáscara se conservan por refrigeración. Para almacenarlos, se seleccionan teniendo en cuenta su aspecto general y el resultado del **miraje a trasluz**. Para mirar a trasluz un huevo, se le mantiene y se le da vueltas frente a una luz con el fin de apreciar defectos tales como la presencia de grietas, putrefacciones, mohos, sangre, que el embrión se encuentra en fase de desarrollo, que la yema está incrustada o ladeada, que la clara es frágil, o que la cámara de aire es grande. Una vez puestos, los huevos se deben enfriar lo más pronto posible y se deben mantener a una temperatura y a una humedad relativa que depende del tiempo de almacenamiento previsto. Cuanto más descienda la humedad relativa por debajo del 99,6 por cien, tanto más rápidamente el huevo perderá humedad, y por lo tanto peso, y tanto mayor se hará la cámara de aire.

Cuanto más elevada sea la humedad relativa, tanto más probable será que los microorganismos alteren los huevos. Cuanto más se eleve la temperatura por encima de $-1,67^{\circ}\text{C}$, tanto más rápida serán la penetración de los microorganismos y su posterior multiplicación en el interior del huevo y tanto más importantes serán los cambios físicos y químicos, por ejemplo, la disminución del espesor de la clara y la debilitación de la membrana vitelina. Para el almacenamiento comercial durante 6 meses o durante más tiempo, se han recomendado una temperatura de refrigeración comprendida entre $-1,7$ y $-0,55^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa entre el 70 y el 80 por cien. La ventilación en la cámara donde se almacenan los huevos es importante para mantener la humedad relativa deseada en torno a los huevos, y es esencial una temperatura de almacenamiento constante para evitar que se condense humedad en la superficie externa de la cáscara.

Los tratamientos especiales a los que se someten los huevos pueden mejorar su calidad de conservación durante el almacenamiento en frío. La impregnación de la cáscara de los huevos con un aceite mineral incoloro e inodoro es un procedimiento de conservación corriente que los preserva de la humedad, retarda tanto su desecación como la penetración de aire, retiene el dióxido de carbono, y retarda los cambios físicos y químicos que tienen lugar en el interior del huevo. Los huevos se embadurnan ligeramente con un aceite, sobre todo si se trata de huevos comerciales que se han de tener almacenados durante mucho tiempo, tratamiento que influye de forma poco manifiesta en la rapidez con que tienen lugar los cambios en el interior del huevo.

Congelación

Los principales problemas bacteriológicos de la congelación de las «carnes» o «pasta» de huevo se refieren a la selección y preparación del contenido del huevo para congelarlo. Lo mismo que sucede en los demás alimentos congelados, el huevo congelado no es de mejor calidad que la que tenía antes de ser congelado. Muchos de los huevos que se rompen para congelarlos o desecarlos, tienen defectos que disminuyen su calidad comercial como huevos enteros con cáscara, aunque estos defectos no influyen en la calidad de su contenido, como son, por ejemplo, los huevos de tamaño excesivamente grande o excesivamente pequeño, los sucios, los huevos con grietas, y los de cáscara débil.

En primer lugar, los huevos se seleccionan mirándolos al trasluz y a continuación se lavan mecánicamente con un aclarado final en agua que contiene de 200 a 500 ppm de cloro (el yodo también es eficaz) y después se rompen automáticamente en máquinas apropiadas. El empleo de máquinas de funcionamiento automático para romper los huevos exige un control estricto de la calidad de los huevos enteros y la inspección de los rotos antes de mezclarlos o «juntarlos» en grandes cantidades. Se rompen los huevos y su contenido cae en copas en las que se realiza su inspección. Durante la inspección, las yemas se separan de las claras gracias al movimiento de las copas.

La cuidadosa eliminación de los huevos alterados ejerce una influencia muy importante tanto en el tipo como en el número de bacterias existentes en el producto congelado, lo mismo que influye en estos parámetros la higiene durante todo el proceso de rotura de los huevos. Todo el equipo que contacta con los huevos con cáscara o con su contenido debe ser limpiado y desinfectado diariamente o con mayor frecuencia. Las pastas de huevo, tanto si son enteras como si constan sólo de la yema, se filtran para eliminar los fragmentos de cáscara y el material filamentosos (chalazas), se homogeneizan o se batan, se estandarizan en cuanto a su contenido de sólidos, y se congelan, generalmente por congelación rápida, en envases de hojalata con capacidad para 30 ó 50 libras*, o en otros recipientes. Las yemas congeladas por separado y conservadas bajo congelación, forman una gelatina que al descongelarla no se licúa. Este inconveniente se subsana añadiéndoles, antes de congelarlas, un 5 por cien o más de azúcar, de sal o de glicerol. Los huevos congelados se almacenan a temperaturas comprendidas entre $-17,8$ y $-20,5^{\circ}\text{C}$.

A no ser que se tomen las medidas oportunas, los huevos congelados pueden contener gran cantidad de bacterias, que pueden alcanzar cifras incluso del orden de millones por gramo. Este elevado número de bacterias puede ser debido al empleo de pastas de huevo muy contaminadas, a la contaminación de los fragmentos de cáscara y del equipo del local donde se rompen los huevos, y a que los citados microorganismos crecen en la pasta de huevo antes de congelarla. Es probable que las bacterias que alteran los huevos a temperaturas bajas, sobre todo por lo que se refiere a las del género *Pseudomonas*, sean numerosas, y también las pertenecientes a los géneros *Alcaligenes*, *Proteus* y *Flavobacterium*. En los huevos congelados, los cocos y los bacilos grampositivos y los coliformes procedentes de la cáscara del huevo se encuentran en menor cantidad y, como contaminantes accidentales, posiblemente se encuentren anaerobios y otras bacterias. A veces, se pueden encontrar salmonelas porque los huevos proceden de gallinas infectadas o porque se han contaminado con estas bacterias después de haber sido puestos por las gallinas. La congelación reduce el número de microorganismos que se encuentran en los huevos, aunque es posible que sobrevivan algunos de todas las especies existentes. Mientras los huevos permanecen almacenados en congelación, el número de microorganismos disminuye poco a poco. Si la descongelación se lleva a cabo a una temperatura excesivamente elevada, o si los huevos se tienen descongelados durante un tiempo excesivo, el número de bacterias aumentará como consecuencia de la multiplicación de las bacterias psicrótrofas predominantes. La descongelación a temperaturas superiores a los 2 a 3°C debe durar el menor tiempo posible. Algunas de las combinaciones propuestas para el tiempo y la temperatura (para descongelar los recipientes de 30 libras) son: temperaturas de 10 a 15°C durante 8 a 15 horas, o temperaturas de 2 a 3°C durante 48 a 72 horas.

* N. del T.- 30 libras = 13,8 kg; 50 libras = 23 kg.

CONSERVACION POR DESECACION

Al preparar la pasta de huevos, la clara, o la yema, para proceder a su desecación, los principios que intervienen son parecidos a los que se acaban de revisar en la preparación de estos mismos productos para congelarlos. Antes de proceder a su desecación, es preciso someter la clara de huevo a un tratamiento adicional. Con el fin de que la clara de huevo conserve su capacidad de batido, es preciso someterla a un tratamiento adicional antes de desecarla. La eliminación de la glucosa, uno de los reactivos que intervienen en el pardeamiento o reacción de Maillard, se debe llevar a cabo antes de proceder a su desecación. Se han propuesto varios procedimientos para eliminar la glucosa, entre los cuales se incluye su fermentación por estreptococos del grupo D, por *Enterobacter aerogenes*, o por *Saccharomyces cerevisiae*, y un proceso enzimático que utiliza la oxidasa de la glucosa. En el último procedimiento, la glucosa se convierte en ácido glucónico, actuando como donador de oxígeno el peróxido de hidrógeno que se añade. El procedimiento que utiliza la oxidasa de la glucosa para eliminar la glucosa a una temperatura de 10°C tiene la ventaja de dar un producto con un bajo recuento de bacterias. En los Estados Unidos, la mayoría de los huevos se desecan utilizando el desecador por atomización, en el que el huevo líquido a desecar se pulveriza finamente sobre una corriente de aire seco caliente. Otro procedimiento para desecar los huevos es el del rodillo o tambor, en el cual el huevo líquido se hace pasar sobre un tambor caliente, con o sin ayuda de vacío. La desecación al aire se lleva a cabo mediante recipientes abiertos, tal como lo utilizan los chinos, o mediante el sistema de la cinta transportadora en el que se hace pasar el huevo líquido a través de un túnel caliente (a una temperatura comprendida entre 60 y 71,1°C). Para desecar la clara, se emplea la desecación por atomización o la desecación en recipientes, asociadas al procedimiento de desecación en un túnel caliente. Antiguamente, los huevos se desecaban para obtener un producto con una humedad de aproximadamente el 5 por cien, pero la calidad, tanto de la clara como del huevo completo desecados, mejora conforme el contenido de humedad descende hacia el 1 por cien, siendo ésta la tendencia actual de los procedimientos de desecación de los ovoderivados.

El equipo de desecación más corrientemente utilizado es similar al que se utiliza en la industria láctea para desecar la leche, presentándose los mismos problemas. En ambos tratamientos un tema importante es la calidad bacteriológica del aire al cual están expuestos los correspondientes alimentos durante la desecación. El empleo de filtros absolutos para el aire y el precalentamiento de éste han influido de forma importante en la reducción del número de microorganismos en el producto final. Además, el calor aplicado durante la desecación no puede asegurar la total reducción del número de bacterias en el producto final, ni incluso cuando se aplica como técnica de pasteurización. Por consiguiente, el control o la pasteurización previa del alimento inicial es una medida de seguridad esencial. Los ovoderivados a base de huevo completo o de yema de huevo, se

pueden pasteurizar antes de desecarlos, mientras que la clara de huevo se suele someter a un tratamiento secundario después de haberla desecado. Los envases que contienen clara de huevo a granel se someten a temperaturas de 52 a 54°C durante un tiempo que oscila entre 7 y 10 días, dependiendo del porcentaje de humedad que se desee en el producto final.

Los huevos desecados pueden contener desde unos pocos cientos hasta más de 100 millones de microorganismos por gramo, según la calidad bacteriológica de los huevos que se han roto y los sistemas empleados para manipularlos. Las causas de que en los huevos desecados exista un elevado número de microorganismos son las mismas que se han expuesto al tratar de los huevos congelados. Es posible que la desecación reduzca de diez a cien veces el número de microorganismos existentes en el huevo líquido, aunque todavía permite que una gran cantidad de los mismos sobrevivan. En los huevos desecados se han encontrado diversos microorganismos, entre los cuales se incluyen micrococcos*, estreptococos (enterococos), bacterias coliformes, especies de salmonelas, bacterias esporógenas y mohos. Es probable que se encuentren cocos y bacilos grampositivos como consecuencia de la contaminación de la cáscara durante la operación de romper los huevos, o que procedan de los manipuladores o del equipo más que de huevos alterados. Las salmonelas pueden tener su origen en las gallinas infectadas; no obstante, estos microorganismos no se suelen encontrar en los huevos desecados, y de aquí que la mayoría de los compradores de este ovoderivado exijan como requisito que esté «exento de salmonelas». Cuando la clara de huevo ha sido sometida a un tratamiento previo de fermentación, el producto desecado puede contener una gran cantidad de microorganismos. Los ovoderivados convenientemente desecados tienen un contenido de humedad demasiado bajo para que puedan multiplicarse los microorganismos. De hecho, durante su almacenamiento, el número de microorganismos existentes en el huevo desecado disminuirá, al principio muy rápidamente y después poco a poco. Conforme se prolonga su almacenamiento, los microorganismos resistentes a la desecación, como por ejemplo los micrococcos*, así como las esporas de las bacterias y las de los mohos, representarán un porcentaje de supervivientes cada vez mayor. Cuanto más haya descendido la humedad del huevo desecado a partir del 5 por cien, tanto más rápida será la muerte de las bacterias.

EMPLEO DE CONSERVADORES

En los huevos, los conservadores se pueden emplear aplicándolos sobre la cáscara, incorporándolos a la atmósfera de su entorno, o aplicándolos sobre las envolturas o sobre los recipientes que se emplean para los mismos. Se ha empleado una gran cantidad de diferentes sustancias para aplicarlas sobre la superficie externa de la cáscara de los huevos con el fin de contribuir a su

conservación. Algunas de estas sustancias se emplean principalmente para mantener seca la cáscara y para reducir la penetración de oxígeno en el huevo y la salida al exterior del dióxido de carbono y de la humedad. El revestimiento de la cáscara de los huevos con una capa de cera o de aceite, o cualquier otro procedimiento para tapar los poros de la cáscara son ejemplos de ello. Unas sustancias inhiben la multiplicación de los microorganismos, mientras que otras son germicidas. Los materiales utilizados para mantener secos los huevos en las casas particulares incluyen la sal, la cal, la arena, el serrín, y la ceniza. La inmersión de los huevos en una solución de silicato sódico, se ha estado utilizando desde hace tiempo con buenos resultados como procedimiento casero para conservarlos. Debido a su basicidad, esta solución es inhibidora. Otros compuestos químicos que se han ensayado como inhibidores son los boratos, los permanganatos, los benzoatos, los salicilatos, los formiatos, y una gran cantidad de otros compuestos químicos. Ya se ha hablado anteriormente del empleo de soluciones de germicidas templadas o calientes para lavar los huevos, como son las soluciones de hipocloritos, la lejía, los ácidos, la formalina, los compuestos de amonio cuaternario, y las asociaciones de un detergente con un desinfectante. Para inhibir el crecimiento de los mohos ha dado buenos resultados la obturación de los poros de la cáscara de los huevos con una solución de dimetilolurea.

Se han llevado a cabo algunas pruebas para reducir la alteración de los huevos por mohos durante el almacenamiento tratando el fondo y el relleno de las cajas con un compuesto químico micostático o inhibidor de los mohos. Para ello se han empleado, en algunos casos con buenos resultados, el pentaclorofenato sódico y compuestos afines.

Se ha señalado que la fumigación de los huevos con óxido de etileno gaseoso antes de almacenarlos los protege frente a la alteración por bacterias.

Los únicos dos gases que se añaden a la atmósfera de las cámaras donde se almacenan los huevos con el fin de mejorar su calidad de conservación, son el dióxido de carbono y el ozono, aunque experimentalmente también se ha empleado el nitrógeno. A este respecto, son varias las concentraciones de dióxido de carbono que se recomiendan como óptimas para la atmósfera de las cámaras donde se conservan los huevos. Una concentración baja, del 2,5 por cien por ejemplo, retarda los cambios físicos y químicos que tienen lugar en el interior del huevo al aumentar el pH conforme el dióxido de carbono sale del huevo, si bien influye poco en la multiplicación de los microorganismos, sobre todo por lo que se refiere a los mohos. Las concentraciones del orden del 60 por cien retardarán notablemente la alteración debida a microorganismos, sobre todo si la temperatura de almacenamiento está próxima a la de congelación, incluso en el caso de que la humedad relativa se halle próxima a la saturación, aunque la clara disminuye de espesor y adquiere un olor desagradable. Por lo tanto, las concentraciones de dióxido de carbono recomendadas oscilan entre el 0,5 y el 0,6 por cien a -1°C y entre el 2,5 al 5 por cien a 0°C , empleándose como concentración máxima la del 15 por cien. Ha habido cierto desacuerdo acerca de la eficacia del ozono. Se ha pretendido que una concentración de ozono comprendida entre 0,6 ppm (para huevos limpios) y 1,5 ppm (para huevos sucios), a una temperatura de $-0,55^{\circ}\text{C}$ y una

atmósfera con un 90 por cien de humedad relativa, mantendrá frescos los huevos durante 8 meses, mientras que la concentración del 3,5 por cien no altera los huevos, aunque algunos autores señalan que las concentraciones comprendidas entre el 0,5 y el 1,5 ppm afectan poco a los microorganismos. Se ha señalado que las bajas concentraciones de ozono mejoran el sabor de los huevos almacenados debido al efecto desodorante de este gas.

EMPLEO DE RADIACIONES

Algunas experiencias han demostrado que los microorganismos patógenos (por ej., *Salmonella*) existentes en los huevos, tanto si se trata de huevo líquido como si son huevos congelados o desecados, pueden ser inactivados mediante radiaciones ionizantes. No obstante, también se han observado lesiones en los microorganismos debidas a dosis de radiación relativamente bajas.

ALTERACION

Mientras que algunos de los defectos de los huevos se ponen de manifiesto por su aspecto general, otros se descubren mirándolos a contraluz con luz transmitida, y otros solamente se pueden observar después de haber roto el huevo.

DEFECTOS DE LOS HUEVOS FRESCOS

Los huevos frescos pueden presentar grietas, fugas, pérdida de la frescura o lustre, manchas de distintos colores o de suciedad en su exterior, así como las denominadas «manchas de carne» (coágulos sanguíneos), un aspecto general sanguinolento, o manchas que se ven al trasluz en la yema cuando se examinan por ovoscopia. De todos estos defectos, toda grieta de la cáscara o la existencia de suciedad en la superficie externa de la misma favorecerá la alteración de los huevos durante su almacenamiento.

MODIFICACIONES DURANTE SU ALMACENAMIENTO

Las modificaciones que tienen lugar en los huevos mientras se están manteniendo conservados o almacenados se pueden dividir en modificaciones no

debidas a microorganismos y modificaciones que son consecuencia de la multiplicación de los microorganismos.

Modificaciones no debidas a microorganismos

Los huevos no tratados pierden humedad durante su almacenamiento y, por lo tanto, pierden peso. La cuantía de la retracción se pone de manifiesto al ovoscopio por el tamaño del espacio que ocupa el aire, o cámara de aire, en el polo romo del huevo, de modo que una cámara de aire de gran tamaño indica que el huevo ha experimentado una importante retracción. De la mayor importancia es la modificación del estado físico del contenido del huevo, tal como se pone de manifiesto mirando el huevo al trasluz o rompiendo el huevo y examinando su contenido. Conforme el huevo envejece, la clara de huevo pierde espesor y se vuelve más acuosa, y la membrana vitelina se debilita. Cuanto más viejo es el huevo, tanto mayor es la movilidad de la yema y tanto más se aproxima ésta a la cáscara al darle la vuelta cuando se mira al trasluz. Cuando se rompe un huevo viejo sobre un plato llano, es más visible el poco espesor de la clara, y la debilidad de la membrana vitelina permite que la yema se aplane o incluso que se rompa. Por el contrario, cuando se rompe un huevo fresco muestra una clara de notable espesor y una yema que se mantiene firmemente en forma hemisférica. Durante el almacenamiento, la basicidad de la clara de huevo aumenta desde un pH normal de aproximadamente 7,6 hasta 9,5 aproximadamente. Cualquier desarrollo observable del embrión en los huevos fertilizados también es causa de que éstos se rechacen.

Modificaciones producidas por microorganismos

Para que los microorganismos alteren un huevo cuya cáscara no presenta defectos, es preciso que se cumplan las siguientes condiciones: (1) que contaminen la cáscara, (2) que atraviesen los poros de la cáscara para llegar hasta las membranas internas (generalmente, la cáscara debe estar húmeda para que ocurra esto), (3) que se multipliquen en las membranas y las atraviesen para alcanzar la yema (o que alcancen la yema que se halla en contacto con la membrana interna de la cámara de aire), (4) que se multipliquen en la clara de huevo, a pesar de las condiciones desfavorables existentes en la misma citadas anteriormente, para llegar hasta la yema en la que se pueden multiplicar con facilidad para completar la alteración del huevo. Las bacterias incapaces de multiplicarse en la clara de huevo pueden alcanzar la yema y multiplicarse en ella solamente en el caso de que ésta contacte con la membrana interna de la cámara de aire.

El tiempo necesario para que las bacterias atraviesen las membranas de la cáscara depende del microorganismo de que se trata y de la temperatura, aunque a temperaturas de nevera pueden tardar un tiempo del orden de varias semanas.

Una determinada serie de factores ambientales, la selectividad de la clara de huevo como medio de cultivo, y el almacenamiento de los huevos a temperaturas bajas próximas a 0°C, se asocian para determinar que tanto el número como las especies de bacterias y mohos capaces de alterar los huevos sean principalmente los que a continuación se mencionarán.

En general, las bacterias causan mayor número de alteraciones de los huevos que los mohos. A los tipos de alteración de los huevos por bacterias, o «putrefacciones», se les conoce con distintas denominaciones. Alford y otros (1950), citan cinco tipos de putrefacciones que dicen haber encontrado en los huevos de Australia que se exportan. Entre los tres tipos principales de putrefacción se encuentran las **putrefacciones verdes**, producidas principalmente por *Pseudomonas fluorescens*, bacteria que se multiplica a 0°C; a esta putrefacción se le denomina así por el color verde intenso que adquiere la clara durante las primeras fases de desarrollo de esta alteración. Al principio resulta difícil descubrir esta alteración cuando se mira el huevo al trasluz, pero se descubre con facilidad si se rompe el huevo. Más tarde, es posible que la yema se desmorone y se mezcle con la clara, de forma que el color verde pasa desapercibido. En esta alteración no se percibe olor alguno, o bien el huevo desprende un olor a frutas o «dulzón». Cuando se observa a la luz ultravioleta, el contenido del huevo afectado por este tipo de putrefacción presenta una intensa fluorescencia. El segundo tipo importante de putrefacciones son las **putrefacciones incoloras**, las cuales pueden ser producidas por bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, por algunas bacterias coliformes, o por otros tipos de bacterias. Estas putrefacciones se decubren fácilmente observando los huevos al trasluz, ya que, a no ser en las fases muy precoces de la alteración, la yema suele estar afectada y se desmorona o, por lo menos, presenta una costra blanca. El olor de este tipo de putrefacciones es variable, pudiendo ser desde un olor apenas perceptible a un olor a frutas o un «olor muy desagradable». El tercer tipo importante de putrefacciones son las **putrefacciones negras**, en las que los huevos son casi totalmente opacos debido a que la yema adquiere un color negro y después se rompe para comunicar a todo el contenido del huevo un color pardo turbio. Del huevo se desprende un olor pútrido, siendo evidente la presencia de sulfuro de hidrógeno, y es posible que en el interior del huevo este gas adquiera presión. Las especies del género *Proteus* son las que más corrientemente producen estas putrefacciones, aunque algunas especies de los géneros *Pseudomonas* y *Aeromonas* pueden producir putrefacciones negras. *Proteus melanovogenes** produce una coloración especialmente negra en la yema y un color oscuro en la clara. La aparición de la putrefacción negra y de la putrefacción roja suele significar que los huevos se han mantenido durante algún tiempo a temperaturas más elevadas que las que normalmente se emplean para almacenarlos. Las **putrefacciones rosas** se suelen presentar con menor frecuencia, y las **putrefacciones rojas** son todavía menos frecuentes. Las putrefacciones rosas son producidas por cepas de *Pseudomonas*, pudiendo constituir a veces la última fase de las putrefacciones verdes. Se parecen a las putrefacciones incoloras, aunque se diferencian de ellas en que en la yema existe un precipi-

tado de color rosáceo y una coloración rosa en la clara. Las **putrefacciones rojas**, producidas por especies de *Serratia*, desprenden un olor débil no desagradable.

Florian y Trussell (1957), han descrito las putrefacciones producidas por diez especies bacterianas diferentes pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Proteus*, *Flavobacterium*, y *Paracolobactrum**. Estas putrefacciones han sido caracterizadas como fluorescentes, verdes y amarillas, de color crema, negras, rojas, de color rojo amarillento, incoloras y mixtas. Estos autores también registran la existencia de bacterias invasoras secundarias pertenecientes a los géneros *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, y *Paracolobactrum*. Estas bacterias son capaces de multiplicarse en el interior del huevo, pero son incapaces de iniciar la penetración.

Las alteraciones de los huevos por hongos son debidas a las distintas fases de crecimiento de mohos que otorgan a los defectos sus respectivas denominaciones. Al crecimiento muy precoz de mohos se le denomina **enmohecimiento con manchas puntiformes** debido a la aparición de pequeñas y densas colonias de mohos sobre la cáscara y por lo general inmediatamente por dentro de la misma. El color de estas manchas puntiformes depende de la especie de moho a la que pertenecen las colonias; las especies de *Penicillium* producen manchas amarillas, azules, o verdes en el interior de la cáscara, las especies de *Cladosporium* dan lugar a manchas de color verde oscuro o negro, y las especies de *Sporotrichum* producen manchas de color rosa. En las atmósferas de elevada humedad en las que se almacenan los huevos, diversos mohos pueden producir la **alteración fúngica superficial**, primeramente como una pelusa o «barbas» que cubren la cáscara y más tarde como un crecimiento exuberante. Cuando los huevos se conservan a temperaturas próximas a la de congelación, cosa que habitualmente se suele hacer, las temperaturas son lo suficientemente elevadas como para retardar el crecimiento del micelio de algunos mohos, aunque son excesivamente bajas para que esporulen, mientras que es posible que otros mohos produzcan esporas asexuales. Los mohos que alteran los huevos comprenden especies pertenecientes a los géneros *Penicillium*, *Cladosporium*, *Sporotrichum*, *Mucor*, *Thamnidium*, *Botrytis*, *Alternaria*, y a otros géneros. La fase final de la alteración por mohos es la **putrefacción fúngica**, que tiene lugar una vez que el micelio del moho ha crecido en el interior del huevo después de atravesar los poros o grietas de la cáscara. Es posible que la clara del huevo se gelifique y aparezcan en la misma putrefacciones de distintos colores, por ejemplo la putrefacción roja producida por hongos del género *Sporotrichum* y un color negro producido por especies de *Cladosporium*, agente productor de las manchas negras en los huevos y en otros alimentos. Es posible que las hifas del moho debiliten la membrana vitelina lo suficiente como para que se rompa, después de lo cual el crecimiento del moho es estimulado sobre todo por los nutrientes liberados a partir de la yema.

A veces, en los huevos que exteriormente no presentan signos de alteración, se desarrollan sabores desagradables. El husmo de los huevos puede ser producido por una gran cantidad de bacterias, como, por ejemplo, por *Achromobacter*

*perolens**, por *Pseudomonas graveolens** y por *P. mucidolens*. El crecimiento de especies del género *Streptomyces* en la paja o en cualquier otro lugar próximo a la yema puede producir sabores a enmohecido o a tierra que son absorbidos por el huevo. Los mohos que crecen en la superficie interna de la cáscara también comunican a los huevos olores y sabores a enmohecido. El olor a heno es producido por *Enterobacter cloacae*, mientras que los sabores a pescado son producidos por ciertas cepas de *Escherichia coli*. El sabor a «agua de coles» mencionado en relación con la putrefacción negra de tipo II de Haines,* puede aparecer antes de que la putrefacción sea manifiesta. Los sabores extraños, como por ejemplo el «sabor a frigorífico», es posible que sean absorbidos por los materiales que se emplean para envasar los huevos.

BIBLIOGRAFIA

- Alford, L. R., N. E. Holmes, W. J. Scott, and J. R. Vickery. 1950. Studies in the preservation of shell eggs. I. The nature of wastage in Australian export eggs. *Aust. J. Appl. Sci.* 1:208-214.
- Board, P. A., and R. G. Board. 1968. A diagnostic key for identifying organisms recovered from rotten eggs. *Br. Poult. Sci.* 9:111-120.
- Board, R. G. 1965. The properties of and classification of the predominant bacteria occurring in rotten eggs. *J. Appl. Bacteriol.* 28:437-453.
- Board, R. G. 1969. The microbiology of the hen's egg. *Adv. Appl. Microbiol.* 11:245-281.
- Board, R. G., and J. C. Ayres. 1965. Influence of temperature on bacterial infection of the hen's egg. *Appl. Microbiol.* 13:358-364.
- Board, R. G., J. C. Ayres, A. A. Kraft, and R. H. Forsythe. 1964. The microbiological contamination of egg shells and egg packing materials. *Poult. Sci.* 43:584-595.
- Board, R. G., and R. Fuller. 1974. Non-specific antimicrobial defenses of the avian egg, embryo and neonate. *Biol. Rev.* 49:15-49.
- Brooks, J. 1960. Mechanism of the multiplication of *Pseudomonas* in the hen's egg. *J. Appl. Bacteriol.* 23:499-509.
- Florian, M. L. E., and P. C. Trussell. 1957. Bacterial spoilage of shell eggs. IV. Identification of spoilage organisms. *Food Technol.* 11:56-60.

* N. del T.- En la presente edición de esta obra, los autores han omitido la clasificación de Haines relativa a los tipos de alteraciones de los huevos debidas a bacterias, que sí citan en la anterior (3ª) edición y que, de forma resumida, son los siguientes:

- Tipo I: Causada por especies de *Proteus*, como por ejemplo por *Proteus melanovogenes**, que producen gas; la yema aparece de color negro y con consistencia dura, y la clara es líquida, pudiendo ser de color oscuro o pardo-verdoso. En esta alteración se desprende un olor fecal.

- Tipo II: Causada fundamentalmente por especies de *Pseudomonas*. La clara del huevo es líquida y de color verde fluorescente o pardo verdoso; la yema es una masa blanda de color negro verdoso. En este tipo de alteración el huevo huele a «agua de coles».

La clasificación de Haines no menciona las alteraciones incoloras.

- Forsythe, R. H. 1970. Egg processing technology: progress and sanitation programs. *J. Milk Food Technol.* 33:64-73.
- Fromm, D. 1960. Permeability of the egg shell as influenced by washing, ambient temperature changes and environmental temperature and humidity. *Poult. Sci.* 39: 1490-1495.
- Garibaldi, J. A. 1960. Factors in egg white which control growth of bacteria. *Food Res.* 25:337-344.
- Garibaldi, J. A., and H. G. Bayne. 1962. Iron and the bacterial spoilage of shell eggs. *J. Food Sci.* 27:57-59.
- Haines, R. B. 1939. Microbiology in the preservation of the hen's egg. G.B. Dep. Sci. Ind. Res. Food Invest. Spec. Rep. 47.
- Hartung, T. E., and W. J. Stadelman. 1962. Influence of metallic cations on the penetration of the egg shell membranes of *Pseudomonas fluorescens*. *Poult. Sci.* 41: 1590-1596.
- Hartung, T. E., and W. J. Stadelman. 1963. Penetration of egg shell membranes by *Pseudomonas fluorescens* as influenced by shell porosity, age of egg and degree of bacterial challenge. *Poult. Sci.* 42:147-150.
- Heath, J. L., and J. Wallace. 1978. Dilute acid immersion as a method of cleaning shell eggs. *Poult. Sci.* 57:149-155.
- Kraft, A. A., E. H. McNally, and A. W. Brant. 1958. Shell quality and bacterial infection of shell eggs. *Poult. Sci.* 37:638-644.
- Lifshitz, A., R. C. Baker, and H. B. Naylor. 1964. The relative importance of chicken egg exterior structures in resisting bacterial penetration. *J. Food Sci.* 29:94-99.
- Miller, W. A. 1957. A comparison of various wash-water additives in preventing microbial deterioration in washed eggs that formerly were dirty. *Poult. Sci.* 36:579-584.
- Murdock, C. R., E. L. Crossley, J. Robb, M. E. Smith, and B. C. Hobbs. 1960. The pasteurization of liquid whole egg. *Month. Bull. Med. Res. Coun.* 19:134-152.
- Northolt, M. D., N. Wiegersman, and M. Van Schothorst. 1978. Pasteurization of dried egg white by high temperature storage. *J. Food Technol.* 13:25-30.
- Salton, M. R. J., W. J. Scott, and J. R. Vickery. 1951. Studies in the preservation of shell eggs. VI. The effect of pasteurization on bacterial rotting. *Aust. J. Appl. Sci.* 2:205-222.
- Thatcher, F. S., and J. Montford. 1962. Egg-products as a source of salmonellae in processed foods. *Can. J. Public Health* 53:61-69.



Contaminación, conservación y alteración de las aves

Si bien el estudio de las aves se refiere principalmente a la carne de pollo, los principios que se citan en esta revisión se pueden aplicar a la carne de las demás aves de corral, como por ejemplo a la de los pavos, a la de los gansos, a la de los patos, y a la de los pichones.

CONTAMINACION

Las fuentes de contaminación estudiadas en las carnes son también de aplicación en las aves de corral. La piel de las aves vivas puede contener una población media del orden de 1.500 bacterias por centímetro cuadrado. Estas cifras probablemente correspondan a la flora propia de la piel más otros microorganismos que podrían proceder de las patas, de las plumas y de las heces de las aves. Durante las operaciones de lavado, desplumado y evisceración tiene lugar la contaminación de la piel y del revestimiento interno de la cavidad abdominal. En la Tabla 17.1 se indican los recuentos de microorganismos obtenidos durante las distintas fases de su tratamiento. Si se compara la Tabla 17.1 con la Tabla 17.2 se puede comprobar que la carga microbiana del producto final que figura en las mismas no difiere mucho. No cabe duda que desde el año 1956 han cambiado las técnicas que se emplean para preparar las canales de las aves. Los pollos se suelen procesar con una cinta transportadora o sirga de tracción totalmente automatizada con evisceración mediante vacío.

Tabla 17.1. Número de microorganismos aislados en las aves y en las aguas utilizadas durante la preparación de la canal.

<i>Punto donde se toma la muestra</i>	<i>Oscilación habitual ($\times 10^3$)*</i>
Piel del ave viva	0,6–8,1
Agua de escaldado (58,3–60°C)	5,9–17
Agua dulce de refrigeración	50–210
Agua de refrigeración aireada	34–240
Piel, después del desplumado grosero	8,1–45
Después del desplumado del cuello	3,3–32
Después de quitar los cañones	10–84
Después del chamuscado	13–210
Después de la evisceración	11–93
Cavidad corporal después de la evisceración	1,4–12
En el tanque de refrigeración	50–600
Después del oreo	3,4–240
Producto final	4–330

* Los recuentos en las aguas se expresan en número de microorganismos por mililitro, mientras que cuando se refieren a superficies se expresan en número de los mismos por centímetro cuadrado.

Fuente: Walker y Ayres (1956).

Tabla 17.2. Medias geométricas (\log_{10}) de los recuentos en placa de microorganismos aerobios por gramo de piel del cuello de las aves en las diferentes fases de preparación de la canal*.

<i>Fase</i>	<i>Planta n° 1 #</i>	<i>Planta n° 2 §</i>
Después del desplumado	5,24	4,60
Después de la evisceración	5,42	4,92
Después del lavado por rociado	5,15	4,64
Después del enfriado por inmersión	4,51	–
Después del enfriado con aire	–	4,54
Después del envasado	4,72	4,52

* El informe original resume los datos de varias plantas industriales; en la Tabla sólo se transcriben los datos correspondientes a dos de ellas para que sirvan de aclaración al texto.

Esta planta estaba utilizando un refrigerador de contracorriente por inmersión.

§ Esta planta estaba utilizando un túnel de refrigeración por aire.

Fuente: Comisión de las Comunidades Europeas (1976).

En la superficie de las canales de pollo el número de bacterias es muy variable. No obstante, si se compara el número de bacterias existentes en una determinada ave con la cantidad de las que se encuentran en otra, la diferencia es mayor que si se comparan entre sí el número de las existentes en cada una de las regiones de una misma ave. El tipo de microorganismos que se aíslan depende del lugar donde se toman las muestras y de la fase del tratamiento. Los aislamientos procedentes de las canales de aves y productos derivados incluyen representantes de

Tabla 17.3. Perfil microbiológico de las aves.

Producto	Microorganismos aislados	Oscilación cuantitativa aproximada
Aves al entrar	Bacterias: <i>Acinetobacter, Corynebacterium, Moraxella, Pseudomonas, Flavobacterium, Staphylococcus, y Micrococcus</i>	$10^2-10^3/\text{cm}^2$
Una vez faenadas	Bacterias: <i>Pseudomonas, Acinetobacter, Flavobacterium, Cytophaga, Enterobacter, Alcaligenes, Salmonella, Campylobacter, y muchos más</i> Levaduras: <i>Trichosporon, Torulopsis, Candida, y Rhodotorula</i> Mohos: <i>Penicillium, Alternaria, Aspergillus y otros</i>	$10^2-10^5/\text{cm}^2$

un gran número de géneros (Tabla 17.3). Los menudillos (mollejas, corazones e hígados) se tratan por separado, y de aquí que es posible que tanto el tipo como el número de microorganismos existentes en cada uno de ellos sean diferentes de los correspondientes a la canal.

Se ha prestado gran atención tanto a la frecuencia con que se aíslan salmonelas en la superficie de las canales de aves como al papel que desempeñan los tratamientos a que se someten las mismas en la transmisión de los citados microorganismos. Se ha señalado que la incidencia de aves positivas a las salmonelas oscila entre el 0 y el 50 por cien. También existe una elevada incidencia de *Campylobacter jejuni* tanto en los mataderos donde se preparan las canales de ave como en las propias canales.

CONSERVACION

La mayoría de los fundamentos de conservación de las carnes estudiados en el Capítulo 13 también son de aplicación en las aves de corral, aunque el desplumado y preparación de sus canales originan problemas distintos. Lo mismo que sucede cuando se sacrifican los mamíferos para obtener su carne, el procedimiento empleado para sacrificar y sangrar las aves influye considerablemente en la calidad de las canales. Los procedimientos modernos de sacrificio suponen la sección de la vena yugular mientras el ave se halla suspendida de sus patas para efectuar la sangría.

Si la tráquea se deja intacta, se dice que se trata de un corte externo; el corte autorizado por la ley judía secciona la tráquea. Cuando las aves se escaldan, es

posible que den boqueadas, pasando por aspiración a los sacos aéreos el agua que se emplea para escaldarlas. Parece ser que el corte autorizado por la ley judía reduce al mínimo la inhalación del agua de escaldado, ya que el extremo cortado de la tráquea se retrae por debajo de la piel. El procedimiento de arrancar las plumas o desplumado tiene cierta influencia sobre la calidad de conservación de las canales de ave. Las canales de las aves desplumadas en seco son más resistentes a la descomposición que las de las aves que se han desplumado semiescaldándolas o escaldándolas, ya que es menos probable que la piel se rompa, aunque en la misma queda una mayor cantidad de plumón. La mayoría de las aves se despluman por el procedimiento de semiescaldado en el cual las aves se sumergen en agua con una temperatura de aproximadamente 55 °C durante 2 minutos. Mediante experiencias se ha demostrado que en el procedimiento de semiescaldado el agua no es una fuente importante de microorganismos contaminantes si se toman las precauciones precisas para cambiarla. Si bien el número total de bacterias podría aumentar en el agua de escaldado durante el tratamiento, la contaminación de las canales se reduce al mínimo gracias (1) a la temperatura del agua de escaldado, (2) al bajo recuento inicial de microorganismos en la superficie externa de las canales de algunas aves, y (3) al efecto de dilución del agua limpia que se añade al tanque de escaldado (Brune y Cunningham, 1971). El Ministerio de Agricultura de los Estados Unidos exige que se emplee como mínimo 1 cuarto de galón* de agua de escaldado por ave y minuto.

El escaldado de las aves con vapor es más eficaz que el agua caliente para reducir en las canales el número de bacterias, incluso el número de coliformes y salmonelas.

ASEPSIA

En realidad, poco se puede hacer para evitar que las canales de las aves, una vez preparadas, se contaminen con microorganismos. El saneamiento de los alojamientos de las aves antes de sacrificarlas ejerce cierta influencia en el número de microorganismos existentes en la piel en el momento de preparar la canal, aunque incluso en las mejores condiciones existen los suficientes microorganismos contaminantes de la piel que hacen posible la alteración microbiana si las condiciones de manipulación y almacenamiento no son apropiadas.

Se puede evitar la contaminación del revestimiento de la cavidad corporal del ave si ésta no se eviscera hasta tanto no se vende en un puesto de venta al por menor, aunque en las vísceras pueden aparecer manchas, a no ser que las canales se refrigieren convenientemente. Los ganchos que se emplean para mantener suspendidas las aves de las patas o de la cabeza pueden constituir una importante

*N. del T.: 1 cuarto (1 qt) de galón equivale a un volumen líquido de 0,94625 l.

fuelle de contaminación. La contaminación se puede reducir si se lava y desinfecta el equipo periódicamente.

EMPLEO DEL CALOR

Las canales de pollo y las de otras aves, se pueden enlatar, enteras o troceadas, en su propio jugo o en gelatina. Los tratamientos térmicos a que se someten las conservas de aves enlatadas son análogos a los que se emplean en las carnes enlatadas (Capítulo 14). Tanto el pollo como las demás aves se pueden conservar mediante salazón introduciéndolas en una salmuera débil antes de envasarlas en frascos de vidrio o en latas.

EMPLEO DE TEMPERATURAS BAJAS

La mayoría de las canales de las aves de corral se conservan refrigerándolas o congelándolas. En ambos procedimientos de conservación es de suma importancia la refrigeración rápida inmediatamente después de que las aves han sido evisceradas (si es que se lleva a cabo esta operación). Para ello, en el comercio se emplean varios sistemas que consisten en sumergir las aves en agua fría, en agua de fusión de hielo, o en hielo triturado. Las distintas modalidades de estos sistemas incluyen el refrigerador por contracorriente de tipo tanque, el refrigerador por contracorriente de tipo tambor, y el refrigerador oscilante de tipo tanque, todos los cuales emplean una mezcla de agua y hielo en agitación, y chorros de aire o de CO₂ a baja temperatura, o aerosoles de refrigerante o de CO₂ sólido. Los tanques de refrigeración pueden actuar como fuente de contaminación si no se controlan convenientemente. El sistema de refrigeración por contracorriente sería más apropiado para evitar el aumento del número de microorganismos, ya que el agua potable refrigerante que se añade al refrigerador fluiría en sentido contrario al del desplazamiento de las canales. Con el fin de reducir el número de microorganismos, se puede añadir cloro al agua del tanque de refrigeración. No obstante, la influencia del cloro sobre la vida útil de las canales es discutible.

La refrigeración mediante chorros de aire frío proporcionaría canales relativamente secas si se comparan con las procedentes de los tanques de refrigeración. Es posible que la humedad que se añade a las canales no sólo aporte microorganismos, sino que también favorezca su multiplicación.

Refrigeración

Las canales de las aves de corral se mantienen refrigeradas sólo durante un tiempo corto, generalmente durante menos de un mes; aquellas aves cuyo

almacenamiento debe durar más, se deben congelar. Se ha empleado el embalaje en hielo de las canales de ave limpias durante períodos de almacenamiento cortos y en aquellos casos en los que no se dispone de refrigeración mecánica. Cuanto menor es la temperatura a la cual se mantienen almacenadas, tanto más tiempo se pueden mantener conservadas las canales sin que experimenten cambios indeseables. En experiencias realizadas con pollos troceados, Ayres (1959) comprobó que, con relación al almacenamiento a la temperatura ambiente, su vida de almacenamiento se prolongaba 2 días si se mantenían a 10°C, 6 días si se mantenían a 4,4°C, y 14 días si se conservaban a 0°C.

Congelación

Las canales de las aves de corral se pueden conservar en buenas condiciones durante meses si se congelan, por el procedimiento de congelación rápida inmediatamente después de preparadas, y si la temperatura de almacenamiento es lo suficientemente baja. Es conveniente una congelación medianamente rápida ya que con ella se obtienen unas canales de aspecto claro debido a que los cristales de hielo son pequeños y se forman en el interior de las fibras musculares. La congelación lenta, en cambio, hace que los cristales sean de mayor tamaño y se acumulen fuera de las fibras musculares, dando a las canales un aspecto más oscuro. En una canal de ave que se congela por el procedimiento rápido mientras es fresca, los cristales de hielo que se formen al congelarla serán de menor tamaño que los de una canal que se congele transcurrido algún tiempo. La mayoría de los pollos congelados existentes en el comercio se envasan en cajas que contienen diez unidades que se recubren con un papel impermeable al agua y al aire, y la mayoría se acondicionan, aunque no se evisceran.

Las canales de ave se deben congelar con la rapidez suficiente con el fin de que conserven la mayor parte de la frescura natural o aspecto externo de una canal recién preparada. Para evitar la desecación de la superficie de la canal, la temperatura de almacenamiento debe ser inferior a -17,8 °C y la humedad relativa superior al 95 por cien. La mayoría de las canales de ave se congelan por el procedimiento de congelación rápida a una temperatura de aproximadamente -29 °C o a temperaturas más bajas en un túnel de congelación por el que circulan corrientes de aire a baja temperatura, o colocando las canales sobre una cinta transportadora que las desplaza a lo largo de su recorrido por el túnel de congelación. Para llevar a cabo la congelación rápida de las canales, se requiere un envasado de menor volumen, normalmente una canal de ave entera, una canal troceada, o una canal deshuesada, que se envasan envolviéndolas en un papel especial impermeable al agua y semiimpermeable al aire. De hecho, un pollo de gran tamaño no se congelaría con la rapidez suficiente como para que se ajustase a la definición de congelación rápida dada en el Capítulo 7.

A pesar de que la congelación destruye algunas bacterias y de que su número disminuye poco a poco durante el almacenamiento, en las canales de ave queda

un número suficiente de las mismas capaces de alterarlas cuando se descongelan. Las bacterias se pueden multiplicar durante las operaciones de desplumado, eviscerado, preparación de la canal, durante la refrigeración, y también durante la congelación hasta que la temperatura desciende por debajo de 0 °C. La alteración que ha causado la multiplicación de las bacterias, la difusión de las manchas de las vísceras, y la actividad de los enzimas existentes en el ave antes de su congelación, continuarán en la canal congelada. Si bien se ha detenido la multiplicación de las bacterias, en la canal seguirá habiendo cierto grado de actividad enzimática, a no ser que la temperatura de almacenamiento sea muy baja.

A no ser que se adopten las medidas higiénicas adecuadas, al deshuesar las aves, una vez cocinadas para posteriormente enlatarlas o congelarlas, en ellas tendrá lugar un notable aumento del número de bacterias. En las aves deshuesadas se han encontrado un gran número de bacterias que crecen a temperaturas bajas de los géneros *Proteus* y *Alcaligenes*, y también bacterias coliformes. Si bien el enlatado las destruirá, la congelación rápida permite que muchas sobrevivan.

EMPLEO DE CONSERVADORES

La administración de antibióticos a las aves incorporándolos al pienso puede dar lugar a un aumento de microorganismos resistentes en las heces y, por lo tanto, en las aves, si bien es posible que en la carne se deposite una escasa cantidad de antibiótico. Las bajas concentraciones de antibiótico en la carne de las aves tratadas son destruidas en su mayor parte por la cocción.

Se ha señalado que la inmersión de las aves troceadas en soluciones de ácidos orgánicos (acético, adípico, succínico, etc.) a pH 2,5, también prolonga su tiempo de conservación.

Las canales de pavo a veces se curan introduciéndolas en una solución que contiene sal, azúcar y nitrato sódico a una temperatura en torno a 3,3°C, manteniéndolas sumergidas en la misma durante varias semanas. Normalmente se suelen ahumar ligeramente, más para darles sabor que para conseguir que se conserven. Las temperaturas que se recomiendan emplear durante el ahumado oscilan entre 43,3 y 60 °C, y este tratamiento puede durar desde unas horas a varios días.

ATMOSFERA DE DIOXIDO DE CARBONO

El aumento de la concentración de dióxido de carbono (hasta alcanzar un porcentaje comprendido entre el 10 y el 20 por cien) en la atmósfera del frigorífico

donde se almacenan los pollos, inhibe la multiplicación de los microorganismos psicrótrofos. La nieve carbónica que se emplea en el embalaje de las canales puede actuar como fuente de dióxido de carbono. El empleo de películas para recubrir las canales de los pollos, tanto de elevada como de escasa permeabilidad a los gases, unido al empleo de una atmósfera de dióxido de carbono, pone de manifiesto que la atmósfera de dióxido de carbono es el principal factor al cual se debe que disminuyan en las mismas los recuentos de microorganismos.

EMPLEO DE RADIACIONES

La irradiación de las canales de las aves de corral con rayos catódicos o con rayos gamma podría ser un buen procedimiento para conservarlas, ya que parece ser que, en comparación con lo que sucede en algunos otros alimentos, las radiaciones ocasionan menor cantidad de modificaciones perjudiciales en su aspecto y en su sabor, pero hasta ahora este procedimiento de conservación no se ha empleado a escala comercial. Las dosis de radiaciones comprendidas entre 1 y 10 kilograys reducirían la flora microbiana y prolongarían la conservación de las canales almacenadas bajo refrigeración. Para destruir con seguridad las salmonelas, las canales de pollo han sido tratadas con dosis de radiaciones de 2,5 kilograys (Mulder y otros, 1977).

ALTERACION

Si bien los enzimas propios de las aves contribuyen a que se alteren sus canales, la principal causa a la que se debe su alteración son las bacterias, siendo el tubo intestinal el principal origen de estos microorganismos. Las investigaciones llevadas a cabo acerca de la alteración de las canales de las aves de corral por bacterias, han demostrado que la mayor parte de la multiplicación de las bacterias tiene lugar en las superficie de las mismas, es decir, en la piel, en el revestimiento de la cavidad corporal, y en todas las superficies de corte, desde cuyos lugares los productos de la descomposición llevada a cabo por las bacterias difunden lentamente para pasar a la carne. Cuando el recuento de bacterias en la piel era de aproximadamente 2,5 millones por centímetro cuadrado, se percibía un olor superficial. En una serie de experiencias, a una temperatura de 0°C, este olor duró aproximadamente 4 semanas, mientras que a 1,1°C duró 5 semanas. Las aves evisceradas que se mantienen a la temperatura de 10°C o a temperaturas inferiores son alteradas principalmente por bacterias del género *Pseudomonas* y en menor grado por levaduras, como por ejemplo por las pertenecientes a los géneros

Tabla 17.4. Principales bacterias que intervienen en la alteración de las canales de ave refrigeradas.

<i>Producto</i>	<i>Bacterias</i>	<i>Referencia</i>
Canales evisceradas	<i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>P. putida</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Moraxella</i>	
Carne oscura, pH 6,4–6,7	<i>Acinetobacter</i> , <i>Alteromonas</i> , <i>Pseudomonas</i>	Barnes e Impey (1968)
Carne blanca, pH 5-7–5,9	<i>Pseudomonas</i> y otras	Barnes e Impey (1968)
Pollo envuelto con película impermeable al oxígeno	Bacterias microaerófilas, bacterias lácticas, y otras	
Pollo envasado al vacío	<i>Enterobacter</i> y otras	Arafa y Chen (1975)

Torulopsis y *Rhodotorula*. A temperaturas superiores a 10°C suelen predominar los micrococcos*, y también crecen bacterias pertenecientes a los géneros *Alcaligenes* y *Flavobacterium*. Transcurrido cierto tiempo, la superficie de la carne se vuelve viscosa. Es posible que las bajas concentraciones de hierro (de 1 a 5 ppm) en el agua de lavado favorezcan la multiplicación de las bacterias en la superficie de las canales y la elaboración por parte de las pseudomonas del pigmento fluorescente piovérdina; si la concentración de este ion es más elevada, la cantidad de pigmento elaborado será menor. La concentración de aproximadamente 100 ppm de magnesio es óptima para que *P. fluorescens* elabore el citado pigmento.

En las canales de ave troceadas y conservadas en hielo suele aparecer una mucosidad que va acompañada de un olor que se ha definido como olor «a husmo», «ácido», «agrio», o «a corrompido». Esta alteración la producen principalmente especies del género *Pseudomonas*, aunque en su producción también pueden intervenir especies del género *Alcaligenes*. Bacterias parecidas a las citadas se multiplican tanto si la temperatura es del orden de 0°C como si es de unos 10°C, y para que aparezca este olor el número de bacterias debe ser extraordinariamente elevado, siendo preciso que existan aproximadamente 10⁸ por centímetro cuadrado. En la Tabla 17.4 se resumen las principales especies implicadas en la producción de alteraciones.

Se debe tener en cuenta que mientras la carne de ave permanece almacenada bajo refrigeración, en la misma tienen lugar reacciones químicas, que nada tienen que ver con la actividad de los microorganismos, que, con el tiempo, determinarán que su calidad disminuya.

D
O
P
1
0**BIBLIOGRAFIA**

- Arafa, A. S., and T. C. Chen. 1975. Effect of vacuum packaging on microorganisms, on cut-up chickens and in chicken products. *J. Food Sci.* 40:50-52.
- Ayres, J. C. 1959. Effect of sanitation, packaging and antibiotics on the microbial spoilage of commercially processed poultry. *Iowa State J. Sci.* 54:27-46.
- Ayres, J. C., W. S. Ogilvy, and G. F. Stewart. 1950. Post mortem changes in stored meats. I. Microorganisms associated with development of slime on eviscerated cut-up poultry. *Food Technol.* 4:199-205.
- Barnes, E. M., and C. S. Impey. 1968. Psychrophilic spoilage of poultry. *J. Appl. Bacteriol.* 31:97-107.
- Brune, H. E., and F. E. Cunningham. 1971. A review of microbiological aspects of poultry processing. *World's Poult. Sci. J.* 27:(3)223-240.
- Bryan, F. L. 1980. Poultry and poultry meat products. In J. H. Silliker, et al. (eds.), *Microbial ecology of foods. Volume II. Factors affecting life and death of microorganisms.* Academic Press, Inc., New York.
- Clark, D. S., and C. P. Lentz. 1969. Microbiological studies in poultry processing plants in Canada. *Can. Inst. Food Tech. J.* 2:33-38.
- Coleby, B., M. Ingram, and H. J. Shepherd. 1960. Treatment of meats with ionizing radiation. III. Radiation pasteurization of whole eviscerated chicken carcasses. *J. Sci. Food Agr.* 11:61-71.
- Commission of European Communities. 1976. Evaluation of hygienic problems related to the chilling of poultry carcasses. *Information on Agric. No. 22.* EEC, Brussels.
- Eklund, M. W., J. V. Spencer, E. A. Sauter, and M. H. George. 1961. The effect of different methods of chlortetracycline application on the shelf-life of chicken fryers. *Poult. Sci.* 40:924-928.
- Elliot, R. P., R. P. Straka, and J. A. Garibaldi. 1964. Polyphosphate inhibition of growth of pseudomonads from poultry meat. *Appl. Microbiol.* 12:517-522.
- Essary, E. O., W. E. C. Moore, and C. Y. Kramer. 1958. Influence of scald temperatures, chill time, and holding temperatures on the bacterial flora and shelf-life of freshly chilled, tray-pack poultry. *Food Technol.* 12:684-687.
- Gunderson, M. F., H. W. McFadden, and T. S. Kyle. 1954. *The bacteriology of commercial poultry processing.* Burgess Publishing Company, Minneapolis, Minn.
- Hamdy, M. K., N. D. Barton, and W. E. Brown. 1964. Source and portal of entry of bacteria found in bruised poultry tissue. *Appl. Microbiol.* 12:464-469.
- Kotula, A. W., and J. A. Kinner. 1964. Airborne microorganisms in broiler processing plants. *Appl. Microbiol.* 12:179-184.
- Kraft, A. A., and J. C. Ayres. 1965. Development of microorganisms and fluorescence of poultry chilled in water containing iron or magnesium. *J. Food Sci.* 30:154-159.
- Lillard, H. S. 1985. Bacterial cell characteristics and conditions influencing their adhesion to poultry skin. *J. Food Prot.* 48:803-807.
- May, K. N. 1962. Bacterial contamination during cutting and packaging chicken in processing plants and retail stores. *Food Technol.* 16:89-91

- Mulder, R. W. A., S. Notermans, and E. H. Kampelmacher. 1977. Inactivation of salmonellae on chilled and deep frozen broiler carcasses by irradiation. *J. Appl. Bacteriol.* 42:179-185.
- Nagel, C. W., K. L. Simpson, H. Ng, R. H. Vaughn, and G. F. Stewart. 1960. Microorganisms associated with spoilage of refrigerated poultry. *Food Technol.* 14:21-23.
- Oosterom, J., S. Motermans, H. Karman, and G. B. Engels. 1983. Origin and prevalence of *Campylobacter jejuni* in poultry processing. *J. Food Prot.* 46:339-344.
- Stevenson, J. R., and S. A. Edgar. 1968. Shelf life and microflora of broiler carcasses and parts. *Poult. Sci.* 47:1722-1729.
- Surkiewicz, B. F., R. W. Johnston, A. B. Moran, and G. W. Krumm. 1969. A bacteriological survey of chicken eviscerating plants. *Food Technol.* 23:1066-1070.
- Thomson, J. E. 1970. Microbial counts and rancidity of fresh fryer chickens as affected by packaging materials, storage atmosphere, and temperature. *Poult. Sci.* 49:1104-1109.
- Thomson, J. E., and A. W. Kotula. 1959. Contamination of the air sac areas of chicken carcasses and its relationship to scalding and method of killing. *Poult. Sci.* 38:1433-1437.
- Wabeck, C. J., C. E. Parmelee, and W. J. Stadelman. 1968. Carbon dioxide preservation of fresh poultry. *Poult. Sci.* 47:468-474.
- Walker, H. W., and J. C. Ayres. 1958. Antibiotic residuals and microbial resistance in poultry treated with tetracyclines. *Food Res.* 23:525-531.
- Walker, H. W., and J. C. Ayres. 1958. Incidence and kinds of microorganisms associated with commercially dressed poultry. *Appl. Microbiol.* 4:345-349.
- Walker, H. W., and J. C. Ayres. 1959. Characteristics of yeasts isolated from processed poultry and the influence of tetracyclines on their growth. *Appl. Microbiol.* 7:251-255.
- Wetzler, T. F., P. Musick, H. Johnson, and W. A. Mackenzie. 1962. The cleaning and sanitizing of poultry processing plants. *Am. J. Public Health* 52:460-471.
- Wilkerson, W. B., J. C. Ayres, and A. A. Kraft. 1961. Occurrence of enterococci and coliform organisms on fresh and stored poultry. *Food Technol.* 15:286-292.

Contaminación, conservación y alteración de la leche y productos lácteos

Los productos lácteos incluyen la leche comercial y la nata, la mantequilla, los postres congelados, el queso, las leches fermentadas, y los productos lácteos condensados y desecados.

CONTAMINACION

EN LA GRANJA

Cuando la leche sale de la ubre de una vaca sana contiene relativamente pocas bacterias y, generalmente, estas bacterias no se multiplican en la leche que se manipula bajo condiciones normales. No obstante, en leche ordeñada asépticamente, se han aislado micrococos y estreptococos. Sin embargo, durante la operación normal del ordeño la leche está expuesta a la contaminación por microorganismos del propio animal, sobre todo por los existentes en la parte externa de la ubre y zonas próximas a la misma. Bacterias encontradas en el estiércol, en el suelo y en el agua, pueden llegar a la leche a partir de esta fuente de contaminación. Esta contaminación se reduce esquilando la vaca, sobre todo los flancos y la ubre, limpiando su pelo con la almohaza, y lavando la ubre con agua o con una solución germicida antes de proceder a su ordeño. La contaminación de la vaca con

microorganismos del suelo, del agua y del estiércol se reduce pavimentando y drenando los establos, manteniendo las vacas alejadas de aguas estancadas, y retirando el estiércol de los establos y salas de ordeño.

Probablemente, las dos fuentes de contaminación más importantes sean los utensilios que se emplean en el ordeño y las superficies que contactan con la leche, entre los que se incluyen los cubos o las máquinas de ordeño, según sea la forma de ordeño, los coladores, los recipientes en los que se recoge la leche o las tuberías por las que circula, y el refrigerador de la leche. Si los utensilios que se emplean para la leche o las superficies que contactan con la misma no se limpian, desinfectan, y secan convenientemente, es posible que las bacterias se multipliquen abundantemente en los restos de leche y después contaminen la leche que entra en contacto con las citadas superficies. Entre las bacterias indeseables que tienen las procedencias mencionadas se incluyen los estreptococos lácticos, las bacterias coliformes, los bacilos psicrótrofos gramnegativos, y las bacterias **termodúricas**, es decir aquellas que resisten la pasteurización, como son, por ejemplo, los micrococcos*, los enterococos, los bacilos, y las brevibacterias*. Por lo general, estas bacterias crecen bien en la leche y, por consiguiente, comprometen su calidad de conservación. Si los utensilios que se emplean para la leche y las superficies que contactan con la misma se limpian y desinfectan convenientemente, le añaden pocas bacterias por mililitro, aunque cuando estas operaciones se realizan de forma muy deficiente la contaminación que reconoce estas procedencias puede incrementar el recuento de bacterias en la leche en millones de las mismas por mililitro. El empleo de compuestos de amonio cuaternario como agentes desinfectantes contribuye a incrementar el porcentaje de bacilos gramnegativos (psicrótrofos, coliformes) en los utensilios, mientras que los hipocloritos favorecen el aumento de las bacterias grampositivas (micrococcos*, bacilos). Los utensilios que en la actualidad se emplean para la leche y las superficies que entran en contacto con la misma, sobre todo las máquinas ordeñadoras, las tuberías para la conducción de la leche, y los refrigeradores que se emplean para enfriar la masa de leche, están diseñados de forma que las operaciones de limpieza, desinfección y secado se puedan llevar a cabo fácilmente. Los refrigeradores que se emplean en la granja para enfriar la masa de leche también están dotados de una extraordinaria capacidad, tanto de refrigeración como de agitación, con el fin de garantizar el adecuado enfriamiento de la leche.

Otras posibles fuentes de contaminación son las manos y brazos del ordeñador y de los obreros que trabajan en la granja de vacas lecheras, el aire del establo o el de la sala de ordeño, y las moscas.

Normalmente, estas fuentes de contaminación aportarían muy pocas bacterias, aunque podrían constituir una fuente de microorganismos patógenos o de microorganismos capaces de alterar la leche. La calidad del agua procedente de la red de abastecimiento de la granja que se emplea en la sala de ordeño para las operaciones de limpieza, aclarado, etc., influirá algo en la calidad de la leche.

El número de bacterias incorporadas a cada mililitro de leche, procedentes de las distintas fuentes, depende del cuidado que se tenga para evitar la contamina-

ción. Por ejemplo, la superficie externa de la vaca aporta relativamente pocos microorganismos si se adoptan las precauciones debidas y se emplea una ordeñadora mecánica, pero si las condiciones de higiene bajo las cuales se lleva a cabo el ordeño son deficientes, pueden pasar a la leche miles de ellos por mililitro. La

Tabla 18.1. Número estimado de microorganismos en la leche.

<i>Lugar donde se toma la muestra</i>	<i>Oscilación habitual*</i>
Leche ordeñada asépticamente	500-1.000
Cubo de leche u ordeñadora	1.000-10.000
Tanque de leche de mezcla (granja)	5.000-20.000

*Recuentos por mililitro en placa estándar.

Tabla 18.1 indica la oscilación aproximada del número de microorganismos que se suelen encontrar en la leche, recogiendo la muestra en distintos puntos.

DURANTE SU TRANSPORTE Y ELABORACION

Otras fuentes de contaminación después de haber salido la leche de la granja incluyen el camión cisterna, los tubos que se emplean para trasvasar la leche, los utensilios para la recogida de muestras, y el equipo de la central lechera, el de las fábricas de quesos, el de las plantas industriales que fabrican leche condensada, y el de otras plantas donde se trata la leche. También aquí las fuentes de contaminación más importantes son las superficies con las cuales contacta la leche. Es posible que las tuberías de conducción de leche, los cubos, los tanques, las bombas, las desnatadoras, las clarificadoras, las homogeneizadoras, los refrigeradores, los filtros, los agitadores, y las embotelladoras actúen como fuentes de bacterias. La cantidad o nivel de contaminación procedente de cualquiera de estas fuentes depende de los procedimientos de limpieza y desinfección empleados. Además, los empleados, sobre todo por lo que se refiere a sus manos y a sus brazos, son una posible fuente de contaminación y origen de microorganismos patógenos. La reserva de papel que se emplea para envasar la leche líquida también constituye una importante fuente de contaminación.

Se debe tener en cuenta que, en la leche y en los productos lácteos, tanto el número como las especies de microorganismos que en los mismos se encuentran pueden aumentar bien porque se contamina, bien porque se multiplican los preexistentes. Los sistemas de obtención, de manipulación, de almacenamiento y de elaboración de la leche están ideados para evitar ambas cosas.

CONSERVACION

La leche es un alimento de un sabor tan delicado y tan fácilmente modificable, que muchos de los métodos de conservación no se pueden emplear sin que en ella tenga lugar una modificación indeseable o, en el mejor de los casos, sin que se obtenga un alimento diferente. De hecho, la mayoría de los productos lácteos elaborados a partir de la leche o de la nata se idearon con el fin de mejorar la calidad de conservación de la leche. A este respecto, las tribus nómadas descubrieron que la leche que había experimentado una fermentación láctica se podía conservar durante mucho tiempo, aunque en la actualidad producimos leches fermentadas por su consistencia y sabor característicos. Se comprobó que tratando la cuajada de la leche de distintas formas se prolongaba el período de conservación; en la actualidad elaboramos distintas clases de queso teniendo en cuenta las características propias de la cuajada. La leche y los productos lácteos, que sirven para explicar la mayoría de los principios que rigen tanto la conservación como la alteración de los alimentos, han sido objeto de mayor número de investigaciones que las realizadas en la mayoría de los alimentos, razón por la cual se han publicado numerosos libros de texto y de consulta relativos a este tema. Con el fin de conocer más detalles acerca de los procedimientos de conservación empleados en la leche y en los productos lácteos, se deben consultar estas referencias bibliográficas, algunas de las cuales figuran al final del presente Capítulo.

ASEPSIA

El hecho de evitar la contaminación de la leche en cuanto sea posible, es importante para su conservación. Cuando la leche contiene menor cantidad de microorganismos, sobre todo de aquéllos que crecen con facilidad en la leche, su calidad de conservación suele mejorar. Si bien el tipo de microorganismos existentes en la leche es extraordinariamente importante, en general, cuanto menor es su carga microbiana inicial, tanto mejor es su calidad de conservación. Por ejemplo, la existencia de una reducida carga microbiana en la leche, sobre todo por lo que se refiere al número de esporas, es una importante razón para que sea tratada a temperaturas extraordinariamente elevadas o bien mediante alguno de los tratamientos comerciales de esterilización.

Como quiera que el número de bacterias existentes en la leche es indicativo tanto de las precauciones higiénicas adoptadas como de los cuidados empleados en la manipulación durante su obtención, el contenido de bacterias de la leche se utiliza para valorar su calidad higiénica, y de aquí que tradicionalmente la leche se haya valorado de acuerdo con algún procedimiento para determinar el número de bacterias que contiene. Se ha puesto de relieve que la parte externa de la vaca y

las superficies que entran en contacto con la leche constituyen posibles fuentes tanto de un elevado número de microorganismos como de especies perjudiciales de los mismos. En la leche comercial, son especialmente perjudiciales las bacterias que crecen bien en la leche, como son las bacterias lácticas y las coliformes; las psicrotomas, las cuales crecen bien a las temperaturas de refrigeración que se emplean para conservar la leche; las termofílicas, las cuales resisten el tratamiento de pasteurización de la leche; y, por supuesto, las patógenas para el hombre. Cuando se tiene que emplear la leche como sustrato para una fermentación microbiana, como es el caso de la elaboración de las leches fermentadas o del queso, tienen una importancia extraordinaria los microorganismos que son capaces de competir con las bacterias iniciadoras y de originar defectos en los productos lácteos. A este respecto, las bacterias coliformes, las anaerobias, y las levaduras, pueden producir gas y sabores anormales en los citados productos lácteos. Es posible que otros microorganismos inhiban el cultivo iniciador deseable o bien originen defectos en la consistencia, en la textura y en el sabor. La existencia de microorganismos o de esporas termorresistentes en las leches sometidas a tratamientos con temperaturas elevadas, como son la leche evaporada y la leche condensada azucarada, puede constituir una posible fuente de alteración.

El envasado sirve para mantener sin microorganismos a la leche embotellada, a las leches fermentadas, a la manteca envasada, a la leche enlatada, a la leche en polvo y a los quesos, teniendo este mismo objeto los revestimientos de plástico, de cera, o de otras sustancias protectoras en los quesos fermentados. Se ha investigado la calidad bacteriológica de la clase de papel utilizado en la fabricación de los envases de cartulina para la leche. Normalmente, el material que se emplea en el envasado tiene una influencia muy escasa en la carga microbiana total del producto acabado.

ELIMINACION DE MICROORGANISMOS

Una vez los microorganismos han llegado a la leche, resulta difícil eliminarlos totalmente. La centrifugación de la leche, tratamiento que se emplea tanto para clarificarla como para desnatarla, eliminará algunos microorganismos. La centrifugación a un elevado número de revoluciones por minuto (a 10.000 g) elimina aproximadamente el 99 por cien de las esporas y más de la mitad de las células vegetativas bacterianas junto con algunas proteínas. No obstante, el procedimiento de centrifugación que se emplea para eliminar las bacterias de la leche, conocido como *bactofugación*, no se utiliza mucho a escala comercial. Durante el curado de algunas clases de quesos, se pueden eliminar los mohos de su superficie mediante raspado o lavado de la misma, aunque, a no ser en estos casos concretos, su eliminación resulta difícil.

EMPLEO DEL CALOR

Pasteurización y ultrapasteurización

Puesto que tanto la leche como la nata son modificadas con tanta facilidad por el calor, para conservarlas se emplea un tratamiento térmico de intensidad media (véase el Capítulo 6) denominado pasteurización. A lo largo de la historia, lo primero que se hizo fue tratar la leche con calor con el fin de prolongar su período de conservación. Cuando se comprobó que la leche podía dar origen a enfermedades alimentarias, la pasteurización se convirtió en una medida de seguridad necesaria. Los objetivos de la pasteurización de la leche comercial son: (1) destruir todos los microorganismos patógenos que es posible que lleguen a la leche y sean transmisibles a las personas, y (2) mejorar la calidad de conservación de la leche. Teóricamente, este tratamiento se debería llevar a cabo sin perjudicar su sabor, ni el aspecto, ni la calidad de conservación de la leche, así como tampoco la formación de nata. Cuando se pasteuriza la leche para fabricar queso o cuando se pasteuriza la nata para fabricar mantequilla, un tercer objetivo consiste en destruir los microorganismos que, de no ser destruidos, obstaculizarían la actividad de los microorganismos beneficiosos, como por ejemplo los del cultivo iniciador, o los que determinan que el producto final sea de inferior calidad o se altere. El fabricante de queso también se debe preocupar de que el tratamiento térmico de la leche no perjudique la formación de la cuajada. El tratamiento térmico de la nata también destruye lipasas que es posible que alteren la mantequilla durante su almacenamiento.

El primer procedimiento que se utilizó en gran escala para pasteurizar la leche suponía el calentamiento de la misma a temperaturas de 60°C durante 20 minutos como mínimo, en tanques o tinas de gran capacidad. Este sistema de conservación de la leche fue posteriormente modificado, pasándose a utilizar una temperatura de 61,7°C durante 30 minutos y finalmente una temperatura de 62,8°C durante 30 minutos, con el fin de eliminar *Coxiella burnetii*, rickettsia que es el agente causal de la fiebre Q, enfermedad que es transmisible por medio de la leche. Este procedimiento no era un tratamiento continuo y se le dió la denominación de **pasteurización en tinas**. El empleo de los intercambiadores de calor de placa y de un tratamiento continuo supone la pasteurización a elevada temperatura durante un tiempo corto (HTST) a una temperatura de 72°C durante 15 segundos como mínimo. En la actualidad, el tratamiento HTST es el procedimiento de pasteurización más utilizado a escala comercial. No obstante, la mayoría de los fabricantes, calientan la leche a una temperatura y durante un tiempo superiores a los señalados como mínimos. Muchos de ellos, por ejemplo, pasteurizan la leche a temperaturas próximas a 79°C durante un tiempo que varía entre 20 y 25 segundos. El objetivo principal de esta forma de proceder es reducir la carga microbiana total de la leche y, por lo tanto, aumentar la vida comercial de la leche. Los últimos brotes de enfermedad atribuidos al consumo de leche y demás productos lácteos han implicado como agente causal a *Listeria monocytogenes*

(véase el Capítulo 24). Existió cierta duda acerca de si tanto el tiempo como la temperatura de la pasteurización HTST señalados como mínimos eran suficientes para destruir *L. monocytogenes* en la leche y demás productos lácteos.

Los tratamientos térmicos de intensidad superior a la de la pasteurización que se emplean para tratar la leche y los productos lácteos han sido denominados procedimientos de temperatura muy elevada (VHT) y procedimientos de temperatura ultraelevada (UHT). Parece ser que para el procedimiento VHT no existe una definición exacta. Según la International Dairy Federation, los tratamientos UHT suelen hacer referencia a las técnicas de pasteurización en las que se emplean temperaturas de 130°C como mínimo, en un sistema de flujo continuo, manteniéndolas durante un tiempo de un segundo o más. En la leche líquida, los procedimientos UHT se han empleado más en Europa que en Estados Unidos. Las actuales normas federales de identidad especifican que para que un producto pueda ser clasificado como «ultrapasteurizado» debe haber sido calentado a una temperatura de 137,8°C o a temperaturas superiores y mantenido a estas temperaturas durante 2 segundos como mínimo. Productos tales como la nata que se emplea para obtener nata batida, la crema de café, y las mezclas de dos cervezas se tratan por procedimientos UHT. El inconveniente real de los procedimientos UHT es que el intenso calentamiento que se necesita podría afectar o alterar el valor nutritivo y los caracteres organolépticos del producto. Los procedimientos UHT más utilizados son los sistemas de calentamiento directo, entre los que se incluyen un tratamiento que consiste en inyectar vapor de agua en la leche y un tratamiento en el que se inyecta la leche en una corriente de vapor de agua, a los cuales se les conoce, respectivamente, con las denominaciones de **técnica de inyección de vapor de agua** y **técnica de infusión en vapor de agua**. En ambos procedimientos, después del tratamiento térmico, se elimina el vapor de agua añadido, o agua sobrante, en una cámara de vacío estéril. Combinando este tipo de tratamiento térmico con el envasado aséptico se obtiene una clase de productos a los que se les suele denominar «leche esterilizada» o «nata esterilizada». Estas denominaciones no significan que se trata de productos totalmente estériles, sino que son productos estériles en el sentido comercial. Estos productos tienen una vida comercial extraordinariamente larga. La leche líquida o los productos lácteos esterilizados se deberían envasar en recipientes que conservasen su «esterilidad» y la duración de su vida comercial. En los Estados Unidos, algunos fabricantes garantizan que sus productos lácteos esterilizados tienen una vida comercial de más de 6 semanas. Con la adecuada combinación de una esterilización eficaz, un envasado aséptico, y una apropiada refrigeración, no sería de extrañar que estos productos tuviesen una duración superior a 90 días.

La eficacia de la pasteurización de la leche, o el porcentaje de la reducción del número de microorganismos en la misma durante la pasteurización depende (1) de la temperatura de pasteurización, (2) del tiempo que se mantiene esta temperatura, (3) del número total de bacterias, y (4) del porcentaje que representan los microorganismos esporógenos o termodúricos con relación a la carga microbiana total. En general, es posible que el procedimiento HTST convencional reduzca

el número de microorganismos de la leche en un porcentaje comprendido, por lo menos, entre el 90 y el 99 por cien. Por último, después de la pasteurización, la leche es enfriada inmediatamente a una temperatura de 7,2°C o a una temperatura más baja. Según se estudiará más adelante, la vida comercial de la leche pasteurizada depende tanto de la temperatura a la cual se almacena como del número y tipo de microorganismos que resisten el tratamiento de la pasteurización.

Durante la pasteurización, la nata que se destina a fabricar mantequilla se somete a un tratamiento de mayor intensidad que el que se emplea para pasteurizar la nata comercial. Se calienta a una temperatura de 71,1°C o a temperaturas superiores durante 30 minutos mediante el procedimiento de mantenimiento del calor, o a una temperatura comprendida entre 87,7 y 93,3°C durante algunos segundos si se emplea el procedimiento HTST. La nata tiene un efecto protector de los microorganismos mayor que el de la leche, mientras que la nata destinada a la fabricación de mantequilla es probable que contenga una población de microorganismos más elevada que la mayoría de los lotes de leche. El calentamiento rápido de la nata se consigue mediante la inyección de vapor de agua o combinando la inyección de vapor de agua con el vacío en un tratamiento conocido como **vacreación**.

El calentamiento previo a una temperatura comprendida entre 71 y 100°C durante un tiempo de 10 a 30 minutos y los tratamientos de evaporación a una temperatura comprendida entre 48,9 y 57,2°C en la fabricación de la leche condensada azucarada, son en realidad tratamientos de pasteurización que destruyen todos los microorganismos patógenos y que deberían destruir todos los microorganismos capaces de alterar el producto final enlatado.

Todo lo concerniente a la pasteurización a elevada temperatura es aplicable a la leche condensada a granel. El calentamiento previo de la leche a una temperatura comprendida entre 65,6 y 76,76°C antes de la evaporación, destruye muchos de los microorganismos que contiene, y el sobrecalentamiento de la leche una vez condensada, que es más concentrada que la leche evaporada, a temperaturas más elevadas (de 82,2 a 93,3°C), destruye una cantidad aún mayor. Este producto se debe enfriar rápidamente, se debe almacenar a temperatura de refrigeración, y se debe consumir a medio plazo. El calentamiento de la leche previo a su desecación, que se menciona más adelante, es en realidad una pasteurización.

El empleo de una temperatura de 65,6°C o de temperaturas superiores al fundir y mezclar los quesos para elaborar el queso fundido, es en realidad una pasteurización que destruye la mayoría de los microorganismos existentes en los quesos originarios. Como emulgentes se le añaden fosfatos, citratos y tartratos. La pasteurización convencional debe destruir la totalidad de las levaduras y mohos y la mayoría de las células vegetativas de las bacterias existentes en la leche. Las bacterias que resisten la pasteurización, denominadas termodúricas, pertenecen a distintos grupos de bacterias, de los cuales sólo se citarán los más importantes. De las bacterias no esporógenas, las más importantes son: (1) las bacterias lácticas que crecen a temperaturas elevadas, por ejemplo los enterococos; *Streptococcus thermophilus*, los lactobacilos que crecen a temperaturas eleva-

das, como por ejemplo las especies *Lactobacillus bulgaricus**, y *L. lactis*; y las especies del género *Microbacterium*, y (2) ciertas especies de *Micrococcus**. Algunas especies de los géneros *Streptococcus* y *Lactobacillus* son al mismo tiempo termófilas y termodúricas. Las especies bacterianas termodúricas esporógenas se incluyen en dos grupos principales: (1) especies del género *Bacillus*, es decir, bacilos esporógenos que pueden ser desde aerobios a facultativos, de los cuales la especie *B. cereus* (proteolítica) suele ser la más abundante, aunque a veces tienen importancia las especies *B. licheniformis* y *B. subtilis* (proteolíticas), *B. coagulans* (termófila), *B. polymyxa* (productora de gas), y otras especies, y (2.) las especies del género *Clostridium*, bacilos anaerobios esporógenos, algunas de las cuales son sacarolíticas, por ejemplo, *C. butyricum*, y otras son al mismo tiempo proteolíticas y sacarolíticas, por ejemplo, *C. sporogenes*. Cuando se multiplican en la leche, la mayoría de las especies citadas también producen gas. Es posible que otras varias bacterias resistan la pasteurización, aunque no crecen bien en la leche.

Puesto que los fabricantes de productos lácteos siguen elevando las temperaturas de pasteurización con el fin de aumentar el período de conservación de sus productos, cada vez adquiere mayor importancia la existencia en los mismos de bacterias esporógenas.

Vapor de agua a presión

La leche evaporada se enlata y después se somete a tratamiento térmico mediante vapor de agua a presión, tratamiento que suele ir acompañado del volteo o agitación de los botes. El calentamiento previo de la leche a una temperatura alrededor de los 93 a 100°C o a temperaturas superiores, antes de la evaporación, destruye todas las esporas bacterianas excepto las más resistentes. Una vez cerrados, los botes de leche evaporada se tratan a una temperatura de unos 115 a 118°C durante un tiempo de 14 a 18 minutos, tratamiento con el cual se obtiene un producto comercialmente estéril. Algunos de los procedimientos de calentamiento-enfriamiento-llenado, por ejemplo, el procedimiento de Martin citado en el Capítulo 6, se han empleado para tratar la leche entera enlatada, la nata enlatada, y la leche concentrada enlatada.

EMPLEO DE TEMPERATURAS BAJAS

Con la excepción de la leche enlatada y la leche en polvo, la mayoría de los productos lácteos requieren el empleo de temperaturas bajas como uno de los factores para conseguir que se conserven; muchas veces es éste el factor que mayor importancia tiene.

Almacenamiento bajo refrigeración

Para producir leche de buena calidad es indispensable enfriarla inmediatamente después de haber sido ordeñada. La Normativa para la Leche Pasteurizada de Grado A del Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos especifica que la leche fresca de Grado A destinada a ser pasteurizada deberá ser enfriada a 10°C o a una temperatura inferior dentro de las 2 horas siguientes de haber sido ordeñada y deberá mantenerse a esta temperatura hasta que sea tratada. La leche recién pasteurizada se debe enfriar a 7,2°C o a una temperatura inferior y se debe mantener a esta temperatura. Por supuesto que es preferible enfriarla hasta alcanzar temperaturas muy por debajo de 7,2°C.

Por ejemplo, los tanques para refrigerar la leche existentes en las granjas son capaces de enfriar la leche a temperaturas comprendidas entre 3,0 y 4,5°C o a temperaturas más bajas y mantenerla a esta temperatura, excepto durante los cortos intervalos de tiempo en los que está entrando en los mismos leche recién ordeñada, y en tal caso la temperatura no suele sobrepasar los 7,2°C. Asimismo, tampoco es raro comprobar que cuando se están llenando las botellas o los envases de cartón, la temperatura de la leche se aproxima a los 2 a 3°C.

La leche se mantiene a temperaturas de refrigeración mientras permanece almacenada en la granja, en el camión o en el tanque durante su transporte a la planta o estación receptora y durante su almacenamiento en esta última. Para la leche y productos lácteos se recomiendan temperaturas de refrigeración durante el almacenamiento en la planta de tratamiento o en las tiendas de venta al por menor y durante su distribución, así como en las casas particulares o en los restaurantes, hasta tanto no se consume. Las leches fermentadas y los quesos frescos se enfrían una vez elaborados, manteniéndose refrigerados hasta que llegan al consumidor. La mayoría de las clases de quesos madurados también se conservan a temperaturas de refrigeración aun después de haber completado su maduración. En la Tabla 18.2 se indican algunas de las temperaturas recomendadas para diversos productos lácteos.

Congelación

Los helados y demás postres de leche congelados se congelan durante el proceso su fabricación, almacenándose congelados a bajas temperaturas, a las cuales la multiplicación de los microorganismos resulta imposible. La carga microbiana de los ingredientes –leche, nata, azúcar, huevos, estabilizantes, y agentes saborizantes y colorantes– junto con la contaminación adquirida durante su elaboración determinarán el número y las especies de microorganismos existentes en la mezcla y la carga microbiana de la misma después de haber sido pasteurizada y congelada. Por supuesto que la pasteurización reduce tanto la carga microbiana como el número de especies, aunque la congelación destruye relativamente pocos microorganismos, y el almacenamiento en estado de congelación permite que sobrevivan la mayoría de los microorganismos durante mucho tiempo.

Tabla 18.2. Condiciones de almacenado y vida comercial de algunos productos lácteos.

<i>Producto</i>	<i>Temperatura</i> °C	<i>RH,*</i> %	<i>Tiempo</i> <i>aproximado de</i> <i>almacenado</i>
Queso:			
Azul	0-1,1	70	3-6 meses
Cheddar	0-1,1	70	12 meses
De nata	0-1,1	70	4 semanas
Pasteurizado	0-4,4		6-10 meses
Suizo	0-4,4	70	8-12 meses
Leche:			
Evaporada y condensada	0		+ de 1 año
	4,4		6-12 meses
	10		Algunos meses
	21,1		Algunas semanas
HTST	1,6-4,4		2-3 semanas
	4,4-7,2		1-2 semanas
UHT	1,6-4,4		+ de 1 mes
Leche en polvo desengrasada	4,4	60	10 meses
	21,1	60	5 meses
	37,7	60	2 meses

Fuente: Adaptado en parte de The Refrigeration Research Foundation (1974).

* N. del T.: Humedad relativa.

La mantequilla se mantiene almacenada a -17 ó a -18°C , o a temperaturas más bajas, a las cuales los microorganismos son incapaces de multiplicarse. La nata congelada se mantiene en grandes cantidades a temperaturas parecidas. La leche, concentrada a un tercio de su volumen, se puede congelar entre -17 y -18°C y se puede conservar entre -23 y -24°C o a temperaturas más bajas, pudiéndose conservar de esta forma durante varias semanas sin que se altere. La leche congelada se puede concentrar mediante técnicas de liofilización. La leche entera pasteurizada se ha congelado a temperaturas en torno a los -28 a -29°C , transportándose y almacenándose en estado de congelación.

DESECACION

Varios productos lácteos se elaboran eliminando de la leche entera o de la leche desnatada distintos porcentajes de agua. Únicamente cuando se elaboran productos lácteos desecados se elimina la suficiente humedad para evitar la multiplicación de los microorganismos. La reducción de la humedad y el consiguiente aumento de la concentración de las sustancias disueltas en los productos lácteos líquidos condensados inhibe la multiplicación de algunas especies bacterianas.

Productos lácteos condensados

La leche evaporada se elabora eliminando aproximadamente el 60 por cien del agua de la leche entera, de modo que en este tipo de leche habría en solución aproximadamente un 11,5 por cien de lactosa, y el doble de la cantidad de sales inorgánicas solubles existentes en la leche entera. Esta elevada concentración de azúcar inhibe la multiplicación de algunas bacterias y podría retardar o inhibir la de algunos microorganismos que han resistido los tratamientos térmicos descritos anteriormente. La leche condensada es más concentrada que la leche evaporada y constituye un medio de cultivo aún más pobre para aquellos microorganismos que no toleran las elevadas concentraciones de azúcar. El suero condensado, denominado **semisólidos del suero**, es otro producto lácteo concentrado, lo mismo que lo es el suero de mantequilla condensado, al que se le conoce con la denominación de **suero de mantequilla semisólido**, en el cual ha aumentado la concentración de ácido y de otros solutos como consecuencia del tratamiento de concentración. Para obtener la leche condensada azucarada, antes de la evaporación, a la leche entera se le añade la suficiente cantidad de azúcar (principalmente sacarosa, aunque a veces se emplea glucosa), de forma que este producto lácteo contiene un porcentaje aproximado de azúcar (lactosa más el azúcar añadido) del 54 por cien, mientras que en la fracción líquida es superior al 64 por cien. El producto obtenido a partir de la leche desnatada contiene alrededor del 58 por cien de azúcares totales y aproximadamente un 66 por cien en la fracción líquida del producto condensado. Estas elevadísimas concentraciones de azúcar junto con el aumento del porcentaje de las sales inorgánicas solubles, ligan la humedad convirtiéndola en no disponible para todos los microorganismos, excepto para los osmófilos. Por consiguiente, la desecación, tanto si se consigue eliminando el agua como fijándola, es el principal factor determinante de la conservación de las leches condensadas. Con el vacío de la lata y el efecto aséptico de su cierre hermético, se obtiene un producto de excelente calidad de conservación.

Productos lácteos desecados

Entre los productos lácteos que se preparan en forma desecada se encuentran la leche, la leche desnatada, el suero, el suero de mantequilla, las mezclas para helados, y la leche malteada. Como quiera que para obtener todos estos productos lácteos se aplican los mismos principios, como ejemplo típico se estudiará la leche desnatada en polvo o sólidos de la leche desecados exentos de grasa. Casi toda la leche en polvo se prepara bien mediante el procedimiento del cilindro, con o sin empleo de vacío, bien mediante el procedimiento de atomización mencionados en el Capítulo 8. Antes de llevar a cabo el tratamiento final de desecación, la leche se concentra de tres a cinco veces cuando se emplea el procedimiento del cilindro, y de dos a tres veces cuando se emplea el procedimiento de atomización. Antes de su desecación, la leche se suele precalentar (a una temperatura comprendida entre 65 y 85°C en el procedimiento de desecación del cilindro y a una temperatu-

ra entre 68,8 y 93,3°C en el procedimiento de desecación por atomización. El tratamiento de precalentamiento pasteuriza la leche y destruye los microorganismos menos termorresistentes. Los actuales procedimientos de tratamiento que se utilizan para preparar la leche descremada en polvo emplean condiciones óptimas con el fin de obtener un producto que sea más aceptable en cuanto a solubilidad y sabor. Algunos procedimientos de desecación incluyen una fase de instantización en la cual el polvo seco se humedece para volverlo a desecar. De hecho, en este tipo de tratamiento el producto se halla expuesto al contacto del aire en nueve fases diferentes. Con ocasión de un importante brote de salmonelosis debido al consumo de leche en polvo se demostró que la contaminación de la misma había tenido lugar al entrar en contacto con el aire durante el tratamiento de instantización.

La carga microbiana del producto desecado por el calor depende de la cantidad de microorganismos existentes en el producto líquido a desecar, de la temperatura y del tiempo de precalentamiento, del tratamiento de evaporación (si es que se emplea), de la contaminación y de la multiplicación de los microorganismos en los tanques y tuberías, del procedimiento de desecación empleado, y de la contaminación procedente del aire. El precalentamiento destruye los microorganismos de igual modo que los destruiría la pasteurización y, por lo tanto, los destruye todos excepto los termodúricos. Es posible que la evaporación, sobre todo si se trata de un tratamiento continuo, dé lugar a un aumento de los microorganismos termodúricos y de las bacterias que son termófilas. Si el producto evaporado o concentrado se almacena, en él puede tener lugar un aumento del número de microorganismos, ya que la temperatura de evaporación no es elevada y la leche se enfría pronto. La elevada temperatura que se emplea en el procedimiento del cilindro sin vacío destruye casi todos los microorganismos, excepto las esporas bacterianas. El procedimiento de desecación instantánea por atomización, no teniendo en cuenta el efecto letal del precalentamiento, ni tampoco los correspondientes a la evaporación y concentración, no puede depender de que los microorganismos sean eliminados en el producto acabado. En general, las bacterias termodúricas, es decir, los estreptococos termorresistentes, los micrococos, las bacterias esporógenas, tanto aerobias como anaerobias, y las microbacterias, son más abundantes en el producto desecado.

Los numerosos casos de intoxicaciones alimentarias atribuidas a salmonelas o a estafilococos procedentes de leche en polvo demuestran que, a veces, estos patógenos sobreviven en el producto final.

EMPLEO DE CONSERVADORES

Adición de conservadores

La adición de conservadores a los productos lácteos únicamente está permitida en determinados casos. El empleo de los ácidos sórbico o propiónico, o de las

sales de estos ácidos, está permitido en el requesón, en el yogurt, en algunos quesos duros y en los quesos sometidos a algún tratamiento industrial. El objetivo principal de la adición de conservadores a los quesos duros y a los quesos en conserva, consiste en impedir el crecimiento de mohos en la corteza de los mismos. De igual modo, al requesón y al yogurt se les añaden conservadores con el fin de impedir que en su superficie crezcan mohos y de esta forma prolongar su vida comercial.

En la leche condensada azucarada, el azúcar que se le añade actúa como conservador; reduce la a_w , con lo cual convierte en no disponible para los microorganismos a la humedad. El cloruro sódico o sal común se emplea en la elaboración de varias clases de quesos, aunque se suele añadir más como condimento o más para controlar la multiplicación de los microorganismos durante las fases de fabricación y curado, que para conservar el producto acabado. En la mantequilla salada, el cloruro sódico se encuentra en la fase líquida en una concentración suficientemente elevada como para impedir el crecimiento de muchas bacterias y ocasionar la disminución del número de las que no son halotolerantes. En una mantequilla salada cuyo porcentaje de humedad fuese del 16,34 por cien y el de sal del 2,35 por cien, la fase acuosa sería una salmuera con una concentración de cloruro sódico del 12,6 por cien.

El queso se ahuma principalmente para darle sabor, aunque es posible que la desecación, sobre todo la de la corteza, y los conservadores químicos que contiene el humo, mejoren su calidad de conservación. La alteración del queso por mohos se suele retardar o impedir cuando al propio queso o a los materiales que se emplean para envolverlos se les añade ácido sórbico, sorbatos, ácido propiónico o propionatos.

La adición de peróxido de hidrógeno combinada con un tratamiento térmico de intensidad media se ha utilizado para pateurizar la leche que se emplea para la fabricación de determinados tipos de queso (p. ej., el queso suizo y el queso de Cheddar). El exceso de peróxido se suele eliminar mediante la adición de catalasa.

Conservadores originados en los propios productos lácteos

En el aspecto microbiológico, la mayoría de los productos lácteos fermentados son más estables o tienen una vida comercial más prolongada que el sustrato inicial. Las leches ácidas y los quesos fermentados se conservan, en parte, por la acidez originada por el correspondiente cultivo bacteriano y, por lo tanto, tienen una vida comercial más prolongada que la leche líquida. Los productos lácteos fermentados se estudian por separado en el Capítulo 22.

Otros procedimientos de conservación

A pesar de que se puede conseguir un efecto equivalente al de la pasteurización tratando la leche con rayos ultravioleta, este procedimiento no se emplea para

conservar la leche debido a que solamente se puede irradiar con eficacia una fina capa de leche y, a no ser que se tenga un extraordinario cuidado, la leche adquiere sabor «a socarrado». Otras aplicaciones de la luz ultravioleta en la industria láctea comprenden la irradiación de locales con el fin de reducir la carga microbiana del aire en los locales donde se está preparando la leche condensada azucarada o en los que el queso cortado se está envasando, así como en los locales donde se cura el queso. Los rayos ultravioleta inhiben el crecimiento de los mohos en las superficies del queso curado expuestas directamente a los mismos, aunque no inhiben su crecimiento en las superficies sobre las que no inciden directamente. La luz ultravioleta también se utiliza para irradiar los tanques que contienen concentrados de azúcar líquido o sólidos del jarabe de maíz (ingredientes que forman parte de las mezclas que se emplean en la fabricación de helados), con el fin de impedir el crecimiento de mohos en su superficie.

En la conservación de la leche y productos lácteos intervienen varios factores. La leche que se destina a la venta en el comercio o la que se destina a la elaboración de productos lácteos se obtiene con la mayor asepsia posible, se enfría rápidamente y se mantiene refrigerada. Se pasteuriza y a continuación se envasa para evitar que se contamine con microorganismos. La nata se trata de modo parecido. Las leches fermentadas deben la mayor parte de su calidad de conservación al ácido que se forma durante su fermentación, aunque para que se conserven es necesario enfriarlas y envasarlas. La mantequilla se conserva principalmente mediante temperaturas bajas, conservándose a temperaturas de refrigeración si se ha de tener almacenada durante poco tiempo, o a temperaturas de congelación si se ha de mantener almacenada durante mucho tiempo. Su bajo porcentaje de humedad y la sal que contiene también contribuyen a que se conserve, contribuyendo también a ello el envasado y el cierre hermético que impiden que se contamine. El queso se conserva gracias a la acidez que se origina durante su fabricación, porque se refrigera y gracias a la impermeabilidad de su corteza o porque se envasa. La leche en polvo, si se elabora convenientemente, posee un grado de humedad excesivamente reducido como para que en ella puedan multiplicarse los microorganismos, aunque para evitar que se contamine se debe envasar. La leche evaporada se trata con vapor de agua a presión con el fin de destruir la totalidad o la mayoría de los microorganismos y a continuación se envasa en latas de cierre hermético para evitar que se contamine. Durante su elaboración, la leche condensada azucarada se somete a un tratamiento de pasteurización, contiene una elevada concentración de azúcares, y está protegida frente a la contaminación por la lata cerrada herméticamente.

ALTERACION

Según ya se ha indicado, tanto la leche como los productos lácteos elaborados a partir de la misma se conservan de muy distintas formas, algunas de las cuales

suponen la destrucción de únicamente una parte de los microorganismos existentes y la inhibición del crecimiento de los restantes. Por lo tanto, algunos productos lácteos tienen un tiempo de conservación limitado, y muchos se alteran con facilidad si los procedimientos que se utilizan para conservarlos no son apropiados.

LECHE Y NATA

La leche es un excelente medio de cultivo para una gran cantidad de microorganismos, por su elevado contenido de agua, por su pH próximo a la neutralidad, y por contener una gran cantidad de nutrientes que utilizan los microorganismos. Una gran cantidad de los nutrientes energéticos que contiene se hallan en forma de azúcar de leche (lactosa), de grasa, de citratos, y de compuestos nitrogenados de distinta naturaleza (proteínas, aminoácidos, amoníaco, urea, y otras sustancias), y en forma de nutrientes accesorios y de sales minerales necesarias para los microorganismos. En la leche recién ordeñada se encuentran algunas sustancias inhibitorias (lactoperoxidasa y aglutininas), aunque enseguida se convierten en relativamente inactivas. Como consecuencia de que la lactosa es un azúcar fermentescible, lo más probable es que en condiciones normales en la leche fresca tenga lugar una fermentación ácida por bacterias, aunque si las condiciones no son favorables para las bacterias acidificantes o si éstas no se encuentran en la leche, es posible que en ella tengan lugar otros cambios. Debido a la tendencia a emplear temperaturas de pasteurización cada día más elevadas, con mayor frecuencia la flora microbiana que altera la leche pasteurizada está constituida por bacilos termorresistentes esporógenos que pueden ser psicrotófos.

Cuando la leche se acidifica se suele considerar alterada, sobre todo si cuaja. Los signos de la formación de ácido son primeramente un sabor ácido y después la coagulación de la leche para dar lugar a un coágulo sólido parecido a la gelatina, o de consistencia más débil, que libera un suero transparente. La fermentación láctica es más probable que tenga lugar en la leche fresca que se mantiene a temperatura ambiental.

En la leche fresca que se mantiene a temperaturas comprendidas entre 10 y 37°C, lo más probable es que *Streptococcus lactis* sea el microorganismo causante del agriado, siendo también posible que exista en la misma cierta multiplicación de bacterias coliformes, de enterococos, de lactobacilos y de micrococos*. A temperaturas más elevadas, por ejemplo a temperaturas comprendidas entre 37 y 50°C, es posible que *S. thermophilus* y *S. faecalis* produzcan aproximadamente el 1 por cien del ácido y que su multiplicación vaya seguida de la multiplicación de lactobacilos tales como *Lactobacillus bulgaricus*, el cual producirá mayor cantidad de ácido. Algunos lactobacillos son capaces de crecer en la leche a temperaturas superiores a los 50°C, aunque producen menor cantidad de ácido. Las bacterias termófilas, por ejemplo, *L. thermophilus**, son capaces de crecer a temperaturas

todavía más elevadas. En la leche que se mantiene a temperaturas próximas a la de congelación tiene lugar una escasa producción de ácido, aunque es posible que en la misma exista proteólisis.

La pasteurización de la leche destruye las bacterias con mayor actividad acidificante, aunque es posible que permita que sobrevivan las bacterias lácticas termorresistentes (p. ej., los enterococos, *Streptococcus thermophilus*, y los lactobacilos), los cuales pueden dar origen a una fermentación láctica si la temperatura a la que se almacena la leche es lo suficientemente elevada.

Algunas bacterias, que nada tienen que ver con las llamadas bacterias lácticas, pueden originar la fermentación ácida de la leche, sobre todo si las condiciones existentes en la leche no son las apropiadas para que se multipliquen aquéllas. Las bacterias coliformes producen algo de ácido láctico y grandes cantidades de productos volátiles, como por ejemplo hidrógeno, dióxido de carbono, ácido acético, ácido fórmico, alcohol, etc. Algunas especies de los géneros *Micrococcus**, *Microbacterium* y *Bacillus* son capaces de producir ácido en la leche, principalmente ácido láctico, aunque normalmente no son capaces de competir con las bacterias lácticas.

Es posible que, en condiciones que impiden o inhiben la normal producción de ácido láctico, en la leche se produzca ácido butírico como consecuencia de la actividad de especies de *Clostridium*. Por consiguiente, tras someterla a un tratamiento térmico que destruya la totalidad de las células bacterianas vegetativas, pero que permita la supervivencia de las esporas de *Clostridium*, la leche puede experimentar la fermentación butírica con producción de los gases hidrógeno y dióxido de carbono.

Producción de gas

La producción de gas por parte de las bacterias suele ir acompañada de la producción de ácido y, con pocas excepciones, es perjudicial tanto en la leche como en los productos lácteos. Los principales microorganismos productores de gas son las bacterias coliformes, las especies del género *Clostridium*, las especies de *Bacillus* productoras de gas, que producen a la vez hidrógeno y dióxido de carbono, así como las levaduras, las bacterias propiónicas, y las bacterias lácticas heterofermentativas que únicamente producen dióxido de carbono. La producción de gas en la leche se pone de manifiesto por la aparición de espuma en la superficie si la leche es líquida y está supersaturada de gas, por la existencia de burbujas de gas atrapadas en la cuajada o formando surcos en la misma, por la formación de una cuajada flotante que contiene burbujas, o por la rotura de la propia cuajada gracias a la rápida producción de gas que origina la denominada fermentación tumultuosa de la leche.

Tanto la posibilidad de que en la leche se produzca gas como el tipo de microorganismos que lo producen, dependen no sólo de los tratamientos previos a los que se haya sometido la leche, sino también de la temperatura a la que se

conserva. En la leche fresca, las bacterias coliformes son las más idóneas para ser las principales productoras de gas. También es posible que las bacterias lácticas heterofermentativas produzcan gas, aunque generalmente no lo producen en la suficiente cantidad como para que se pueda ver en la leche. Las levaduras (que fermentan la lactosa) suelen faltar en la leche o encontrarse en ella en escasa cantidad, y de aquí que no compitan bien con las bacterias.

A temperaturas elevadas, las especies de los géneros *Clostridium* y *Bacillus* no compiten bien con las bacterias productoras de gas, aunque es posible que actúen si en la leche no existen bacterias productoras de gas o si se trata de bacterias relativamente inactivas. Por lo tanto, en la leche que ha sido sometida a calentamiento a las temperaturas que se emplean para pasteurizarla, o a temperaturas superiores, las principales bacterias productoras de gas serán destruidas, las esporas de las especies de los géneros *Clostridium* y *Bacillus* sobrevivirán, y es posible que tenga lugar la producción de gas por parte de especies esporógenas.

Las bacterias que producen ácido propiónico no son activas en la leche, aunque, según se estudia más adelante, en el queso producen gas (dióxido de carbono).

Proteolisis

La hidrólisis de las proteínas de la leche por microorganismos suele ir acompañada de la producción de un sabor amargo originado por algunos de los péptidos liberados. La proteolisis es favorecida por el almacenamiento a temperaturas bajas, por la destrucción por el calor de las bacterias lácticas y de otras bacterias productoras de gas, y por la destrucción del ácido producido en la leche por los mohos y por las levaduras formadoras de película, o por la neutralización de los ácidos por los productos del metabolismo de otros microorganismos.

Los tipos de cambios producidos por los microorganismos proteolíticos incluyen: (1) la proteolisis ácida, en la que se dan al mismo tiempo la producción de ácido y la proteolisis, (2) la proteolisis con escasa acidez o incluso con basicidad, (3) la coagulación dulce, la cual es producida por enzimas bacterianos parecidos a la renina en la primera fase de la proteolisis, (4) la proteolisis lenta por enzimas intracelulares de las bacterias, liberados por autólisis de éstas, y (5) la actividad proteolítica residual de las proteinasas termoestables. *Pseudomonas fluorescens*, por ejemplo, produce una proteinasa que resiste la pasteurización aun en el caso de que la bacteria no sea destruida.

La proteolisis ácida origina la producción de una cuajada que se retrae y libera gran cantidad de suero. Esta fase va seguida de la digestión lenta de la cuajada, la cual cambia de aspecto para transformarse de opaca en traslúcida, y es posible que sea disuelta totalmente por ciertos tipos de bacterias. A veces se forman partículas de cuajada separadas que se retraen tanto que apenas son visibles en la gran cantidad de suero. La proteolisis ácida puede ser producida por varias especies de

*Micrococcus**, algunas de las cuales crecen en la ubre de la vaca y producen la proteólisis de la leche ordeñada asépticamente. Uno de los estreptococos de origen intestinal o enterococos, *Streptococcus faecalis* var. *liquefaciens**, es un microorganismo productor de ácido láctico que, al mismo tiempo, es muy proteolítico. Lo mismo que los demás enterococos, es termodúrico y de aquí que pueda originar la proteólisis ácida en la leche pasteurizada. Las esporas de las cepas proteolíticas fermentadoras de la lactosa de algunas especies de *Bacillus* son capaces de resistir la pasteurización e incluso un tratamiento térmico de mayor intensidad de la leche y originar la proteólisis ácida.

La proteólisis llevada a cabo por bacterias incapaces de fermentar la lactosa varía, de acuerdo con la bacteria de que se trate, desde la clara digestión de la caseína a una ligera proteólisis que solamente puede ser detectada mediante pruebas químicas. De hecho, la mayoría de estas bacterias producen una escasa acidez, si es que la producen, y, con el tiempo, la leche se suele volver básica como consecuencia de los productos resultantes de la descomposición de las proteínas. Muchas de estas bacterias producen la «coagulación dulce» de la leche (coagulación, aunque con escasa producción de ácido) antes de digerir la caseína, si bien otras hidrolizan la proteína tan rápidamente que el coágulo no es visible y, por último, queda un líquido bastante transparente en el que no hay resto alguno ni de caseína ni de coágulo. Las bacterias muy proteolíticas se encuentran entre las especies de los géneros *Micrococcus**, *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Flavobacterium* y *Serratia*, todos los cuales son géneros de bacterias asporógenas, y en las de los géneros esporógenos *Clostridium* y *Bacillus*. Algunas especies de los géneros *Micrococcus**, *Pseudomonas*, *Alcaligenes**, *Flavobacterium* y *Bacillus* son capaces de crecer a temperaturas bajas y, por lo tanto, es probable que produzcan cierto grado de proteólisis y/o sabor amargo en la leche que se conserva a temperaturas de refrigeración. A la especie *Bacillus cereus* se le ha atribuido la producción de la coagulación dulce de la leche pasteurizada. Esta causa de alteración cada vez está siendo más corriente en la leche debido (1) a que cada vez se emplean temperaturas de pasteurización más elevadas, (2) a la capacidad psicrótrófica de algunos bacilos, y (3) a que se conserva o se tiene almacenada durante más tiempo. La coagulación o formación del coágulo se suele iniciar en el fondo del envase de cartón y es posible que en sus primeras fases incluso pase desapercibida al consumidor.

La proteólisis lenta por enzimas intracelulares de las bacterias como consecuencia de su autólisis, carece de importancia normalmente, aunque sí la tiene cuando dichos enzimas disponen de mucho tiempo para actuar, como ocurre en el curado de los quesos o en productos lácteos que tienen una vida comercial prolongada.

Viscosidad

Tanto la viscosidad como la mucosidad se pueden presentar en la leche, en la nata o en el suero de leche, aunque tienen importancia principalmente en la leche

y en la nata que se venden en el comercio. La viscosidad o la mucosidad de origen no bacteriano es posible que sean debidas (1) a la formación de fibras originadas por las mastitis y concretamente por la fibrina y por los leucocitos de la sangre de la vaca (al contrario de lo que sucede en la viscosidad producida por bacterias, aparece en el momento de ser ordeñada la leche, y no se presenta durante su almacenamiento), (2) a la mucosidad resultante del espesor de la capa de nata, por ejemplo, en la parte superior de la botella, (3) a la aparición de filamentos como consecuencia de la existencia de finas películas de caseína o de lactoalbúmina durante el enfriamiento de la leche, fenómeno que a veces se observa en la superficie de los refrigeradores. Se trata sólo de un efecto temporal.

La viscosidad de origen bacteriano es producida por la sustancia mucosa de la cápsula de las bacterias, generalmente gomas o mucinas, y normalmente se suele presentar en la leche que se conserva a temperaturas bajas. La viscosidad suele disminuir conforme aumenta la acidez de la leche o de la nata. Hay dos tipos principales de viscosidad de origen bacteriano; en uno de ellos la leche es más viscosa en la parte superior, mientras que en el otro tipo la leche presenta viscosidad en toda la masa líquida. La viscosidad superficial es originada con mayor frecuencia por *Alcaligenes viscolactis**, microorganismo procedente principalmente del agua o del suelo que es capaz de crecer bastante bien a temperaturas próximas a 10°C. Algunos micrococcos termodúricos, por ejemplo, *Micrococcus freudenreichii**, son capaces de producir la viscosidad superficial de la leche. La viscosidad de toda la masa de leche puede ser producida por cualquiera de estas especies de bacterias:

- 1 *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, y rara vez *Escherichia coli*. La viscosidad producida por *Enterobacter* suele ser peor cuando aparece próxima a la superficie de la leche.
- 2 *Ciertas cepas de algunas de las especies corrientes de bacterias lácticas.* *Streptococcus lactis* var. *hollandicus* produce viscosidad en la leche, y en Escandinavia se utiliza en la elaboración de una leche fermentada. *Lactobacillus casei*, *L. bulgaricus**, y *L. plantarum* a veces producen viscosidad, lo mismo que la producen algunas cepas de *Streptococcus cremoris*. La mayoría de estas bacterias lácticas son capaces de crecer formando cadenas largas, propiedad que se supone contribuye a la formación de filamentos en la leche.
- 3 *Otras varias bacterias* entre las productoras de álcali, micrococcos*, estreptococos y bacilos. Normalmente estas bacterias serían eliminadas por las bacterias acidificantes.

Puesto que las bacterias que producen la viscosidad de la leche proceden del agua, del estiércol, de los utensilios, y de los piensos, la reducción o la supresión de la contaminación debida a estas fuentes contribuyen a evitar la aparición de la viscosidad. La conveniente pasteurización de la leche destruye con facilidad la mayoría de las especies de bacterias citadas.

Modificaciones que tienen lugar en la grasa de la leche

La grasa de la leche puede ser descompuesta por diferentes bacterias, levaduras y mohos que no constituyen grupos definidos si se tienen en cuenta otras características. Las bacterias son en su mayor parte aerobias o facultativas, proteolíticas y no producen ácido. En la grasa de la leche pueden tener lugar las siguientes modificaciones:

- 1 *Oxidación de los ácidos grasos no saturados*, la cual, junto con otras descomposiciones, da lugar a aldehídos, ácidos y cetonas y produce olores y sabores a sebo. Los metales, la luz solar, y los microorganismos oxidantes favorecen las reacciones de oxidación.
- 2 *Hidrólisis de la grasa de la leche* a ácidos grasos y glicerol por la lipasa. Es posible que la lipasa estuviese ya inicialmente en la leche o puede tener procedencia microbiana.
- 3 *Oxidación e hidrólisis combinadas* para originar rancidez.

Las especies bacterianas productoras de lipasas se encuentran en muchos géneros, por ejemplo en los géneros *Pseudomonas*, *Proteus*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Micrococcus**, *Clostridium*, y otros. Muchos mohos y algunas especies de levaduras tienen actividad lipolítica.

Pseudomonas fragi y *Staphylococcus aureus* elaboran lipasas bastante termo-resistentes, las cuales, si se encuentran en la leche fresca, es posible que resistan la pasteurización.

Producción de álcalis

El grupo de los microorganismos que producen álcalis incluyen bacterias que originan una reacción alcalina sin signos de proteolisis. La reacción alcalina puede ser debida a la formación de amoníaco, por ejemplo a partir de la urea, o de carbonatos, por ejemplo a partir de ácidos tales como el ácido cítrico. La mayoría de estas bacterias crecen a temperaturas que varían desde medianamente elevadas a bajas, y muchas son capaces de resistir la pasteurización. *Pseudomonas fluorescens* y *A. viscolactis** son ejemplos de bacterias que producen álcalis.

Modificaciones de sabor

La leche recién ordeñada tiene un sabor débil, ligero, y se modifica con facilidad. Como quiera que las distintas personas difieren en cuanto a su capacidad para descubrir los sabores y discrepan en cuanto a la descripción que de los mismos hacen, para designar los distintos sabores anormales se han propuesto varios términos más o menos descriptivos.

La leche recién ordeñada puede tener un sabor normal debido a características propias de la vaca, a que ésta padece mastitis, a la fase de lactación en que se encuentra, o a la alimentación que recibe. A continuación se definen algunos sabores anormales producidos por microorganismos.

Sabor agrio o ácido. La acidez producida por *Streptococcus lactis* y por otras bacterias lácticas se puede definir como «neta»; como «aromática», cuando crecen juntos estreptococos lácticos y especies de *Leuconostoc* productoras de aroma; y como «penetrante», cuando las bacterias coliformes, las especies de *Clostridium*, y otros microorganismos producen importantes cantidades de ácidos grasos volátiles (fórmico, acético, o butírico). Los sabores neto y aromático son deseables en los productos lácteos fermentados, pero los sabores penetrantes son indeseables.

Sabores amargos. El sabor amargo suele ser debido a la proteólisis, aunque también puede ser debido a la lipólisis e incluso a la fermentación de la lactosa. La leche de vacas que se encuentran en las últimas fases de su período de lactación tiene a veces un ligero sabor amargo. En un epígrafe anterior ya se han citado los microorganismos proteolíticos y, por lo tanto, los que comunican sabor amargo a la leche. Otros microorganismos que comunican sabor amargo a la leche son ciertas cepas de bacterias coliformes y de levaduras asporógenas. Algunos cocos comunican a la leche un sabor muy amargo, y a veces los actinomicetos le confieren un sabor amargo-enmohecido.

Sabor a socarrado o a azúcar quemado. Producen este sabor, que recuerda el de la leche cocida o sobrecalentada, ciertas cepas de *Streptococcus lactis* var. *multigenes*.

Otros varios sabores. Otros sabores que se encuentran con menor frecuencia en la leche, constituyen una larga lista, aunque sólo se mencionarán algunos de ellos: el sabor a establo producido por *Enterobacter oxytocum**; el sabor a jabón, debido a bacterias que producen amoníaco, como *Pseudomonas sapolactica**; un sabor parecido al de los nabos, producido por *Escherichia coli* y *Pseudomonas fluorescens*; un sabor a malta, producido por los micrococcos amarillos de la ubre; el sabor a frutas, debido a *P. fragi*; un sabor parecido al de la patata, producido por *P. mucidolens*; el sabor a pescado debido a *Aeromonas hydrophila* o a varios cocos que producen trimetilamina a partir de la lecitina; los sabores a tierra o a enmohecido debidos a actinomicetos; el sabor a frutas, un sabor parecido al de los ésteres y el sabor a alcohol, producidos por levaduras; el sabor a alcohol amílico, producido por los micrococcos blancos y anaranjados; y el sabor a putrefacto, producido por especies de *Clostridium*, por *P. putrefaciens**, y por otras bacterias de la putrefacción. Otros sabores han recibido las denominaciones siguientes: a sucio, a rancio, estéptico*, a aceite, a hierbas, a zanahorias, etc.

* N. del T.: Sabor metálico astringente.

La leche fresca que no ha sido enfriada convenientemente y que ha sido mantenida en un recipiente cerrado herméticamente, de modo que los productos volátiles del metabolismo bacteriano se han acumulado sobre su superficie, desprende un olor desagradable que varía en cuanto a su naturaleza. A la leche que presenta estas características se le denomina **sofocada**.

Modificaciones del color

El color de la leche o el de la nata está influido tanto por sus propiedades físicas como por su composición química, por ejemplo por la cantidad de pigmento amarillo de la grasa de la leche, por la poca consistencia de la leche, por su contenido de sangre o de pus, y por la alimentación que recibe la vaca. Las modificaciones del color debidas a microorganismos se pueden dar junto con las demás modificaciones citadas anteriormente, aunque se deben citar algunas modificaciones especiales. El color de la leche puede ser debido a que en su superficie crecen formando espuma o un anillo bacterias o mohos que elaboran pigmentos, o el color puede afectar a toda la masa de la leche.

Leche azul. Cuando se encuentra en la leche en cultivo puro, *Pseudomonas synchyanea** le comunica un color que varía de gris-azulado a parduzco, pero cuando crece en la misma junto con una bacteria productora de ácido, como es por ejemplo *Streptococcus lactis*, le comunica una coloración azul intensa. Tanto este defecto como el color azul debido al crecimiento de actinomicetos o al crecimiento de algunas especies de mohos del género *Geotrichum*, son raros.

Leche amarilla. *Pseudomonas synxantha** puede producir una coloración amarilla en la capa de nata de la leche, coincidente con la lipólisis y con la proteólisis. Algunas especies del género *Flavobacterium* también pueden comunicar a la leche una coloración amarilla.

Leche roja. La coloración roja de la leche suele ser debida a especies del género *Serratia*, por ejemplo a *Serratia marcescens*, aunque es rara debido a que las demás bacterias crecen más que las especies que producen el pigmento rojo. *Brevibacterium erythrogenes** produce una capa de color rojo en la superficie de la leche, seguida de proteólisis. Es posible que crezca *Micrococcus roseus* y produzca un sedimento rojo, y existe una levadura que puede producir colonias de color rosa o rojo en la superficie de la leche o de la nata agrias. La presencia de sangre en la leche le comunicará color rojo. Los hematíes sedimentan o pueden ser separados mediante centrifugación.

Leche parda. El color pardo de la leche puede ser consecuencia del crecimiento de *Pseudomonas putrefaciens** o ser debida a la oxidación enzimática de la tirosina por *P. fluorescens*.

Alteración de la leche a diferentes temperaturas

A una temperatura dada de almacenamiento la mayoría de las muestras de leche fresca experimentan una serie de modificaciones típicas producidas por una sucesión de microorganismos. A temperaturas de refrigeración, es posible que la proteólisis sea iniciada por bacterias psicrótrofas, como son las especies de *Pseudomonas*, y es posible que a continuación aparezcan los mohos. A temperaturas ambientales, lo más probable es que la leche experimente una fermentación ácida, primeramente por estreptococos lácticos y bacterias coliformes y, posteriormente, como consecuencia del crecimiento de lactobacilos ácido-tolerantes. A continuación, los mohos o las levaduras que crecen en película en la superficie de la leche disminuyen su acidez, permitiendo que se produzca más ácido. Finalmente, cuando ha sido destruido la mayor parte del ácido, las bacterias proteolíticas o bacterias de la putrefacción completan la descomposición.

La pasteurización, de la manera que se emplea a escala comercial en los procedimientos HTST, destruye las levaduras, los mohos, casi todas las bacterias psicrótrofas, los coliformes, y las bacterias que producen ácido con rapidez, como por ejemplo *Streptococcus lactis*. La alteración de la leche pasteurizada depende:

- 1 De las bacterias que resisten la pasteurización, es decir, de las bacterias «termodúricas» y esporógenas
- 2 De las bacterias que llegan a la leche después de haber sido pasteurizada, de la contaminación procedente del equipo después de la pasteurización, en la operación de llenado de los envases, y en la propia operación de envasado
- 3 De la posible presencia de enzimas microbianos residuales termorresistentes
- 4 De la temperatura de almacenamiento

Por supuesto que, una vez que la leche se pasteuriza y se cierra herméticamente el envase de cartón en el que se ha introducido, la flora microbiana existente en la misma se estabiliza, a no ser que el envase de cartón pierda su integridad. Por consiguiente, la temperatura de almacenamiento determinará cuál será el microorganismo predominante y la rapidez con que se alterará la leche en cada uno de los envases de cartón. De igual modo, si la temperatura de almacenamiento permanece fija, tanto el número como el tipo de microorganismos inicialmente existentes en la leche después de su pasteurización influyen en la velocidad con que se altera. Como quiera que la leche se refrigera, su alteración suele ser debida a microorganismos psicrótrofos. El crecimiento de los microorganismos a temperaturas bajas es lento pero importante. Suponiendo que a la temperatura de 7°C el tiempo de generación es de 8 horas, una sola célula microbiana, después de 20 generaciones, se podría convertir en 1 millón de células microbianas, para lo cual habrían transcurrido de 6 a 7 días, o lo que es lo mismo, se habrían obtenido 2 millones de células microbianas en un tiempo de 7 a 8 días, ó 1 billón* de microorganismos en 10 días.

* N. del T.: Recuérdese que el «billón» de los americanos es igual a 1.000.000.000.

Teniendo en cuenta la extraordinaria refrigeración a que se somete en la actualidad la leche (tanto la fresca como la pasteurizada) y la continua tendencia a emplear temperaturas de pasteurización cada vez más elevadas, es lógico esperar que los microorganismos psicrótrofos muy termorresistentes constituyan un problema en la leche pasteurizada. Los problemas que se presentan en la actualidad en la leche pasteurizada están relacionados con los bacilos psicrótrofos esporógenos.

PRODUCTOS LACTEOS CONDENSADOS Y EN POLVO

Bajo este epígrafe se incluyen la leche evaporada (sin adición de azúcar), la leche condensada a granel, la leche congelada, la leche condensada azucarada, el suero de leche condensado o suero de mantequilla, la leche ácida desnatada condensada, y la leche en polvo. La calidad de todos estos productos lácteos depende de la calidad de la materia prima inicial desecada o condensada, ya que los defectos existentes en la materia prima fresca son transferidos al producto desecado o condensado. Todos los productos condensados tienen una concentración de solutos medianamente elevada que inhibe el crecimiento de algunas bacterias. La leche en polvo tiene un grado de humedad tan bajo que no ofrece problemas de alteración microbiana si se manipula convenientemente. Un porcentaje de humedad superior al 8 por cien podría permitir el crecimiento de algún moho. La única alteración del suero de mantequilla y de la leche ácida desnatada es debida a mohos cuando la superficie de estos productos lácteos está expuesta al aire. La elevada concentración de ácido y de solutos impide el crecimiento de las bacterias o de las levaduras.

Leche condensada a granel

Las temperaturas de precalentamiento que se emplean en la fabricación de la leche condensada corriente son equivalentes a temperaturas no superiores a las temperaturas de la pasteurización, y el tratamiento de evaporación tiene lugar a una temperatura lo suficientemente baja como para que permita el crecimiento de los microorganismos termófilos. Por consiguiente, a pesar de que se refrigera, este producto lácteo tiene una vida comercial corta y está expuesto a ser alterado por bacterias termodúricas que toleran el aumento de la concentración de solutos en el producto condensado. En la leche condensada sobrecalentada la temperatura se eleva hasta 65,6–76,7°C durante la introducción de vapor de agua, tratamiento que probablemente destruye la mayoría de las células vegetativas de las bacterias, pero no las esporas. Además, este producto tiene una vida de almacén corta.

Leche evaporada

La leche evaporada no azucarada se enlata y se somete a tratamiento térmico mediante vapor de agua a presión, intentando con ello conseguir la destrucción de la totalidad de los microorganismos que contiene. Solamente se puede alterar cuando el tratamiento térmico es insuficiente o cuando las imperfecciones de la lata permiten la penetración de microorganismos. Es posible que las esporas bacterianas que resisten el tratamiento térmico sean la causa del abombamiento de los botes, de la coagulación de la leche, o de la aparición de un sabor amargo.

El abombamiento de los botes se debe principalmente a bacterias anaerobias esporógenas aerógenas (*Clostridium*), aunque es posible que si se llenan en exceso los botes con leche fría tenga lugar su abombamiento. Los constituyentes ácidos de la leche al atacar el hierro del bote pueden originar el desprendimiento de gas hidrógeno y abombar el bote después de un almacenamiento prolongado. Es posible que la coagulación de la leche dentro del bote varíe desde la formación de unos cuantos flóculos hasta la formación de un coágulo compacto. Suelen ser responsables de la coagulación especies del género *Bacillus* que pueden ser: especies mesófilas, como por ejemplo *B. cereus*, *B. subtilis*, y *B. megaterium*; una especie termófila facultativa, *B. coagulans*; o una especie termófila estricta, *B. calidolactis**. El tamaño del coágulo depende, hasta cierto punto, de la cantidad de aire existente en el interior del bote. La alteración de la leche por termófilos no debe causar problemas si la leche se enfría rápidamente y se mantiene refrigerada, aunque en los trópicos puede causarlos.

El sabor amargo suele ser consecuencia de la proteólisis llevada a cabo por especies del género *Bacillus* y, con menor frecuencia, por especies del género *Clostridium*. En contadas ocasiones, es posible que algunas especies de este último género puedan ser agentes causales de putrefacción.

En la alteración como consecuencia de fugas, que se pone de manifiesto por la presencia de bacterias asporógenas, puede haber desprendimiento de gas y abombamiento de los botes por bacterias coliformes o por levaduras, coagulación de la leche producida por estreptococos, o aparición de un sabor amargo producido por cocos.

Leche condensada azucarada

La leche condensada azucarada ha sido sometida a una temperatura bastante elevada (de 71,1 a 100°C) durante el calentamiento previo y a un tratamiento térmico de menor intensidad (con temperaturas comprendidas entre 48,9 y 54,4°C) durante la condensación, de forma que han sido destruidas las levaduras, los mohos y la mayoría de las células bacterianas vegetativas. Además, este producto lácteo contiene una elevada concentración de azúcares, aproximadamente entre un 55 y 60 por cien de azúcares totales (lactosa más azúcar* añadido).

*N. del T.: Sacarosa.

Además, se hace el vacío en el bote y se cierra. Su alteración, por consiguiente, es debida principalmente a microorganismos que han penetrado en el bote después de aplicados los tratamientos térmicos, sobre todo si en el mismo existe aire. Los principales tipos de alteración son: (1) la producción de gas por levaduras que fermentan la sacarosa o, más rara vez, por bacterias coliformes, (2) el espesamiento debido a micrococos, los cuales probablemente producen enzimas parecidos a la renina, y (3) la aparición de «botones» que son colonias de mohos que crecen en la superficie de la leche. El tamaño de estos botones depende de la cantidad de aire existente en el interior del bote. Esta alteración se ha atribuido a especies del género *Aspergillus*, por ejemplo a *A. repens*, y del género *Penicillium*.

POSTRES CONGELADOS

Los postres congelados incluyen los helados, la leche helada, las natillas congeladas, los sorbetes y los polos. Los ingredientes pueden ser diversas combinaciones de leche, nata, leche evaporada, leche condensada, leche en polvo, colorante, aromatizantes, frutas, nueces, agentes edulcorantes, huevos y ovoderivados, y agentes estabilizantes. Cualquiera de estos ingredientes puede aportar microorganismos al producto acabado e influir en la calidad del postre cuando ésta se valora por el número de bacterias que contiene o por contener determinadas especies de bacterias, como, por ejemplo, bacterias coliformes. No obstante, por lo general, los postres congelados no suelen estar expuestos a alteraciones mientras se conservan congelados. Los únicos tipos importantes de alteración son los que tienen lugar en los ingredientes antes de mezclarlos o en la mezcla de los mismos antes de congelarla. Puesto que la mezcla se pasteuriza antes de congelarla, no debe haber problemas de alteración a no ser que se mantenga temperaturas por encima de la temperatura de congelación durante un tiempo considerable, en cuyo caso la pueden agriar bacterias productoras de ácido.

MANTEQUILLA

Muchas de las alteraciones de la mantequilla tienen su origen en la nata con la cual se fabrica, sobre todo cuando ha permanecido durante varios días en la granja antes de ser recogida por la factoría de mantequilla. Durante este tiempo pueden crecer en ella bacterias lácticas, bacterias que producen gas, y otros microorganismos capaces de alterarla, y a continuación pueden crecer en ella mohos, por ejemplo *Geotrichum candidum*. Las levaduras que fermentan la lactosa, que sólo se encuentran en la nata en algunas ocasiones, pueden crear una elevada presión

de gas en el interior de los envases que contienen la nata. De hecho, la mayoría de los tipos de alteración descritos para la leche en la primera parte de este capítulo se podrían dar en la nata y podrían afectar a la mantequilla elaborada a partir de la misma.

Tanto la probabilidad de que se altere como el tipo de alteración dependerán de la clase de mantequilla y del ambiente donde se conserva. Debido a la elevada concentración de sal existente en la escasa cantidad de humedad que contiene, con relación a la mantequilla que no contiene sal, existe menor probabilidad de que en la mantequilla salada crezcan microorganismos. En general, la mantequilla que se elabora con nata dulce se conserva mejor que la que se elabora con nata agria. En la actualidad, la mayor parte de la mantequilla de este país¹ se fabrica con nata pasteurizada, en la cual se han destruido casi todos los microorganismos. Asimismo, la mantequilla se suele conservar refrigerada, y durante su almacenamiento en el comercio se mantiene en torno a $-17,8^{\circ}\text{C}$, temperatura que no permite que se multipliquen los microorganismos. Por las razones expuestas, las bacterias no suelen multiplicarse en la mantequilla y, en el caso de que se multipliquen en ella, su crecimiento no es abundante. No obstante, el sabor de la buena mantequilla es tan delicado que cualquier multiplicación de microorganismos que tenga lugar en ella, por insignificante que sea, puede alterar notablemente su sabor.

Sabores anormales

Según ya se ha indicado, los sabores no deseables de la mantequilla pueden tener su origen en la nata, que puede adquirirlos del pienso que come la vaca, absorberlos del ambiente, o pueden aparecer en ella como consecuencia del crecimiento de microorganismos. Alimentos tales como las cebollas, los ajos, la especie *Galinsoga parviflora*², el mastuerzo³, y el ensilado de mala calidad aportan sabores anormales a la nata. Los compuestos volátiles que pueden ser absorbidos a partir del aire ambiental constituyen los olores procedentes del establo y de los compuestos químicos que en el mismo se emplean, por ejemplo el queroseno, la gasolina, los sprays anti-moscas, los desinfectantes, etc. La multiplicación de los microorganismos en la nata y en la leche de la cual se obtiene, puede dar lugar a cualquiera de los siguientes sabores desagradables:

- 1 Sabor a queso, producido por lactobacilos
- 2 Sabor a rancio, como consecuencia de la actividad lipolítica llevada a cabo por bacterias y mohos y, tal vez, debido a la lipasa existente en la nata
- 3 Sabor a establo, producido por especies del género *Enterobacter*

¹ N. del T.: Estados Unidos.

² N. del T.: Planta de la América tropical, aclimatada y perjudicial como adventicia en Europa y en el NO. de América.

³ N. del T.: Conocida también con el nombre de lepidio (*Lepidium ativum L.*). Planta crucifera, hortense, de flores blancas y pequeñas dispuestas en racimo; tiene sabor picante.

- 4 Sabor a malta, producido por *Streptococcus lactis* var. *multigenes**
- 5 Sabor a levadura, producido por levaduras
- 6 Sabores a enmohecido, debidos a mohos y a actinomicetos
- 7 Sabores metálicos, producidos por metales disueltos en natas de elevada acidez
- 8 Sabor insípido, como consecuencia de la destrucción del diacetilo por bacterias como por ejemplo por algunas especies del género *Pseudomonas*
- 9 Sabor muy ácido, cuando la nata tiene una acidez excesiva
- 10 Sabor «a sucio», producido por las bacterias coliformes

El empleo de procedimientos inadecuados para tratar la mantequilla pueden originar un sabor a cocido debido a que se pasteuriza la nata a una temperatura excesivamente elevada, o un sabor «a neutralizante» si se emplea una cantidad excesiva de agente neutralizante, si se distribuye de forma irregular en la nata, o si se lleva a cabo la pasteurización antes de que se alcance el estado de equilibrio. Lo mismo que la nata, la mantequilla absorbe con facilidad los compuestos volátiles existentes en el aire ambiental. En la mantequilla, los microorganismos pueden producir los siguientes:

- 1 *Corrupción superficial*, también conocida como «rabbito» o «podredumbre», que se atribuye a *Pseudomonas putrefaciens**, aportada generalmente por el agua con que se lava la mantequilla, por las batidoras de mantequilla, o por el equipo. Este defecto es más grave en la mantequilla a la que no se le añade sal o a la que se le añade poca cantidad. El olor «a pies sudados» se debe principalmente al ácido isovalérico.
- 2 *El olor a pescado*, producido por *Aeromonas hydrophila*.
- 3 Sabores que recuerdan a los de los ésteres, debidos a la actividad de *Pseudomonas fragi*.
- 4 *Sabores que recuerdan al olor que desprenden las mofetas*, producidos por *P. mephitica*.
- 5 *Sabores que recuerdan el olor del queso de Roquefort*, producidos por mohos.

Los sabores debidos a reacciones químicas incluyen: (1) la rancidez, producida por la lipasa de la nata, (2) el sabor a sebo, debido a la oxidación de las grasas no saturadas catalizada por el cobre y por enzimas bacterianos y favorecida por el pH bajo, por la temperatura de pasteurización baja, por la sal, por el aire, y por el ozono, y (3) el sabor a pescado, debido a la producción de trimetilamina a partir de la lecitina. Contribuyen en la aparición de este defecto la elevada acidez, la sal, el excesivo batido de la mantequilla, y la presencia de cobre.

Colores anormales

Algunos colores anormales no producidos por microorganismos son: el moteado debido a un batido insuficiente, un color rosado producido por el refrigerante

de dióxido de carbono que actúa sobre el color de la mantequilla, el ennegrecimiento superficial debido a la pérdida de agua de las capas superficiales, y el blanqueo que acompaña al sabor a sebo.

Los colores anormales, principalmente los que son superficiales, pueden ser producidos por mohos, por levaduras o por bacterias que tienen su origen en las batidoras, en las empaquetadoras, en los moldes, en los circuitos, en las cubas, en el aire, o en la nata si ésta no ha sido pasteurizada. El crecimiento de mohos provistos de color da lugar a un color humo anormal o de tipo *Alternaria*, con zonas oscuras, de color humo, o (rara vez) verdosas en aquellos lugares en los que han crecido especies de los géneros *Alternaria* o *Cladosporium*, o motas negras de pequeño tamaño debidas al crecimiento de mohos del género *Stemphylium*. *Penicillium* produce una coloración anormal verde, los mohos de los géneros *Phoma* o *Alternaria* zonas de color pardo, y las especies de *Geotrichum* (sinónimo, *Oospora*) producen motas anaranjadas o amarillas. *Fusarium culmorum* puede producir zonas de un color rosado-rojizo intenso. Las levaduras a veces crecen dando colonias de color rosa. En la mantequilla con un contenido medio de sal, *Pseudomonas nigrificans** produce el «ahumado negro» de tono pardo-rojizo.

BIBLIOGRAFIA

- Aggarwal, M. L. 1974. Commercial sterilization and aseptic packaging of milk products. *J. Milk Food Technol.* 37:250-254.
- American Public Health Association. 1985. Standard methods for the examination of dairy products. 15th ed. New York.
- Cook, D. J. 1963. Radiations for the dairy industry. II. Effects of radiation in milk and milk products. *Dairy Ind.* 28:465-470, 536-540.
- Cuthbert, W. A. 1964. The significance of thermophilic organisms in milk. *Int. Dairy Fed. Annu. Bull.* 1964. (4):10-22.
- Elliker, P. R. 1949. Practical dairy bacteriology. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Flake, J. C., A. E. Parker, J. B. Smathers, A. K. Saunders, and E. H. Marth. 1972. Methods for production of high-quality raw milk. International Association of Milk, Food, and Environmental Sanitarians, Inc., Shelbyville, Ind.
- Forss, D. A. 1964. Fishy flavor in dairy products. *J. Dairy Sci.* 47:245-250.
- Foster, E. M., F. E. Nelson, M. L. Speck, R. D. Doetsch, and J. C. Olson, Jr. 1957. Dairy microbiology. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J.
- Houran, G. A. 1964. Utilization of centrifugal force for removal of microorganisms from milk. *J. Dairy Sci.* 47:100-101.
- International Dairy Federation. 1980. Factors influencing the bacteriological quality of raw milk. Doc. No. 120, IDF, Brussels, Belgium.
- International Dairy Federation. 1981. New monograph on UHT milk. Doc. No. 133, IDF, Brussels, Belgium.
- Johns, C. K. 1971. Bacteriological testing of milk for regulatory purposes: usefulness of current procedures and recommendations for change. II. Bacteriological testing of raw milk for regulatory purposes. *J. Milk Food Technol.* 34:173-180.

- Keogh, B. P. 1971. Reviews of the progress of dairy science. Bacteriology. The survival of pathogens in cheese and milk powder. *J. Dairy Res.* 38:91-111.
- Martin, J. H. 1974. Significance of bacterial spores in milk. *J. Milk Food Technol.* 37: 94-98.
- Maxcy, R. B. 1971. Bacteriological testing of milk for regulatory purposes: usefulness of current procedures and recommendations for change. IV. Quality at the point of consumption. *J. Milk Food Technol.* 34:264-267.
- Milk pasteurization controls and tests. 1974. U.S. Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service, Food and Drug Administration, Cincinnati.
- Morse, P. M., H. Jackson, C. H. McNaughton, A. G. Leggatt, G. B. Landerkin, and C. K. Johns. 1968a. Investigation of factors contributing to the bacterial count of bulk-tank milk. I. Influence of two-day storage on results of preliminary incubation. *J. Dairy Sci.* 51:1182-1187.
- Morse, P. M., et al. 1968b. Investigation of factors contributing to the bacterial count of bulk-tank milk. II. Bacteria in milk from individual cows. *J. Dairy Sci.* 51:1188-1191.
- Morse, P. M., et al. 1968c. Investigation of factors contributing to the bacterial count of bulk-tank milk. III. Increase in count, from cow to bulk tank and effects of refrigerated storage and preliminary incubation. *J. Dairy Sci.* 51:1192-1206.
- Olson, H. C. 1971. Bacteriological testing of milk for regulatory purposes—usefulness of current procedures and recommendations for change. V. Pasteurized milk. *J. Milk Food Technol.* 34:279-281.
- Plastridge, W. N. 1958. Bovine mastitis: a review. *J. Dairy Sci.* 41:1141-1181.
- Read, R. B. 1971. Bacteriological testing of milk for regulatory purposes: usefulness of current procedures and recommendations for change. I. The problem. *J. Milk Food Technol.* 34:172-173.
- Refrigeration Research Foundation. 1974. Commodity storage manual. Refrigeration Research Foundation, Washington.
- Reinbold, G. W. 1971. Bacteriological testing of milk for regulatory purposes: usefulness of current procedures and recommendations for change. III. Raw milk quality: where do we go from here? *J. Milk Food Technol.* 34:260-263.
- Robinson, R. K. (ed.). 1981. Dairy microbiology. Volume 1. The microbiology of milk. Applied Science Publishers, London.
- Robinson, R. K. (ed.). 1981. Dairy microbiology. Volume 2. The microbiology of milk products. Applied Science Publishers, London.
- Sunga, F. C. A., D. R. Heldman, and T.I. Hedrick. 1970. Microorganisms from arms and hands of dairy plant workers. *J. Milk Food Technol.* 33:178-181.
- Thomas, S. B. 1964. Investigations on the bacterial content and microflora of farm dairy equipment. *J. Soc. Dairy Technol.* 17:210-215.
- Thomas, S. B., R. G. Druce, and K. Elson. 1960. Ropy milk. *Dairy Ind.* 25:202-207.
- Thomas, S. B., P. M. Hobson, and K. Elson. 1964. The microflora of milking equipment cleansed by chemical methods. *J. Appl. Bacteriol.* 27:15-26.
- Thomas, S. B., M. Jones, P. M. Hobson, G. Williams, and R. G. Druce. 1963. Microflora of raw milk and farm dairy equipment. *Dairy Ind.* 28:212-219.
- Torres-Anjel, M. J., and T. I. Hedrick. 1971. Spore removal by centrifugation and its effect on ultra-high temperature commercial sterilization of milk. *J. Dairy Sci.* 54:326-330.
- White, C. H., and R. T. Marshall. 1973. Reduction of shelf-life of dairy products by a heat-stable protease from *Pseudomonas fluorescens* P26. *J. Dairy Sci.* 56:849-853.

001150

Alteración de los alimentos enlatados sometidos a tratamiento térmico

En el Capítulo 6 se señaló que los tratamientos térmicos a los que se someten los alimentos para conservarlos puede variar desde una pasteurización ligera, como la que se emplea para conservar la leche y los zumos de frutas, hasta una esterilización comercial mediante vapor de agua a presión, como la que se emplea para conservar las hortalizas y las sopas enlatadas. Naturalmente, cuanto menor sea la intensidad del tratamiento térmico, tanto menos termorresistentes necesitan ser los microorganismos para sobrevivir, y tanto mayor es el número total de microorganismos y el de especies supervivientes. Siempre existe la posibilidad de que un determinado microorganismo superviviente pueda crecer y alterar un alimento si las condiciones del medio lo permiten.

CAUSAS DE ALTERACION

La alteración de los alimentos que han sido sometidos a tratamiento térmico puede ser debida a causas químicas, a causas biológicas, o puede ser debida a causas de ambos tipos. La alteración química más importante de los alimentos enlatados es el **abombamiento por hidrógeno**, consecuencia de la presión del hidrógeno liberado al actuar el ácido de un determinado alimento sobre el hierro de la lata. Favorecen el abombamiento por hidrógeno: (1) la elevada acidez de los alimentos, (2) las temperaturas de almacenamiento elevadas, (3) las imperfecciones del estañado y barnizado del interior de la lata, (4) el vacío insuficiente, y (5) la presencia de compuestos solubles de azufre y de fósforo. Otras alteracio-

nes, debidas a la interacción entre el soporte metálico de la lata y el alimento contenido en la misma incluyen: (1) la modificación del color de la superficie interna de la lata, (2) la modificación del color del alimento, (3) la aparición de sabores anormales en el alimento, (4) la turbiedad de los líquidos o jarabes, (5) la corrosión o la perforación del metal, y (6) la pérdida del valor nutritivo del alimento.

La alteración biológica de los alimentos enlatados debida a microorganismos puede ser consecuencia de una de estas dos causas o de ambas: (1) supervivencia de los microorganismos después de haber aplicado el tratamiento térmico y (2) fugas en el envase de lata, producidas después del tratamiento térmico, que permiten la entrada de los microorganismos. Es posible que los tratamientos térmicos de mediana intensidad sólo sean suficientes para permitir el adecuado almacenamiento de los alimentos durante un tiempo limitado con el concurso de otro procedimiento de conservación, como por ejemplo la refrigeración. Es probable que los microorganismos supervivientes pertenezcan a varias especies e incluso es posible que incluyan células vegetativas. El tratamiento térmico a que se someten los fiambres de carne y la pasteurización de la leche constituyen ejemplos de los citados tratamientos térmicos de mediana intensidad. Los alimentos ácidos, como por ejemplo las frutas, se tratan a temperaturas próximas a 100°C, tratamientos que destruyen todas las células vegetativas de las bacterias, las levaduras, los mohos y sus esporas, y algunas esporas bacterianas. Por lo general, las únicas supervivientes son las esporas bacterianas, las cuales no son capaces de germinar en los alimentos muy ácidos. Las esporas que resisten los tratamientos térmicos con vapor de agua a presión son las esporas bacterianas muy termorresistentes, que generalmente pertenecen sólo a una o a dos especies.

Es posible que los microorganismos que penetran en las latas a través de las grietas sean de varias especies y que no necesariamente son termorresistentes. La presencia de fugas en las latas y la posterior alteración del alimento que contienen, pueden ser debidas a la deformación de las latas vacías como consecuencia de golpes, de forma que sus juntas, tanto la lateral como las de las tapas* de la lata, son defectuosas; la manipulación brusca de las latas llenas también las puede deformar. Es posible que los microorganismos que entran en las latas procedan de la superficie de las latas llenas que se han contaminado con el equipo, sobre todo si están húmedas, o es posible que procedan del agua contaminada que se emplea para enfriarlas después de haber sido tratadas por el calor. Las fugas también pueden ocasionar la pérdida del vacío de las latas afectadas, con lo cual se favorece la alteración química o biológica del alimento. La alteración del alimento como consecuencia de las fugas del recipiente será producida por los microorganismos que hayan penetrado casualmente. El hecho de que en el interior de las latas se encuentren microorganismos conocidos como poco termorresistentes, y sobre todo el hecho de que se encuentren muchas especies, indican la existencia de fugas.

* N. del T.: Conocidas también con el nombre de «fondos».

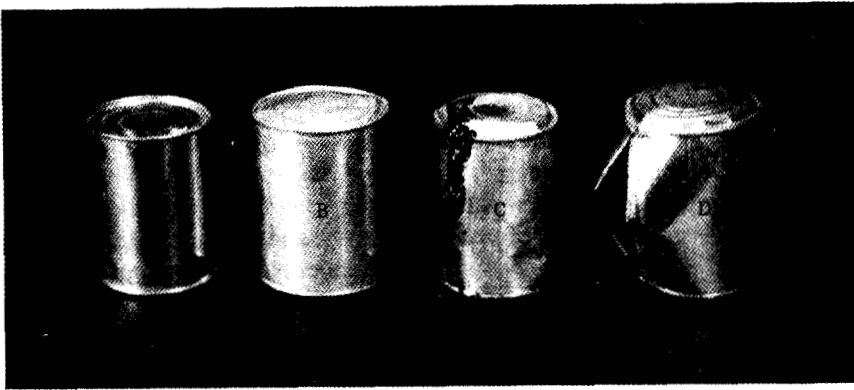


Figura 19.1. Bote normal y botes hinchados de alimentos enlatados: (A) bote normal con tapas cóncavas, (B) bote hinchado con tapas abombadas, (C) bote hinchado con fuga en el que las costuras se están abriendo, (D) bote estallado. (Fotografía tomada de la obra *Microbiology: General and Applied, 2d ed.*, by William Bowen Sarles, William Carroll Frazier, Joe Bransfield, and Stanley Glenn Knight. Copyright 1951, 1956 by Harper & Row, Publishers, Inc. Con licencia del editor.)

ASPECTO DEL RECIPIENTE ANTES DE SU APERTURA

Normalmente, a los fondos de los botes que contienen alimentos se les aplica el calificativo de **planos**, lo que significa que en realidad son ligeramente cóncavos; al mismo tiempo, en el interior del bote existe un vacío parcial. Si en el interior del bote se genera presión, como consecuencia del aumento de ésta, (Figura 19.1), el bote experimenta una serie de deformaciones que, sucesivamente, se denominan bote lanzador, bote saltador, bote con abombamiento blando y bote con abombamiento indeformable. El bote **lanzador** tiene ambas tapas planas, una de las cuales se convertirá en convexa cuando se golpea fuertemente la parte lateral del bote o cuando aumenta la temperatura del contenido. El bote **saltador** tiene ambas tapas combadas, pero una de ellas, o ambas, recuperarán la concavidad si se ejerce presión sobre ellas; o bien, si se comprime una de las tapas abombadas, la opuesta, que permanecía plana, se combará hacia afuera. Algunos emplean los calificativos «lanzador» y «saltador» para denotar la existencia de presiones ligeras en el interior del bote que no son debidas a la producción de gas, sino que son debidas a otras causas, como por ejemplo a un vacío insuficiente, al excesivo llenado, a las abolladuras de los botes, a los cambios de temperatura, etc., aunque es posible que el bote presente el mismo aspecto externo que aquéllos en los que existe producción de gas por causas microbianas o por causas químicas o por ambas causas. Un bote con **abombamiento blando** tiene ambas tapas comba-

das, aunque la presión del gas es lo suficientemente baja como para permitir que las tapas puedan ser abolladas ejerciendo sobre las mismas presión manual. Un bote con **abombamiento duro** tiene una presión interior tan elevada que resulta extraordinariamente difícil abollar las tapas mediante presión manual. Con frecuencia las elevadas presiones de gas retuercen o deforman las tapas o la costura lateral de los botes. La fase final es el estallido del bote, generalmente por la costura lateral, aunque a veces estalla por los cierres de las tapas. Un bote **que respira** es aquél que tiene una grieta diminuta que permite que el aire entre y salga a través de la misma, aunque no necesariamente permite la entrada de microorganismos al interior del bote.

Otros defectos del aspecto general del bote se observan antes y después de su apertura: abolladuras, las cuales pueden ser responsables de un bote lanzador; herrumbre; perforaciones; costura lateral o cierres de las tapas defectuosos; y corrosión.

Es posible que los recipientes de vidrio que contienen alimentos y en cuyo interior existe presión de gas tengan la tapa abombada o saltada, o es posible que el alimento se salga a través del cierre roto. Por supuesto, es posible observar signos de crecimiento microbiano a través de los lados del frasco de vidrio, como por ejemplo burbujas de gas, turbiedad y películas de crecimiento.

CLASIFICACION DE LOS ALIMENTOS ENLATADOS SEGUN SU ACIDEZ

La acidez de los alimentos enlatados es importante para determinar el tratamiento térmico necesario para conseguir su esterilización y el tipo de alteración a esperar en caso de que el tratamiento térmico sea insuficiente o de que se produzcan fugas. La National Food Processors Association ha establecido varios grupos de alimentos enlatados, respetando siempre su división en un grupo de alimentos de acidez baja, cuyo pH es superior a 4,5, y en otro grupo de alimentos de elevada acidez, con pH inferior a 4,5 (véase el Capítulo 6).

TIPOS DE ALTERACIONES BIOLÓGICAS DE LOS ALIMENTOS ENLATADOS

Las alteraciones biológicas de los alimentos enlatados debidas a microorganismos se suelen dividir en dos tipos: alteraciones producidas por bacterias termófilas y alteraciones producidas por microorganismos mesófilos. Otros sistemas de clasificación de los tipos de alteraciones se basan en las distintas modifi-

caciones que se producen en el alimento, por ejemplo la putrefacción, la putrefacción ácida, la producción de gas, y el oscurecimiento. Los tipos de alteraciones también se pueden clasificar teniendo en cuenta los alimentos a los cuales afectan. Los tres tipos de alteraciones biológicas más importantes de los alimentos que se venden enlatados (los cuales se describen a continuación) son: el agriado plano, la alteración por TA, y la putrefacción. Un cuarto tipo importante de alteración, debida a la actuación de los alimentos ácidos sobre el hierro de la lata, produce el **abombamiento por hidrógeno**.

Tipos de alteración por bacterias esporógenas termófilas

La mayoría de los casos de alteración de alimentos enlatados tratados por el calor que se venden en el comercio, son debidos a bacterias termófilas porque sus esporas son más termorresistentes que las de la mayoría de las bacterias mesófilas. Los tres principales tipos de alteración por bacterias termófilas son: el agriado plano, la alteración por TA, y la alteración sulfhídrica o «putrefacción sulfhídrica».

Agriado plano. La denominación de este tipo de alteración deriva del hecho de que las tapas de los botes que contienen el alimento permanecen planas durante el agriado, es decir, durante la producción de ácido láctico en el alimento por las bacterias lácticas del agriado plano. Como quiera que los botes conservan su aspecto externo normal, este tipo de alteración no se puede detectar inspeccionando los botes sin abrirlos, sino que para ello se deben realizar cultivos a partir del contenido de los botes. Este tipo de alteración se presenta principalmente en los alimentos de acidez baja, como por ejemplo en los guisantes y en el maíz (grupo I), y es producida por especies del género *Bacillus*. El agriado plano de los alimentos ácidos, como son los tomates o el jugo de tomate, lo produce *B. coagulans*, una singular especie termófila facultativa. Las distintas especies de *Bacillus* que son capaces de producir ácido en los alimentos, sin que tenga lugar la producción de gas, pueden ser mesófilas, termófilas facultativas, o termófilas estrictas. Las esporas de las especies mesófilas son las menos termorresistentes, soliendo resultar destruidas por el tratamiento térmico y, por consiguiente, rara vez intervienen en el agriado plano de alimentos de acidez baja. Las esporas de las especies termófilas, en cambio, son bastante más termorresistentes, pudiendo resistir el tratamiento térmico y posteriormente producir el agriado plano. Las especies termófilas que resisten el tratamiento térmico, como por ejemplo *B. stearothermophilus*, no producirían alteraciones a no ser que el alimento enlatado se mantuviese caliente durante algún tiempo, como ocurre cuando las latas se enfrían lentamente o cuando en los trópicos se almacenan sin refrigerar, aunque, a temperaturas ordinarias, las especies termófilas facultativas podrían crecer. La fuente inmediata de las bacterias del agriado plano suele ser el equipo de la planta de fabricación de conservas enlatadas, por ejemplo las calderas de escaldado,

aunque es posible que originariamente procedan del azúcar, del almidón, o de la tierra. La capacidad de *B. coagulans* de multiplicarse en el jugo de tomate depende del número de esporas presentes en el mismo, de la disponibilidad de oxígeno, y del pH que tenga este jugo. Este microorganismo, que es homofermentativo en condiciones próximas a la anaerobiosis, mientras que es heterofermentativo en aerobiosis, es capaz de crecer en medios con baja concentración de oxígeno.

Alteración por TA. A la bacteria responsable de este tipo de alteración se le ha dado el sobrenombre de TA, que es una abreviatura de «termófila anaerobia que no produce sulfuro de hidrógeno», o de la especie *Clostridium thermosaccharolyticum*. Se trata de una especie anaerobia esporógena termófila que produce ácido cuando crece en los alimentos. El gas, mezcla de dióxido de carbono e hidrógeno, abomba el bote si se mantiene el tiempo suficiente a temperatura elevada, pudiendo finalmente reventarlo. El alimento alterado suele tener un olor agrio o «a queso». El origen de las bacterias de esta especie es el mismo que el citado para las bacterias del agriado plano.

Alteración o «hediondez» por sulfuros. Esta alteración, producida por *Desulfotomaculum nigrificans*, se encuentra, y en tal caso con no mucha frecuencia, en alimentos de acidez baja, como son los guisantes y el maíz. Las esporas de esta bacteria están dotadas de una termorresistencia bastante menor que la que tienen las esporas de las bacterias TA del agriado plano; por lo tanto el hecho de que se encuentren en alimentos enlatados es indicio de que éstos han sido sometidos a un tratamiento térmico a todas luces insuficiente. El microorganismo que produce esta alteración es termófilo estricto y, por consiguiente, para que crezca, también es necesario que los alimentos tratados por el calor sean enfriados poco o que sean almacenados a temperaturas elevadas. Su presencia se descubre por las colonias negras (FeS) que forma en el medio agar-sulfito de hierro cuando se siembra en él el alimento alterado y, una vez sembrado, se incuba a 55°C. El sulfuro de hidrógeno formado en los botes de guisantes o de maíz, se descubre por su olor al abrir el bote. En el maíz, se puede ver un líquido de color gris azulado en el cual sobrenadan gérmenes y granos de maíz ennegrecidos. Los guisantes suelen desprender olor a H₂S, aunque no presentan una acentuada modificación del color. La procedencia de las esporas es parecida a la que tienen las esporas de las bacterias del agriado plano y las de las bacterias TA, aunque también pueden proceder, principalmente, del estiércol.

Tipos de alteración por bacterias esporógenas mesófilas

La mayoría de los casos de alteración por microorganismos mesófilos como consecuencia de un tratamiento térmico insuficiente son producidos por bacterias esporógenas pertenecientes a los géneros *Bacillus* y *Clostridium*, aunque es posible que aquellos alimentos que se someten a un calentamiento ligero, como

son los alimentos ácidos, permitan la supervivencia de bacterias asporógenas e incluso la de levaduras y mohos, microorganismos que, posteriormente, pueden provocar su alteración.

Alteración por especies mesófilas del género *Clostridium*. Es posible que algunas especies de *Clostridium*, por ejemplo *C. butyricum* y *C. pasteurianum*, fermenten los azúcares, y produzcan la fermentación de tipo butírico en alimentos ácidos o de acidez media junto con el abombamiento debido al dióxido de carbono y al hidrógeno producidos. Otras especies, como por ejemplo *C. sporogenes*, *C. putrefaciens*, y *C. botulinum*, son proteolíticas o putrefactivas que descomponen las proteínas con producción de sustancias malolientes, como son el sulfuro de hidrógeno, los mercaptanos, el amoníaco, el indol, y el escatol. Las especies anaerobias putrefactivas también producen dióxido de carbono e hidrógeno, gases que provocan el abombamiento de los botes. Las esporas de algunas especies anaerobias putrefactivas son muy termorresistentes; por consiguiente, la putrefacción junto con el agriado plano y con la alteración por TA constituyen los principales tipos de alteración biológica de los alimentos enlatados como consecuencia de someterlos a un tratamiento térmico insuficiente.

Puesto que las esporas de los clostridios sacarolíticos, a veces denominados «butíricos», están dotadas de una termorresistencia relativamente escasa, la alteración por estos anaerobios tiene lugar con mayor frecuencia en aquellos alimentos enlatados que han sido sometidos a tratamiento térmico a una temperatura de 100°C o a temperaturas inferiores, como es el caso de muchos de los alimentos ácidos enlatados, tanto de los que se venden en el comercio como de los que se preparan en las casas particulares, tratados mediante los procedimientos del agua caliente, del vapor fluyente o del horno de calor seco. Por consiguiente, se ha comprobado que alimentos ácidos enlatados, como la piña americana, los tomates, y las peras, son alterados por la especie *C. pasteurianum*. Esta alteración es más probable que ocurra cuando el pH del alimento es superior a 4,5. Los alimentos enlatados en casa, calentados a temperaturas próximas a 100°C, pueden ser alterados por las bacterias sacarolíticas con producción de ácido, dióxido de carbono e hidrógeno.

Los anaerobios de la putrefacción crecen mejor en los alimentos enlatados de escasa acidez, como son los guisantes, el maíz, las carnes, el pescado, y las aves, aunque rara vez es posible que alteren los demás alimentos. Una de las bacterias de la putrefacción, *C. botulinum*, es agente causal de intoxicaciones alimentarias, y, por ello, será estudiado en el Capítulo 24.

Alteración por especies mesófilas del género *Bacillus*. Las esporas de las distintas especies del género *Bacillus* difieren considerablemente en cuanto a su termorresistencia, aunque, en general, las esporas de las especies mesófilas no son tan resistentes como las de las especies termófilas. Las esporas de muchas bacterias mesófilas son destruidas en poco tiempo a una temperatura de 100°C o a temperaturas inferiores, aunque las de algunas especies son capaces

de resistir los tratamientos térmicos que se emplean cuando se someten los alimentos a la acción del vapor de agua a presión. Las esporas que sobreviven no necesariamente alteran los alimentos, ya que las condiciones existentes en el interior de la lata de alimento pueden no ser apropiadas para que la spora germine y se desarrolle. Muchas especies del género *Bacillus* son aerobias y, por lo tanto, no son capaces de multiplicarse en el interior de una lata en la que se ha hecho un buen vacío. Es posible que el alimento sea excesivamente ácido para que se multipliquen las bacterias, o que el medio no sea apropiado por otras causas. No obstante, se han citado casos en los que *B. subtilis*, *B. mesentericus**, y otras especies se han multiplicado en alimentos de acidez baja enlatados en casa que habían sido sometidos a un tratamiento térmico de 100°C. Los alimentos enlatados que se venden en el comercio han sido alterados por especies del género *Bacillus*, sobre todo si en las latas no se ha hecho un buen vacío. Los alimentos alterados por estas bacterias han sido principalmente conservas enlatadas de alimentos marinos, carnes y leche evaporada. Se han señalado casos en los que los aerobacilos, o especies aerógenas del género *Bacillus* (*B. polymyxa* y *B. macerans*), alteraron las conservas enlatadas de guisantes, de espárragos, de espinacas, de melocotones, y de tomate, aunque existen ciertas dudas acerca de si resistieron el tratamiento térmico. Es posible que penetrasen al interior de los botes a través de grietas existentes en los mismos. Las esporas de estas dos especies están dotadas aproximadamente de la misma termorresistencia que las esporas de *Clostridium pasteurianum*.

Alteración por bacterias asporógenas

Si en los alimentos enlatados se encuentran bacterias asporógenas viables, ello es debido a que se utilizó un tratamiento térmico muy suave o a que las bacterias penetraron a través de una grieta. Las células vegetativas de algunas especies bacterianas son bastante termorresistentes, lo que significa que son capaces de resistir la pasteurización. Entre estas bacterias termodúricas se encuentran los enterococos, *Streptococcus thermophilus*, algunas especies de los géneros *Micrococcus* y *Lactobacillus*, y el género *Microbacterium**. Se han encontrado especies de los géneros *Lactobacillus* y *Leuconostoc* productoras de ácido que crecen en conservas enlatadas de tomate, de peras y de otras frutas que han sido sometidas a tratamientos térmicos de intensidad insuficiente. Es posible que las especies heterofermentativas produzcan la suficiente cantidad de CO₂ para abombar los botes. Se han citado casos en los que se han encontrado micrococcos* en las pastas de carne y en alimentos parecidos en los que la penetración del calor es muy escasa, mientras que *S. faecalis* o *S. faecium* se encuentran con frecuencia en el jamón enlatado, alimento que sólo se esteriliza parcialmente, y es posible que sean los responsables de que se altere durante su almacenamiento.

No obstante, la presencia de bacterias esporógenas viables en los alimentos que han sido sometidos a tratamiento térmico suele indicar que en el envase existen fugas. Como quiera que el agua que se emplea para enfriar los botes es con mucha frecuencia el origen de la contaminación, los tipos de bacterias que se encuentran corrientemente en el agua suelen ser las que producen la alteración de las latas con fugas. Algunas de estas bacterias, por ejemplo las bacterias coliformes, producen el gas que abomba los botes. El minúsculo orificio a través del cual parece ser que penetran las bacterias es obstruido por una partícula del alimento, lo que permite que en el interior del bote se acumule gas a presión. Se debe tener en cuenta que, a través de una grieta, también pueden penetrar en el bote bacterias esporógenas, de modo que los aerobacilos (*B. macerans* y *B. polymyxa*) o los clostridios podrían ser los responsables de la producción de gas. En el alimento que contienen los botes con fugas, con frecuencia se encuentran bacterias que no producen gas, las cuales crecen juntamente con otras que producen gas, o bien crecen ellas solas. Es posible, por supuesto, que en los botes penetre una sola especie bacteriana, de modo que en el alimento crecería un cultivo aparentemente puro. Las bacterias esporógenas que no producen gas que es posible que penetren en los botes incluyen especies pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Proteus*, y otros. Con menor frecuencia, pueden penetrar en los botes a través de las grietas y alterar el alimento bacterias esporógenas que nada tienen que ver con las bacterias del agua.

Alteración por levaduras

Puesto que tanto las levaduras como sus esporas son destruidas por la mayoría de los tratamientos de pasteurización, su presencia en los alimentos enlatados es consecuencia de haber sido sometidos a un tratamiento térmico a todas luces insuficiente, o de la existencia de fugas. Se han descrito casos de frutas, de compotas, de jaleas, de zumos de frutas, de almíbares, y de leche condensada azucarada, alimentos, que a pesar de encontrarse enlatados, han sido alterados por levaduras fermentativas, con abombamiento de las latas por el CO₂ producido. Es posible que en la superficie de la carne de cerdo adobada en gelatina, en los encurtidos o en las aceitunas que se vuelven a envasar, y en alimentos parecidos, crezcan levaduras formadoras de película, aunque su presencia es indicio de que el alimento se ha contaminado de nuevo, o de que no ha sido sometido a tratamiento térmico, y de la existencia de un escaso vacío.

Alteración por mohos

Probablemente la causa más corriente de alteración de los alimentos que se enlatan en casa sean los mohos, los cuales penetran en los botes a través de las

fugas de sus cierres. Las compotas, las jaleas, las mermeladas, y los dulces de frutas permitirán que el crecimiento de mohos, a pesar de tener una concentración de azúcar del orden del 70 por cien, y a pesar de la elevada acidez que suele existir en estos alimentos. Se ha pretendido que el ajuste del extracto soluble de las compotas al 70-72 por cien de azúcar en presencia de un porcentaje normal de ácido comprendido entre el 0,8 y el 1,0 por cien, prácticamente eliminará el riesgo de que tenga lugar su alteración por mohos. Algunas cepas de *Aspergillus*, de *Penicillium*, y de *Citromyces*, encontradas creciendo en jaleas y en dulces de frutas, son capaces de crecer en concentraciones de azúcar de incluso el 67,5 por cien. La acidificación de los citados alimentos hasta un pH 3 evitó el crecimiento de los dos primeros mohos, mientras que el calentamiento de los mismos a 90°C durante un minuto los destruyó todos.

Algunos mohos resisten bastante bien el calor, sobre todo aquéllos que forman unas masas de micelio muy compactas denominadas esclerocios. *Byssochlamys fulva*, un moho que fermenta la pectina, está dotado de ascosporas que han resistido el tratamiento térmico a que se han sometido frutas embotelladas y enlatadas y después las han alterado. La elevada concentración de azúcar de los almíbares que rodea a las frutas protege a los microorganismos frente a la acción destructora del calor, efecto protector que aumenta si la fruta y el almíbar se introducen en los botes por separado, con lo cual, durante el tratamiento térmico, el azúcar queda localizado.

Alteración de alimentos enlatados de distinta acidez

La revisión anterior ha puesto de manifiesto que la clasificación de los alimentos enlatados a escala comercial teniendo en cuenta su pH, también los divide según los principales tipos de alteraciones que pueden experimentar. De acuerdo con ello, los alimentos de acidez baja con un pH superior a 5,3 están especialmente expuestos al agriado plano y a la putrefacción. Los alimentos cuyo pH se halla comprendido entre 5,3 y 4,5, es probable que experimenten la alteración por TA. Los alimentos de acidez elevada cuyo pH se halla comprendido entre 4,5 y 3,7, suelen ser alterados por una bacteria especial productora del agriado plano o por una bacteria anaerobia sacarolítica. Por lo general, los alimentos de acidez elevada cuyo pH es inferior a 3,7 no suelen ser alterados por microorganismos, aunque es posible que en los botes aparezcan abombamientos por hidrógeno (lo mismo puede suceder en los demás alimentos de elevada acidez).

Alteración de las carnes y pescados enlatados

En general, las carnes y los pescados enlatados presentan dos tipos principales de alteraciones: (1) por especies de *Bacillus*, las cuales producen su ablandamiento y agriado, y (2) por especies de *Clostridium* (p. ej., *C. sporogenes*), que dan

lugar al abombamiento de los botes como consecuencia de la putrefacción. Con menor frecuencia, los bacilos pueden producir ácido y gas y abombar los botes. En algunas pastas, incluso se han encontrado bacterias asporógenas. Además de la alteración por los citados microorganismos, principalmente esporógenos que han resistido el tratamiento térmico, estos alimentos pueden ser alterados por microorganismos que penetran en los botes a través de fisuras.

Las carnes curadas enlatadas, como por ejemplo el jamón o las carnes para tentempiés, alimentos que se someten a un tratamiento térmico insuficiente para esterilizarlas, pueden estar expuestas a la producción de dióxido de carbono, de óxidos de nitrógeno, o de nitrógeno gaseoso por especies del género *Bacillus* (por ej., *B. licheniformis*, *B. coagulans*, *B. cereus*, o *B. subtilis*) a partir de los nitratos, del azúcar, y de la carne, o es posible que estén expuestas a la putrefacción por especies del género *Clostridium* que va acompañada de la producción de gas. Normalmente, esta alteración se evita mediante una refrigeración apropiada. Las bacterias lácticas heterofermentativas (por ej., las especies del género *Leuconostoc*) también pueden producir gas, aunque esto ocurre solamente tras un tratamiento térmico insuficiente. La alteración de estos alimentos sin producción de gas, pero con agriado y modificaciones en su color y textura, puede ser debido a especies del género *Bacillus* y a bacterias lácticas homofermentativas (por ej., *Streptococcus faecium* o *S. faecalis*).

Tipos de alteración poco frecuentes de los alimentos enlatados

Parece ser que ciertos tipos de alteración se limitan a una o dos clases de alimentos. La alteración por sulfuro se ha señalado sólo en los guisantes y en el maíz dulce. El ennegrecimiento de la remolacha de mesa es producido por la especie mesófila *Bacillus betanigrificans** en presencia de una elevada concentración de hierro soluble. Este ennegrecimiento es diferente del resultante de la carencia de hierro en el suelo. Algunas especies de *Bacillus* pueden producir sabor amargo, acidez y coagulación en la leche, en la nata y en la leche evaporada enlatadas. La única hortaliza alcalina enlatada que tiene importancia, el maíz molido (de pH comprendido entre 6,8 y 7,8), experimenta la alteración del agriado plano, que se caracteriza porque este alimento adquiere un sabor dulzón. La carne de ave enlatada es alterada por los clostridios putrefactivos con mayor frecuencia que por los clostridios sacarolíticos, principalmente debido a la menor termorresistencia de las esporas de estas últimas.

Los botes de leche condensada azucarada pueden contener gas como consecuencia del crecimiento de levaduras o de bacterias coliformes, este tipo de leche se puede espesar por crecer en ella especies de *Micrococcus**, o puede presentar botones, los cuales están formados por pequeños acúmulos de micelio de mohos y leche coagulada, generalmente en la superficie de la leche. El tamaño de los botones está limitado por la cantidad de oxígeno libre existente en el espacio de cabeza del bote.

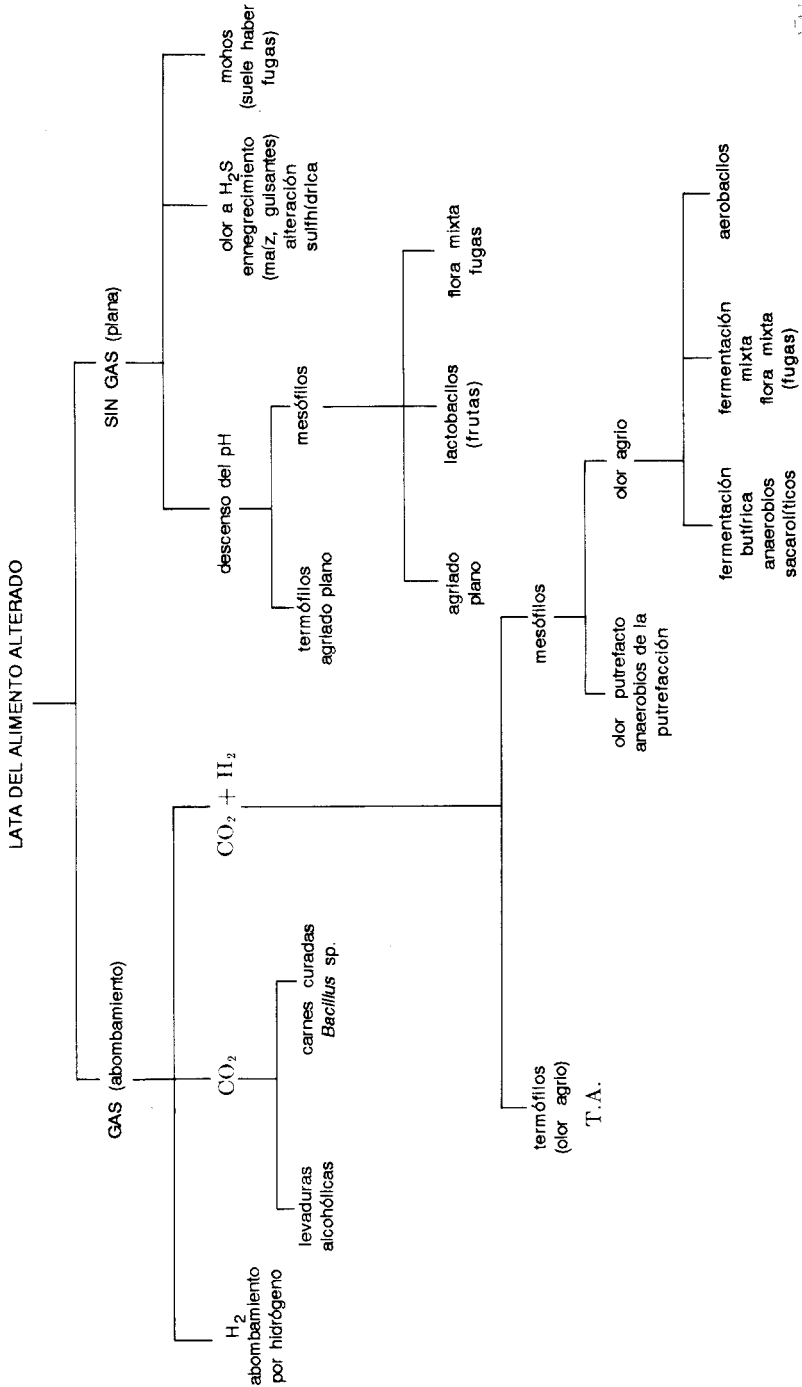


Figura 19.2. Esquema para diagnosticar la causa de alteración de un alimento enlatado.

00200

A veces, como consecuencia de la **autoesterilización**, no se pueden encontrar microorganismos viables en las latas de alimentos que han experimentado una clara alteración biológica. La totalidad de las células vegetativas han muerto, incluso las de microorganismos esporógenos que no esporularon.

En la Figura 19.2 se ofrece un esquema para diagnosticar la causa de alteración de los alimentos enlatados. Este esquema sólo es aplicable a los tipos corrientes de alteración.

BIBLIOGRAFIA

- Aschehoug, V., and E. Jansen. 1950. Studies on putrefactive anaerobes as spoilage agents in canned foods. *Food Res.* 15:62-67.
- Ayres, J. C., and A. T. Adams. 1953. Occurrence and nature of bacteria in canned beef. *Food Technol.* 7:318-323.
- Bowen, J. F., C. C. Strachan, and A. W. Moyls. 1954. Further studies of butyric fermentations in canned tomatoes. *Food Technol.* 8:471-473.
- Buttiaux, R., and H. Beerens. 1955. Gas-producing mesophilic clostridia in canned meats, with improved techniques for their identification. *J. Appl. Bacteriol.* 18:581-590.
- Cameron, E. J., and J. R. Esty. 1940. Comments on the microbiology of spoilage in canned foods. *Food Res.* 5:549-557.
- Corlett, D. A. Jr., and C. B. Denny. 1984. Canned foods—tests for cause of spoilage. *In* M. L. Speck (ed.), *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 2d ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Dakin, J. C., and P. M. Day. 1958. Yeasts causing spoilage in acetic acid preserves. *J. Appl. Bacteriol.* 21:94-96.
- Fields, M. L. 1970. The flat sour bacteria. *Adv. Food Res.* 18:163-217.
- Goldblith, S. A., M. A. Joslyn, and J. T. R. Nickerson (eds.). 1961. *An introduction to the thermal processing of foods*. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn. (Contains reproductions of early papers on bacteriological spoilage of canned foods.)
- Herson, A. C., and E. D. Hulland. 1964. *Canned foods: an introduction to their microbiology*. Chemical Publishing Company, Inc., New York.
- Hunwicke, R. F. 1928. Bacteria and the canning industry. *Food Manuf.* 1:19-20; 2:179-180, 184.
- Jarvis, N. D. 1940. Spoilage in canned fishery products. *Canning Age* 21:434-436, 444, 476-477.
- Jensen, L. B. 1954. *Microbiology of meats*, chaps. 11-13. 3d ed. The Garrard Press, Champaign, Ill.
- National Canners Association. 1968. *Laboratory manual for food canners and processors*, vols. I and II. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Potter, R. S. 1935. Jam troubles. *Food Manuf.* 10:232-233.
- Rangaswami, G., and R. Venkatesan. 1959. Studies on the microbial spoilage of canned food. I. Isolation and identification of some spoilage bacteria. *Indian Acad. Sci. Proc., Sec. B.* 50:349-359.
- Riemann, H. 1957. Bacteriology of canned fish. *Food Manuf.* 32:265-267, 333-335.

- Schmitt, H. P. 1966. Commercial sterility in canned foods, its meaning and determination. Ass. Food Drug Off. U.S. Q. Bull. 30:141-151.
- Tanikawa, E. 1958. Studies on the technical problems in the processing of canned salmon. Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ. 6:67-138.
- Vaughn, R. H., I. H. Kreulevitch, and W. A. Mercer. 1952. Spoilage of canned foods caused by the *Bacillus macerans-polymyxa* group of bacteria. Food Res. 17:560-570.

Alimentos diversos

En este capítulo se incluyen los alimentos que no se han estudiado en los grupos revisados anteriormente: los alimentos grasos, las salsas para ensaladas, los aceites esenciales, las bebidas no alcohólicas embotelladas, las especias y demás condimentos, la sal, y las nueces desprovistas de cáscara.

Los productos alimenticios confeccionados mediante mezclas de alimentos de los distintos grupos también contendrían una mezcla de sus respectivas cargas microbianas, y es posible que el nuevo alimento constituya un buen medio de cultivo para aquellos microorganismos que anteriormente habían tenido pocas posibilidades para crecer. Esta es la razón de que las levaduras procedentes del azúcar que se añade a las bebidas no alcohólicas embotelladas puedan alterarlas. Los embotelladores de bebidas carbónicas disponen de los siguientes patrones bacteriológicos para el azúcar: en 10 g no debe contener más de 200 bacterias mesófilas ni más de 10 levaduras o mohos. El agua que se emplea en su fabricación y las sustancias que se emplean para darles los distintos sabores también pueden ser posibles fuentes de contaminación. Las especias y demás condimentos que se añaden a los alimentos pueden ser fuentes importantes de microorganismos, aunque las especias se pueden tratar con el gas óxido de propileno o pueden ser tratadas con radiaciones con el fin de reducir su carga microbiana. Los microorganismos se añaden a las salsas para ensaladas con ingredientes tales como las especias, los condimentos, los huevos, y los encurtidos. La sal (cloruro sódico), sobre todo la obtenida por evaporación del agua salada por el calor de los rayos

solares, puede incorporar bacterias halófilas y halotolerantes a las salazones de pescados y a otros alimentos en salazón o en salmuera.

ALIMENTOS GRASOS

Grasas y aceites

Las partes grasas de los alimentos, los alimentos constituidos principalmente por grasas y aceites, así como las propias grasas y los propios aceites, están expuestos a alteraciones químicas con mayor frecuencia que a alteraciones por microorganismos. Además de glicéridos, las grasas y aceites naturales suelen contener pequeñas cantidades de ácidos grasos, glicerol y otros alcoholes líquidos, esteroides, hidrocarburos, proteínas y otros compuestos nitrogenados, fosfátidos, y pigmentos carotenoides. Los principales tipos de alteraciones son consecuencia de reacciones hidrolíticas, de reacciones de oxidación, o de una combinación de ambas clases de reacciones. Los términos que se aplican a los diferentes tipos de alteraciones con frecuencia se utilizan con bastante imprecisión, aunque cuando se aplican para designar la alteración de una determinada clase de grasa o de aceite pueden tener un significado concreto. El término **rancidez** a veces se utiliza para designar cualquier modificación de las grasas o de los aceites que va acompañada de sabores desagradables, prescindiendo de su causa. A la alteración debida a la oxidación, tanto si reconoce un origen químico como microbiano, se le conoce con la denominación de **rancidez oxidativa**, para diferenciarla de las modificaciones que son consecuencia de la hidrólisis, originada por las lipasas existentes inicialmente en el alimento o por las lipasas de los microorganismos, que producen la **rancidez hidrolítica**. La oxidación intensa, que suele suceder a la hidrólisis y a la liberación de ácidos grasos, puede dar lugar a la **rancidez cetónica**. La **reversión del sabor** se define como la aparición de sabores desagradables como consecuencia de una oxidación menos intensa que la necesaria para producir rancidez. Los aceites que contienen ácido linolénico, los aceites de pescado, y los aceites vegetales, por ejemplo, están expuestos a la reversión del sabor.

La oxidación de las grasas y aceites puede ser catalizada por distintos metales y radiaciones y por la humedad, y también por microorganismos; los antioxidantes, tanto si son naturales como si se añaden a los alimentos, evitan o retardan esta oxidación. La hidrólisis por la acción de las lipasas produce ácidos grasos y glicerina u otros alcoholes. Las grasas susceptibles de experimentar ambos tipos de modificaciones pueden contener oxiácidos e hidroxiácidos grasos, glicerina y otros alcoholes, aldehídos, cetonas, y lactonas; si forma parte de su composición la lecitina, pueden producir también trimetilamina, con su característico olor a pescado.

Como consecuencia de su oxidación, la grasa de la leche y las grasas de la carne adquieren sabor «a sebo», aunque se dice que la grasa de la leche está rancia cuando únicamente ha tenido lugar su hidrólisis a ácidos grasos y glicerina.

Algunos de los pigmentos que producen los microorganismos son liposolubles y, por lo tanto, son capaces de difundir en las grasas y originar modificaciones de su color que varían desde el amarillo a los colores rojo, morado y pardo. En la carne, la mejor conocida de estas modificaciones del color de las grasas es la que se conoce con la denominación de color de «tinta de estampilla» que Jenson (1937) y otros han demostrado que es debida a micrococos* y a bacilos que producen un pigmento amarillo. El pigmento liposoluble es un indicador de O-R que, conforme la grasa va siendo más oxidada por los peróxidos producidos por las bacterias, vira desde el color amarillo a verde y azul. Diferentes especies de bacterias, de levaduras y de mohos pueden elaborar pigmentos liposolubles de color amarillo, rosa y rojo.

A muchos de los aceites vegetales y animales estables les han sido atribuidas propiedades bacteriostáticas y bactericidas, aunque la mayoría de ellos, como por ejemplo las grasas, pueden ser hidrolizados y oxidados por los microorganismos. Por lo general, estas grasas tienen un contenido de humedad muy bajo, circunstancia que favorece más a los mohos que a los demás microorganismos. Los mohos ocasionan tanto la descomposición oxidativa como la descomposición hidrolítica de las grasas dando lugar a su enranciamiento. Las bacterias que enrancian la mantequilla producen una alteración parecida en el aceite de oliva. Entre las bacterias capaces de descomponer las grasas se encuentran especies de los géneros *Pseudomonas*, *Micrococcus**, *Bacillus*, *Serratia*, *Achromobacter**, y *Proteus*; y entre los mohos, especies de los géneros *Geotrichum*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, y *Monilia*. Algunas levaduras, sobre todo las que crecen formando película, son lipolíticas. La manteca de copra y la manteca de cacao pueden ser alteradas por mohos.

Salsas para ensaladas

Las salsas para ensaladas contienen aceite, el cual puede ser oxidado o hidrolizado, y la suficiente humedad para permitir la multiplicación de los microorganismos. No obstante, en la mayoría de estas salsas, la acidez (pH que oscila en torno a 3 y 4) es excesivamente elevada para la mayoría de las bacterias, aunque es favorable para las levaduras y para los mohos. Los huevos y los productos derivados de los mismos, los encurtidos, los condimentos, los pimientos, el azúcar, el almidón, las gomas, la gelatina, las especias y demás ingredientes pueden añadirles microorganismos, a veces en cantidades importantes, y pueden convertir a estas salsas en un medio de cultivo más apropiado para la multiplicación de los microorganismos. Los tres tipos de alteración de la salsa mahonesa y salsas parecidas son : (1) la separación del aceite o del agua de la emulsión, (2) la oxidación y la hidrólisis de los aceites por acción química o biológica, y (3) la

multiplicación de microorganismos que producen gas, sabores anormales, u otros defectos. A veces tiene lugar su oscurecimiento.

La descomposición de las salsas para ensaladas y de los alimentos relacionados con ellas puede ser debida a bacterias, a levaduras o a mohos. Su acidez, junto con su porcentaje de azúcar, que por término medio se encuentra en torno al 4,5 por cien en la fase acuosa de la mahonesa, es más favorable para las levaduras, habiéndose citado casos en los que estos microorganismos producen gas. Se han encontrado especies de los géneros *Zygosaccharomyces* y *Saccharomyces* que han alterado mahonesas, salsas para ensaladas y salsas francesas. Para que las bacterias pudiesen alterar la mayoría de los tipos de salsas para ensaladas, tendrían que ser ácido-tolerantes. Por consiguiente, no es sorprendente enterarse de casos en los que un lactobacilo heterofermentativo parecido a *Lactobacillus brevis* produce gas en las salsas para ensaladas. Más sorprendente es el caso que se cita de especies del género *Bacillus*, por ejemplo, *B. subtilis* y *B. megaterium*, como microorganismos que producen gas, enranciamiento y separación de las fases de la salsa, ya que estas especies no son ácido-tolerantes. Las levaduras que crecen junto con *B. megaterium* podrían explicar la producción de gas. Se ha señalado el oscurecimiento y la separación de las fases de la salsa de Thousand Island, cuyo pH está comprendido entre 4,2 y 4,4, por *B. vulgatus** procedente de la pimienta y del pimentón. Si disponen de aire, los mohos son capaces de crecer en la superficie de las salsas para ensaladas y su crecimiento es favorecido por la adición de almidón o de pectina a este tipo de salsas. Si se desea conocer más pormenores sobre estas salsas, se debe consultar la extensa revisión sobre la microbiología de la salsa mahonesa y de las salsas para ensaladas llevada a cabo por Smittle (1977).

ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales o aceites volátiles son productos obtenidos del reino vegetal en los cuales se encuentran concentradas propiedades de olor y de sabor. No presentan problemas de alteración, sino que por el contrario es posible que tengan cierta acción conservadora como ingredientes de los alimentos, como es el caso de los aceites de mostaza, de canela, de ajo y de cebolla. La mayoría de ellos no influyen en la termorresistencia de los microorganismos.

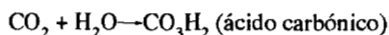
BEBIDAS EMBOTELLADAS

La alteración de las bebidas alcohólicas se estudiará en el Capítulo 22. Tanto la facilidad con que se alteran las bebidas no alcohólicas como el tipo de alteración

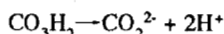
que experimentan, dependen de la composición de las bebidas refrescantes. La carbonación¹ inhibe a algunos microorganismos e incluso se comporta como germicida, mientras que la acidez resultante de la disolución del anhídrido carbónico y de la adición de ácidos, por ejemplo, de los ácidos cítrico, láctico, fosfórico, tartárico, y málico, inhibe el crecimiento de los microorganismos que no toleran la acidez. Como conservador de estas bebidas también se les puede añadir ácido benzoico (75 mg/kg). Las bebidas no ácidas, como por ejemplo la cerveza de raíces², son medios de cultivo más apropiados que las bebidas ácidas, como por ejemplo las bebidas de cola, la cerveza de jengibre, y las bebidas con aromas de frutas, para los microorganismos que las alteran. Los ingredientes de las bebidas refrescantes no sólo influyen en la adecuación para que en este tipo de bebidas crezcan microorganismos, sino que también influyen en el tipo y número de microorganismos existentes en las mismas, y por consiguiente, en la posibilidad de que les sean añadidos microorganismos capaces de alterarlas. Además, tanto las botellas como sus cierres son posibles fuentes de contaminación. El agua que se destina a la fabricación de bebidas refrescantes se purifica en razón de su contenido en carbonatos y sales minerales, y se filtra. La filtración puede eliminar microorganismos o añadirlos si el filtro está muy sucio. Para destruir los microorganismos del agua a veces se utilizan los rayos ultravioleta. El crecimiento de algas en el agua puede dar lugar a una coloración anormal y a la formación de un precipitado lanoso. Para destruir las algas del agua, se ha recomendado tratarla con cloro o con dióxido de cloro, y filtrarla, por ejemplo con tierra de diatomeas, para eliminar las células muertas incluidas en el precipitado lanoso.

Las levaduras, principalmente las pertenecientes a los géneros *Torulopsis* y *Candida*, son la causa de alteración más probable de las bebidas refrescantes, ya que la mayoría de estas bebidas son ácidas y contienen azúcar. Un investigador comprobó que el 85 por cien de 1.500 muestras de bebidas carbónicas alteradas lo había sido por levaduras. Como quiera que las levaduras pueden tener su origen en el azúcar, los embotelladores de bebidas carbónicas de América han fijado como patrón que 10 g de azúcar seco no deben contener más de diez levaduras. Los concentrados de frutas son otro posible origen de levaduras.

¹ N. del T.: Adición de CO₂, el cual, al disolverse en el agua (a presión ordinaria y a 15°C de temperatura, 1 volumen de anhídrido carbónico se disuelve en 1 volumen de agua) da lugar a la formación de ácido carbónico según la siguiente ecuación de equilibrio:



y el CO₃H₂, a su vez, se disocia electrolíticamente:



La disolución del anhídrido carbónico en el agua no es puramente física a pesar de que obedece a la ley de Henry (La solubilidad de los gases que no reaccionan con el disolvente es directamente proporcional a su presión parcial).

² N. del T.: La denominada «root beer» es una cerveza sin alcohol elaborada a base de extractos de diversas raíces.

Los tipos de alteración que se presentan en las bebidas refrescantes son la turbiedad y la viscosidad. La turbiedad es consecuencia del crecimiento abundante de distintas levaduras o bacterias, mientras que la viscosidad es debida al crecimiento de bacterias capsuladas, la mayoría de las cuales parece ser que pertenecen al género *Bacillus*. Las bacterias pueden proceder de los ingredientes que se emplean para fabricar este tipo de bebidas, de las botellas, o de los cierres. En bebidas refrescantes alteradas, a veces se pueden aislar especies de los géneros *Gluconobacter*, *Lactobacillus*, y *Leuconostoc*. En la cerveza de raíces se encontró una especie del género *Achromobacter* que le comunicaba olor y sabor a enmohecido.

Puesto que los mohos necesitan disponer de aire, no son capaces de crecer en la superficie de las bebidas carbónicas, pero pueden hacerlo en la superficie de las bebidas no carbónicas en las que por encima del nivel líquido existe aire. Los mohos pueden proceder del azúcar, de los colorantes o de los aromatizantes, del aire, o de las botellas y de los cierres.

ESPECIAS Y DEMAS CONDIMENTOS

Las especias secas no están normalmente expuestas a alteraciones, aunque el crecimiento de mohos durante el tratamiento de su desecación puede añadirles una gran cantidad de esporas de mohos. Las salsas para patatas fritas condimentadas con hortalizas o con especias suelen tener recuentos totales de coliformes y de mohos que son más elevados que los de las que se condimentan con queso. Según ya se ha dicho, el tratamiento de las especias con óxido de propileno reduce de forma importante su contenido de microorganismos. Otros tratamientos que reducen su flora inicial incluíran el empleo de radiaciones, el vapor de agua, los vapores calientes de etanol, y los tratamientos ácidos seguidos de neutralización. Las especias se pueden adquirir con la garantía de que contienen un reducido número de microorganismos.

La mostaza preparada puede ser alterada por levaduras y por especies de *Proteus* y de *Bacillus*, las cuales, generalmente, dan lugar a una fermentación con producción de gas. El rábano picante rara vez se altera, sino que, por el contrario, es desde bacteriostático a bactericida. La alteración del vinagre se estudia en el Capítulo 22.

SAL

Las tres clases de sal que se emplean en los alimentos son: (1) la *sal solar* procedente de la evaporación de extensiones de agua salada, (2) la *sal extraída de*

yacimientos o sal gema, y (3) la sal de manantial que procede de depósitos subterráneos de sal que disuelve el agua. La sal solar contiene microorganismos halófilos, como por ejemplo *Halobacterium salinarium*. Aproximadamente las tres cuartas partes son bacterias pertenecientes al género *Bacillus*, y el resto pertenecen a los géneros *Micrococcus** y *Sarcina*. Se ha comprobado que la sal procedente de yacimientos contiene, aproximadamente, un 70 por cien de *Micrococcus**, un 20 de bacterias corineformes, y un 4 por cien de *Bacillus*; también se han encontrado bacterias anaerobias de la putrefacción. La sal húmeda que se emplea contiene un promedio de 10 a 1.000 microorganismos por gramo. Sin embargo, la mayoría de las sales purificadas añaden pocos microorganismos a los alimentos.

NUECES DESPROVISTAS DE CÁSCARA

La pulpa de las nueces, cuando se encuentra dentro de la cáscara suele ser estéril o casi estéril. Las nueces desprovistas de cáscara que tienen que utilizarse como ingredientes de algunos alimentos, por ejemplo, en los postres congelados, pueden estar contaminadas con bacterias, con levaduras y con mohos. La prueba de bacterias coliformes se utiliza con mucha frecuencia para descubrir la posible contaminación con materia fecal durante su manipulación. El tostado y el calentamiento en una solución azucarada reduce su carga microbiana. Los mohos que crecen en la superficie de la pulpa de nuez pueden producir micotoxinas, de igual modo que en los cacahuetes producen aflatoxinas (véase el Capítulo 2).

OTROS ALIMENTOS

El elevado número de productos alimenticios que se exhiben en las estanterías de un supermercado es ejemplo de la gran variedad de alimentos comerciales, de alimentos convencionales y de alimentos preparados existentes. La microbiología de cada uno de estos tipos de alimentos también es distinta. Añádase a esta lista el gran número de alimentos que se preparan en el comercio y que se venden o distribuyen a nivel local o regional, y es evidente que resulta imposible estudiar las alteraciones microbianas de todos ellos. La Tabla 20.1 es una muestra de los distintos alimentos que han sido estudiados. Seguramente no se trata de una lista completa, aunque incluye una serie de alimentos que no han sido estudiados en los capítulos que tratan de los distintos alimentos.

Tabla 20.1. Algunas referencias sobre diversos alimentos.

Artículo	Comentarios	Referencia
Pasteles rellenos de nata	Antecedentes de enfermedades alimentarias	Bryan (1975)
Alimentos higienizados	Comparación microbiológica con los alimentos tradicionales	Appledorf y otros (1973)
Alimentos asados	Implicaciones de salud pública	Todd y Pivnick (1972)
Espicias y hierbas aromáticas	Calidad microbiológica	Seligmann y Frankblum (1974)
	Perfil microbiológico	Julseth y Deibel (1974)
	Microbiología	Powers y otros (1975)
Carne de caza mayor (Wyoming)	Calidad microbiológica	Smith y otros (1973)
Comestibles finos	Calidad bacteriológica	Pace (1975)
		Harris y otros (1975)
Ensaladas de comestibles finos	Calidad microbiológica	Fowler y Clark (1975)
Hamburguesas de venta mecanizada	Calidad microbiológica	Mueller (1975)
Pecanas*	Salmonelas	Beuchat y Heaton (1975)
Tortillas de maíz	Microflora	Capparelli y Mata (1975)
Champiñones frescos	Crecimiento de <i>Clostridium botulinum</i>	Sugiyama y Yang (1975)
Ensalada de col	Vida latente de los microorganismos	King y otros (1976)
Pescado empanado	Calidad microbiológica	Baer y otros (1976)
Anillos de cebolla empanados «Soul food»	Calidad microbiológica	Wentz y otros (1984)
Ensaladas de hortalizas	Poblaciones bacterianas	Stewart (1983)
	Aislamientos gramnegativos	Wright y otros (1976)
Ensaladas preparadas comercialmente	Perfil microbiológico	Terry y Overcast (1976)
Ensaladas frescas	Estudio microbiológico	Fowler y Foster (1976)
Tofu	Calidad microbiológica	Rehberger y otros (1984)
Pastas alimenticias	Cinética de la muerte de patógenos	Hsieh y otros (1976)
Productos de coco	Perfil microbiológico	Kajs y otros (1976)
		Kinderler (1984)
Bloques de carne	Destino de los contaminantes	Maxcy (1976)
Mezclas de sopas deshidratadas	Calidad microbiológica	Komarik y otros (1974)
Sopas y salsas deshidratadas	<i>Clostridium perfringens</i>	Nakamura y Kelly (1968)
Coco en polvo	Perfil microbiológico	Gabis y otros (1970)
Sucedáneos de queso	<i>Clostridium botulinum</i>	Kautter y otros (1981)
Soluciones nutritivas entéricas	Crecimiento de bacterias	Fagerman y otros (1984)

(continúa)

* N. del T.: Frutos comestibles de un árbol yuglandáceo americano cuya madera, parecida a la del nogal, es muy apreciada.

Tabla 20.1. (continuación).

Artículo	Comentarios	Referencia
Alimentos precocinados congelados	Calidad microbiológica	Peterson y Gunnerson (1974)
Ancas de rana	Salmonelas	Rao y otros (1978)
Agua mineral	Calidad microbiológica	Schmidt y Lorenz (1976)
Café instantáneo	Perfil microbiológico	Vanos y Bindschedler (1985)
Mezclas de carne de vaca y soja	Estabilidad microbiológica	Bell y Shelef (1978)
Empanadas de carne de vaca y soja	Recuentos total y de coliformes	Craven y Mercuri (1977)
Carne picada de vaca con soja	Bacterias alterantes	Harrison y otros (1983)
Expansores de proteína de soja	Calidad microbiológica	Swartzentruber (1984)

BIBLIOGRAFIA

- Anderson, E. E., W. B. Esselen, Jr., and A. R. Handleman. 1953. The effect of essential oils on the inhibition and thermal resistance of microorganisms in acid food products. *Food Res.* 18:40-47.
- Appledorf, H., W. B. Wheeler, and J. A. Koburger. 1973. Health foods versus traditional foods: a comparison. *J. Milk Food Technol.* 36:242-244.
- Appleman, M. D., E. P. Hess, and S. C. Rittenberg. 1949. An investigation of a mayonnaise spoilage. *Food Technol.* 3:201-203.
- Baer, E. F., A. P. Duran, H. V. Leininger, R. B. Read, Jr., A. H. Schwag, and A. Swartzentruber. 1976. Microbiological quality of frozen breaded fish and shellfish products. *Appl. Environ. Microbiol.* 31:337-341.
- Bain, N., W. Hodgkiss, and J. M. Shewan. 1958. The bacteriology of salt used in fish curing: the microbiology of fish and meat curing brines. II Int. Symp. Food Microbiol. Proc. pp. 1-11 (1957).
- Bell, W. N., and L. A. Shelef. 1978. Availability and microbial stability of retail beef-soy blends. *J. Food Sci.* 43:315-318, 333.
- Beuchat, L. R., and E. K. Heaton. 1975. *Salmonella* survival on pecans as influenced by processing and storage conditions. *Appl. Microbiol.* 29:795-801.
- Byran, F. L. 1975. Public health aspects of cream-filled pastries: a review. *J. Milk Food Technol.* 39:289-296.
- Capparelli, E., and L. Mata. 1975. Microflora of maize prepared as tortillas. *Appl. Microbiol.* 29:802-806.

- Clayton, W. 1931, 1932. The bacteriology of common salt. *Food Manuf.* 6:133, 257; 7: 76-77, 109-110, 172-173.
- Connor, J. W. 1950. Mayonnaise spoilage. *Can. Food Ind.* 21:27.
- Corran, J. W., and S. H. Edgar. 1933. Preservative action of spices and related compounds against yeast fermentation. *J. Soc. Chem. Ind.* 52:149-152T.
- Craven, S. E., and A. J. Mercuri. 1977. Total aerobic and coliform counts in beef-soy and chicken-soy patties during refrigerated storage. *J. Food Prot.* 40:112-115.
- Eagon, R. G., and C. R. Green. 1957. Effect of carbonated beverages on bacteria. *Food Res.* 22:687-688.
- Fabian, F. W., and M. C. Wethington. 1950. Spoilage in salad and French dressing due to yeasts. *Food Res.* 15:135-137.
- Fagerman, K. E., J. D. Paauw, M. A. McCamish, and R. E. Dean. 1984. Effects of time, temperature, and preservative on bacterial growth in enteral nutrient solutions. *Am. J. Hosp. Pharm.* 41:1122-1126.
- Foter, M. J., and A. M. Gorlick. 1938. Inhibitory properties of horse-radish vapors. *Food Res.* 3:609-613.
- Fowler, J. L., and W. S. Clark, Jr. 1975. Microbiology of delicatessen salads. *J. Milk Food Technol.* 38:146-149.
- Fowler, J. L., and J. F. Foster. 1976. A microbiological survey of three fresh green salads: can guidelines be recommended for these foods? *J. Milk Food Technol.* 39:111-113.
- Gabis, D. A., B. E. Langlois, and A. W. Rudnick. 1970. Microbiological examination of cocoa powder. *Appl. Microbiol.* 20:644-645.
- Harmon, L. C., C. M. Stine, and G. C. Walker. 1962. Composition, physical properties and microbiological quality of chip-dips. *J. Milk Food Technol.* 25:7-11.
- Harris, N. D., S. R. Martin, and L. Ellias. 1975. Bacteriological quality of selected delicatessen foods. *J. Milk Food Technol.* 38:759-761.
- Harrison, M. A., F. A. Draughton, and C. C. Melton. 1983. Inhibition of spoilage of bacteria by acidification of soy-extended ground beef. *J. Food Sci.* 48:825-828.
- Hsieh, F., K. Acott, and T. B. Labuza. 1976. Death kinetics of pathogens in a pasta product. *J. Food Sci.* 41:516-520.
- Insalata, N. F. 1952. Balking algae in beverage water. *Food Eng.* 24(12):72-74, 197.
- Insalata, N. F. 1956. These bacteria checks prevent beverage spoilage. *Food Eng.* 28(4):84-86.
- Jacobs, M. B. 1959. *Manufacture and analysis of carbonated beverages.* Chemical Publishing Company, Inc., New York.
- Jenson, L. B., and D. P. Grettie. 1937. Action of microorganisms on fats. *Food Res.* 2:97-120.
- Julseth, R. M., and R. H. Deibel. 1974. Microbial profile of selected spices and herbs at import. *J. Milk Food Technol.* 37:414-420.
- Kajs, T. M., R. Hagenmaier, C. Vanderzant, and K. F. Mattil. 1976. Microbiological evaluation of coconut and coconut products. *J. Food Sci.* 41:352-357.
- Kauter, D. A., R. K. Lynt, T. Lilly, and H. M. Solomon. 1981. Evaluation of the botulism hazard from imitation cheeses. *J. Food Sci.* 46:749-750, 764.
- Kinderler, J. 1984. Spoilage of desiccated coconut resulting from growth of xerophilic fungi. *Food Micro.* 1:23-28.

- King, A. D., Jr., H. D. Michener, H. G. Bayne, and K. L. Mihara. 1976. Microbial studies on shelf life of cabbage and coleslaw. *Appl. Environ. Microbiol.* 31:404-407.
- Komarik, S. L., D. K. Tressler, and L. Long. 1974. Food products formulary series. Volume I. Meats, poultry, shellfish. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Lea, C. H. 1961. Some biological aspects of fat deterioration. *Food Technol.* 15(7):33-40.
- Lehmann, D. L., and B. E. Byrd. 1953. A bacterium responsible for a musty odor and taste in root beer. *Food Res.* 18:76-78.
- Maxcy, R. B. 1976. Fate of post-cooking microbial contaminants of some major menu items. *J. Food Sci.* 41:375-379.
- Meyer, L. H. 1960. Food chemistry. Reinhold Publishing Corporation, New York.
- Mueller, D. C. 1975. Microbiological safety and palatability of selected vended burgers. *J. Milk Food Technol.* 38:135-137.
- Nakamura, M., and K. D. Kelly. 1968. *Clostridium perfringens* in dehydrated soups and sauces. *J. Food Sci.* 33:424-426.
- Nicol, H. 1937. Watch your salt. *Food Manuf.* 12:111-113.
- Pace, P. J. 1975. Bacteriological quality of delicatessen foods: are standards needed? *J. Milk Food Technol.* 38:347-353.
- Pederson, C. S. 1930. Bacterial spoilage of a Thousand Island dressing. *J. Bacteriol.* 20:99-106.
- Perigo, J. A., B. L. Gimbert, and T. E. Bashford. 1964. The effect of carbonation, benzoic acid and pH on the growth rate of a soft drink spoilage yeast as determined by a turbidostatic continuous culture apparatus. *J. Appl. Bacteriol.* 27:315-332.
- Peterson, A. C., and R. E. Gunnerson. 1974. Microbiological critical control points in frozen foods. *Food Technol.* 28:37-44.
- Powers, E. M., R. Lawyer, and Y. Masuoka. 1975. Microbiology of processed spices. *J. Milk Food Technol.* 38:683-687.
- Rainbow, C., and A. H. Rose. 1963. Biochemistry of industrial microorganisms. Academic Press, Inc., New York.
- Rao, N. M., S. C. Nandy, K. T. Joseph, and M. Santappa. 1978. Control of salmonella in frog legs by chemical and physical methods. *Ind. J. Exp. Biol.* 16:593-596.
- Rehberger, T. G., L. A. Wilson, and B. A. Glatz. 1984. Microbiological quality of commercial tofu. *J. Food Prot.* 47:177-181.
- Schmidt-Lorenz, W. 1976. Microbiological characteristics of natural mineral waters. *Ann. Inst. Super. Sanit.* 12:93-112.
- Schultz, H. W. 1960. Food enzymes. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Seligmann, R., and H. Frankblum. 1974. Microbiological quality of barbecued chickens from commercial rotisseries. *J. Milk Food Technol.* 37:473-477.
- Smith, F. C., R. A. Field, and J. C. Adams. 1973. Microbiology of Wyoming big game meat. *J. Milk Food Technol.* 37:129-133.
- Smittle, R. B. 1977. Microbiology of mayonnaise and salad dressing: a review. *J. Food Prot.* 40:415-422.
- Stewart, A. W. 1983. Effect of cooking on bacteriological population of "soul foods." *J. Food Prot.* 46:19-20.
- Sugiyama, H., and K. H. Yang. 1975. Growth potential of *Clostridium botulinum* in fresh mushrooms packaged in semipermeable plastic film. *Appl. Microbiol.* 30:964-969.

- Swartzentruber, A. H., A. H. Schwab, B. A. Wentz, A. P. Duran, and R. B. Read, Jr. 1984. Microbiological quality of biscuit dough, snack cakes, and soy protein meat extender. *J. Food Prot.* 47:467-470.
- Terry, R. C., and W. W. Overcast. 1976. A microbiological profile of commercially prepared salads. *J. Food Sci.* 41:211-214.
- Todd, E., and H. Pivnick. 1972. Public health problems associated with barbecued food. *J. Milk Food Technol.* 36:1-19.
- Vakil, J. R., and J. V. Bhat. 1958. The microbiology of coconut oil. *J. Univ. Bombay Sec. B* 27(3):83-89.
- Vanos, V., and O. Bindschedler. 1985. The microbiology of instant coffee. *Food Micro.* 2:187-197.
- Vollrath, R. E., L. Walton, and C. C. Lindegren. 1937. Bactericidal properties of acrolein. *Soc. Exp. Biol. Med. Proc.* 36:55-58.
- Wentz, B. A., A. P. Duran, A. Swartzentruber, A. S. Schwab, and R. B. Read, Jr. 1984. Microbiological quality of frozen breaded onion rings and tuna pot pies. *J. Food Prot.* 47:58-60.
- Witter, L. D., J. M. Berry, and J. F. Folinazzo. 1958. The viability of *Escherichia coli* and a spoilage yeast in carbonated beverages. *Food Res.* 23:133-142.
- Wright, C., S. D. Kominos, and R. B. Yee. 1976. *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa* recovered from vegetable salads. *Appl. Environ. Microbiol.* 31:453-454.
- Wright, W. J., C. W. Bice, and J. M. Fogelberg. 1954. The effect of spices on yeast fermentation. *Cereal Chem.* 31:100-112.

Cuarta parte

Alimentos y enzimas producidos por microorganismos

Los propios microorganismos pueden servir de alimento tanto para las personas como para los animales; pueden utilizarse para preparar nutrientes especiales, como por ejemplo ácidos orgánicos, sustancias para aumentar el sabor, y vitaminas para añadir a los alimentos; se pueden utilizar para obtener por fermentación determinados alimentos; o pueden servir de fuentes de mezclas de enzimas o de enzimas simples para tratar alimentos durante su elaboración. Para ello, se deben mantener los cultivos de microorganismos apropiados para estas finalidades, generalmente en cultivo puro, en un estado estable pero activo, y se deben obtener en volúmenes importantes para ser utilizados como cultivos en masa o a granel para un determinado tratamiento.

Producción de cultivos para la fermentación de alimentos

Los microorganismos necesarios para fermentar los alimentos se pueden añadir como cultivos puros o como cultivos mixtos o, algunas veces, es posible que no se les añada cultivo alguno si se sabe que los microorganismos deseados existen en número suficiente en la materia prima inicial. En las fermentaciones de alimentos estudiadas en el Capítulo 22 correspondientes a la elaboración del sauerkraut, de los encurtidos fermentados, y de las aceitunas verdes, y al tratamiento del cacao, del café, del poi*, y de la cidra, la materia prima contiene una cantidad suficiente de los microorganismos beneficiosos, los cuales actuarán en el orden conveniente si las condiciones del medio son apropiadas y se mantienen durante la fermentación. Por consiguiente, se ha comprobado que en la fermentación de alimentos no es necesaria la adición de cultivos puros o mixtos de microorganismos, aunque en algunas, por ejemplo, en la fermentación de los encurtidos y en la de las aceitunas verdes, es conveniente. Por otra parte, los cultivos «iniciadores» controlados, puros o mixtos, se emplean para fabricar ciertos productos lácteos, como por ejemplo las leches fermentadas, algunos tipos de mantequilla, y la mayoría de los tipos de queso, así como también en la mayoría de las demás fermentaciones que se estudian en el Capítulo 22, por ejemplo, en las fermentaciones del pan, de las bebidas de malta, de los vinos, de los licores destilados, y del vinagre.

* N. del T.: Alimento fermentado parecido a las gachas que se consume en las islas Hawai.

para preparar nuevos cultivos en el caso de que se estropee o se pierda el cultivo activo. En la actualidad, se emplean con frecuencia la liofilización (deseccación por congelación) y la congelación en nitrógeno líquido (-196°C) para preparar cultivos de reserva, aunque todavía hay quienes emplean el cierre de los tubos de cultivo ordinarios con aceite de parafina. Se han conservado cultivos de bacterias durante meses e incluso durante años a temperatura de laboratorio en tubos de agar inclinado a los que se les había añadido un 1 por cien de NaCl. Para conservar las esporas de bacterias o de mohos durante mucho tiempo se puede utilizar una reserva de esporas desecadas guardándolas en tierra esterilizada.

Mantenimiento de la pureza de los cultivos

Para garantizar la pureza de los cultivos, se deben obtener periódicamente a partir de un cultivo de laboratorio, o bien se debe comprobar periódicamente su pureza. Los procedimientos que se utilizan para comprobar la pureza de los cultivos dependen del tipo de cultivo a comprobar. El examen microscópico indicará que el cultivo está contaminado únicamente en el caso de que el microorganismo contaminante se diferencie por su morfología del microorganismo deseado y cuando se encuentre en grandes cantidades. Otro procedimiento para controlar la pureza de los cultivos consiste en sembrar en una placa que contenga un medio de agar que sea apropiado para el crecimiento de los microorganismos contaminantes, pero no para que crezca el microorganismo deseado. Se pueden realizar pruebas para descubrir sustancias que no produce el microorganismo deseado, y así por ejemplo, la existencia de catalasa en un cultivo de bacterias lácticas catalasa-negativas es indicio de que en el cultivo en cuestión existen contaminantes catalasa-positivos.

Preparación de los cultivos

El cultivo madre se suele preparar diariamente a partir de otro cultivo madre anterior y, cuando se prepara por primera vez, se obtiene a partir del cultivo de reserva. Estos cultivos madre se pueden utilizar para sembrar una mayor cantidad de medio de cultivo con el fin de obtener el cultivo con el cual se inocula la materia prima a fermentar. No obstante, muchas veces las fermentaciones se realizan en tan gran escala que es preciso preparar varios cultivos intermedios entre el cultivo madre y el cultivo final que se utiliza como inóculo, de volumen cada vez mayor. Quienes preparan estos cultivos intentan obtener y mantener un cultivo (1) que contenga únicamente el(los) microorganismo(s) deseado(s), (2) que sea uniforme en cuanto al número de microorganismos, en cuanto a las proporciones relativas de los mismos (si se trata de un cultivo mixto), y en cuanto a su actividad, comparando la de cada día con la del día anterior, (3) que tenga actividad para dar los productos deseados, y (4) que, si ello es preciso, tenga la resistencia apropiada

a las condiciones desfavorables, por ejemplo que esté dotado de termorresistencia si se trata de un cultivo que se tiene que utilizar en la fabricación de un tipo de queso cuya cuajada se debe someter a tratamiento térmico. Intentan mantener su uniformidad estandarizando los procedimientos de preparación y esterilización del medio de cultivo, la siembra, y la temperatura y el tiempo de incubación. La fase de crecimiento hasta la cual crecerá el cultivo depende de la finalidad con la cual se tiene que utilizar. Si desean un crecimiento inmediato y rápido, utilizan un cultivo que se encuentra al final de la fase de crecimiento logarítmico. Si desean que los microorganismos del cultivo tengan un mayor grado de resistencia al calor o a otros factores desfavorables, utilizan un cultivo que acabe de entrar en la fase estacionaria máxima. La temperatura de incubación suele estar próxima a la temperatura óptima de crecimiento del microorganismo, aunque hay algunas excepciones. Muchas veces, tanto la temperatura como el tiempo de incubación se ajustan de modo que el cultivo estará listo para su empleo en el momento que se necesite. De lo contrario, el cultivo se tendría que enfriar para evitar que siguiese creciendo.

Actividad de los cultivos

La actividad de un cultivo se valora por su velocidad de crecimiento y por la producción de sustancias. Debe ser satisfactoria si el cultivo madre o el cultivo intermedio es satisfactorio y si el medio de cultivo, el tiempo de incubación, y la temperatura son óptimos. La degeneración de los cultivos puede ser debida a que no se manipulan ni cultivan correctamente, a que se siembran continuamente durante mucho tiempo en un medio de cultivo que no es apropiado, a la selección, a la variación o la mutación bacterianas, o a que las bacterias han sido infectadas por un bacteriófago.

Cultivos mixtos

A veces se preparan mezclas conocidas de cultivos puros, los cuales unas veces crecen continuamente juntos o bien crecen por separado y se mezclan en el momento de utilizarlos. El denominado cultivo de la mantequilla, o láctico, utilizado en la industria láctea constituye un ejemplo de una mezcla de varias especies de bacterias que crecen juntas y, a veces, de una mezcla de varias cepas de una misma especie. Cuando diferentes cepas de una misma especie, o diferentes especies, se cultivan juntas, los microorganismos deben ser compatibles, es decir, deben crecer bien juntos sin que ninguno de ellos elimine a los demás. En estos cultivos mixtos resulta difícil mantener el equilibrio deseado entre los distintos tipos de microorganismos.

Los cultivos iniciadores que se utilizan en algunas fermentaciones de alimentos son mezclas desconocidas de microorganismos. Son ejemplos de ello la

levadura que se transfiere de un lote de pan francés al lote siguiente y la mezcla de levaduras y bacterias que se transfieren desde un frotis de la superficie de un queso de Limburger a la superficie de otro queso.

CULTIVOS DE BACTERIAS

La mayoría de los cultivos que se emplean como iniciadores en las fermentaciones de los productos lácteos, de los embutidos, y del pan son cultivos puros o mixtos de bacterias lácticas, excepción hecha de las bacterias propiónicas que se añaden al queso suizo. Las bacterias acéticas se utilizan en la fabricación del vinagre, y en la elaboración de ciertos enzimas, se utilizan distintas bacterias.

Cultivos lácticos

Si bien algunas industrias lácteas todavía mantienen sus propios cultivos que han conseguido conservar durante muchos años, la mayoría de los fabricantes obtienen periódicamente nuevos cultivos o bien utilizan cultivos concentrados congelados preparados por laboratorios especializados. En la actualidad, la mayoría de los cultivos existentes en el comercio son cultivos concentrados congelados en nitrógeno líquido que se preparan sembrando los microorganismos en un medio de cultivo apropiado y a continuación se recogen y se concentran por centrifugación. Las suspensiones de células recogidas del cultivo se estandarizan en cuanto a su actividad y después se envasan en botes abrefácil y se congelan rápidamente en nitrógeno líquido. El envío, la distribución, y el almacenamiento de los concentrados de cultivos congelados son posibles, y tienen numerosas ventajas. La adquisición de estos cultivos elimina la necesidad de mantenerlos y de realizar las resiembras sistemáticas inherentes al mantenimiento de una colección de cultivos. Desaparecen los problemas de contaminación de los cultivos durante las operaciones sistemáticas de siembra y mantenimiento. Se pueden utilizar alternativamente distintas cepas de los cultivos existentes en el comercio con el fin de proporcionarles una protección más amplia frente a la infección por bacteriófagos. En muchos de estos productos de concentrados de cultivos el número de células bacterianas es tan elevado que un envase de 16¹ onzas (que contiene 11² onzas de concentrado) se puede utilizar para la inoculación directa de un tanque que contenga 5.000 libras³ de leche destinada a la fabricación de queso. Este procedi-

¹N. del T.: 453, 6 g.

²N. del T.: 311,84 g.

³N. del T.: 2.267,95 kg.

miento eliminaría la antigua costumbre de preparar, durante una serie de días, inóculos cada vez más voluminosos del fermento industrial. Para preparar la cantidad suficiente de fermento industrial para sembrar un gran tanque de leche destinada a la fabricación de queso se solía tardar varios días durante los cuales se sembraban en volúmenes de leche cada vez mayores, una serie de inóculos, todos los cuales habrían derivado del cultivo de reserva.

El fermento más corriente es el cultivo láctico, el cual suele estar integrado por una mezcla de cepas de *Streptococcus lactis* subespecie *lactis**, y de *S. mesenteroides* subespecie *cremoris** para la producción de ácido láctico y de *Leuconostoc cremoris** o *Streptococcus lactis* subespecie *diacetylactis** para la producción de sabor y aroma. En un mismo concentrado de cultivo se incluyen varias cepas de estreptococos lácticos de distinta sensibilidad a los bacteriófagos para garantizar que no surjan inconvenientes como consecuencia de la infección fágica de los microorganismos del cultivo.

Por lo general, los cultivos lácticos se incuban a temperaturas comprendidas entre 21,1 y 22,2°C, aunque en la preparación de los cultivos iniciadores para la fabricación del queso se han empleado temperaturas que oscilan entre 23,9 y 26,7°C. Se deja que el cultivo madure hasta que alcanza la acidez titulable conveniente de acuerdo con la finalidad para la cual el cultivo se va a utilizar.

En la fabricación del suero de mantequilla fermentado, en la fabricación del yogurt y en la fabricación de varios tipos de queso se utiliza un cultivo láctico mixto. En el suero de mantequilla fermentado son especialmente importantes las bacterias que comunican el aroma a este producto. El típico fermento del yogurt es una mezcla de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* subesp. *bulgaricus*. Cuando se siembran y se manipulan cultivos mixtos se deben tener en cuenta la temperatura de incubación y la duración de ésta que mejor mantendrán la población mixta deseada y, por consiguiente, que eviten que una determinada cepa o una determinada especie predomine sobre las demás. La utilización de cultivos concentrados congelados elimina muchos de estos inconvenientes. Además, los cultivos procedentes de laboratorios especializados en la preparación de fermentos tienen la ventaja de que se adquieren cepas compatibles que previamente han sido seleccionadas y probadas.

Según se indica en el Capítulo 22, el «fermento ácido» que utilizan los fabricantes de pan de centeno es una mezcla de diversas bacterias lácticas que normalmente crecen en cultivo mixto e impuro en la pasta de harina, en la masa del pan, o en cualquier otro medio. Se cree que se debe cultivar *L. delbrueckii* subesp. *bulgaricus* si se tiene que producir la cantidad suficiente de ácido y que las bacterias lácticas heterofermentativas son beneficiosas desde el punto de vista de la producción de sabor. Algunos fabricantes, como fermento para inocular la masa del pan utilizan cultivos puros de *Streptococcus lactis* subesp. *lactis**, *Leuconostoc* spp., *Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *L. brevis*, *L. delbrueckii* subesp. *bulgaricus*, y *Streptococcus thermophilus*. Otros fabricantes de pan añaden levaduras a la masa.

En los embutidos de verano, en los de Turingia, y en embutidos fermentados de tipo parecido, como fermentos, se pueden utilizar cultivos de lactobacilos y cultivos de *Pediococcus acidilactici* o de *P. pentosaceus*. Con esta finalidad se han preparado cultivos en caldo, cultivos desecados y concentrados de cultivos congelados.

Cultivo proplónico

A la leche que se utiliza para fabricar el queso suizo se le añaden cultivos desecados o liofilizados de *Propionibacterium freudenreichii* con el fin de mejorar su sabor y favorecer la formación de ojos.

Microorganismos con los cuales se inocula la superficie de los quesos

La mayoría de los fabricantes inoculan la superficie de los quesos con microorganismos procedentes de otros quesos, de las estanterías, de los paños, de los tanques de salmuera, de las manos de los operarios que manipulan los quesos, y de otras procedencias de la planta industrial. En la corteza se han aislado y se han utilizado en cultivos puros o mixtos para lavar la superficie de los quesos, y por consiguiente para inocularlos, micrococos, *Brevibacterium linens* y levaduras formadoras de película que tienen importancia en la formación de la corteza.

Bacterias acéticas

Los cultivos puros de bacterias de los géneros *Gluconobacter* y *Acetobacter* carecen de eficacia para producir ácido acético. Por consiguiente, en la fabricación de vinagre, se deja que los cultivos mixtos impuros se desarrollen de forma espontánea, y se añaden utilizando vinagre recién elaborado de un lote anterior, o se siembran a partir de un barril o generador de vinagre.

CULTIVOS DE LEVADURAS

La mayoría de las levaduras de importancia industrial pertenecen al género *Saccharomyces* y principalmente a la especie *S. cerevisiae*. Estas levaduras productoras de ascosporas se multiplican fácilmente para obtener las características deseadas. Una levadura que se utiliza para una determinada finalidad puede ser mejorada con respecto a dicha finalidad, pero también se debe proteger frente a posibles cambios perjudiciales.

Levadura de los panaderos

Las cepas de *S. cerevisiae* que se utilizan para fabricar la levadura de los panaderos suelen ser aislamientos procedentes de una célula única, los cuales han sido seleccionados concretamente para esta finalidad. Estas cepas han de proporcionar un buen rendimiento de células en la masa o medio elegido para su cultivo, deben ser estables, deben permanecer viables en la pastilla o forma desecada de levadura durante un tiempo razonable, y deben producir rápidamente dióxido de carbono en la masa de pan cuando se utilizan para producir su fermentación.

Lo mismo que los demás cultivos que se utilizan en gran escala, este cultivo se prepara a partir del cultivo madre pasando por varios cultivos intermedios de volumen cada vez mayor hasta obtener el cultivo «semilla»¹ definitivo. Las células de levadura procedentes del tanque que contiene el cultivo semilla se concentran por centrifugación para obtener una «nata»², y esta suspensión espesa se añade al gran volumen de la masa en la cual es preciso que crezca la levadura, de forma que por cada 100 galones³ de medio se añaden de 3 a 5 libras⁴ de levadura.

El medio más corrientemente utilizado para preparar los cultivos y obtener la levadura de los panaderos es una masa de melaza de caña o de remolacha y sales minerales que contiene melaza, nutrientes nitrogenados en forma de sales de amonio, urea, gérmenes de malta, etc., sales inorgánicas, como por ejemplo fosfatos y otras sales minerales, y sustancias accesorias del crecimiento en forma de extractos de vegetales, de granos o de levaduras, o pequeñas cantidades de provitaminas o de vitaminas. El pH de este medio se ajusta a valores comprendidos entre 4,3 y 4,5, y se incuba a una temperatura próxima a 30°C. Mientras crece la levadura, el medio se airea a una velocidad rápida, y se añade poco a poco la melaza con el fin de mantener la concentración de azúcar en un porcentaje aproximado del 0,5 al 1,5 por cien. Después de cuatro o cinco ciclos de gemación, mediante centrifugación se separa la levadura en forma de una «nata», la cual se hace pasar por una prensa de filtro para eliminar el exceso de líquido. La masa de levaduras se convierte en pastillas de diferentes tamaños después de incorporarle pequeñas cantidades de aceites vegetales.

En la actualidad, la levadura activa desecada se prepara desecando las células de levaduras hasta que su porcentaje de humedad sea inferior al 8 por cien. Las células así desecadas se cultivan con esta finalidad concreta y se liofilizan con cuidado a bajas temperaturas, de forma que la mayoría de las células sobrevi-

¹ N. del T.: Cultivo «semilla» equivale a cultivo que se emplea para sembrar la masa a fermentar, es decir, equivale a inóculo.

² N. del T.: Masa pastosa.

³ N. del T.: 454,60 l.

⁴ N. del T.: De 1,360 a 2, 257 kg.

virán y mantendrán su capacidad para fermentar de forma activa la masa durante varios meses.

La levadura de los panaderos también se puede preparar a partir de masas de granos, a partir de las aguas residuales que contienen sulfitos de las fábricas de papel, a partir del hidrolizado de madera, y a partir de otros materiales.

Levaduras utilizadas para fabricar bebidas de malta

Las levaduras que se utilizan para fabricar bebidas de malta se pueden conseguir en cultivo puro en los laboratorios de las fábricas de cerveza o se pueden obtener de laboratorios especializados cuando se necesitan. La cepa seleccionada es una cepa apropiada al tipo de producto que se desea obtener; se utiliza una levadura de fondo específica para la cerveza y una levadura de superficie para la cerveza inglesa¹, aunque en la fabricación de este tipo de cerveza a veces se utiliza una levadura de fondo, mientras que para la cerveza fuerte² y para la cerveza oscura³ es una levadura de superficie. Las levaduras de superficie que se utilizan son cepas de *Saccharomyces cerevisiae* y la levadura de fondo utilizada es *S. uvarum* (*carlsbergensis*). Cuando la levadura procede de un cultivo puro, se debe reconstituir en mosto de cerveza procedente de un cultivo de laboratorio hasta obtener un cultivo de semilla o cultivo «iniciador» de mayor volumen. Sin embargo, en la práctica, la levadura iniciadora casi siempre es una levadura obtenida de una fermentación anterior. La levadura obtenida se concentra y se puede lavar o no. Es evidente que este cultivo de levaduras siempre se contaminará con otros microorganismos, los cuales normalmente incluyen bacterias y levaduras salvajes cuyo número ha aumentado durante las sucesivas fermentaciones y obtenciones. Afortunadamente, si bien la mayoría de los contaminantes son capaces de crecer en el cultivo de levaduras, son inhibidos por el lúpulo y por el bajo pH del mosto de cerveza y de aquí que no perjudiquen sensiblemente a las bebidas de malta. No obstante, es posible que los microorganismos que producen las «enfermedades de la cerveza» (véase el Capítulo 22) se multipliquen en la levadura iniciadora.

Levaduras del vino

Para la fabricación del vino se selecciona una cepa especial de *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* adaptada a la elaboración de un determinado tipo de vino. Son famosos los cultivos adaptados a la elaboración de los vinos de tipo

¹ N. del T.: Cerveza de poco grado alcohólico.

² N. del T.: Cerveza de mayor grado alcohólico que la «ale».

³ N. del T.: Cerveza «negra».

Borgoña, Tokay y Champagne que tanto se utilizan. Para aumentar su volumen, los cultivos se siembran en mosto (zumo de uva o de cualquier otra fruta) como el que se va utilizar en la fermentación principal.

Levadura de los destiladores

Generalmente, la levadura de los destiladores es una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* que suele estar adaptada a crecer en el medio o en la masa que se va a emplear. El medio o masa sería grano malteado, normalmente maíz o centeno para el whisky, melaza para el ron, y jugos o pulpas de frutas para el aguardiente. Los licores son destilados de las masas fermentadas.

CULTIVOS DE MOHOS

Los cultivos de reserva de mohos se suelen mantener sobre tubos inclinados de un medio de agar apropiado, por ejemplo, agar-extracto de malta, pudiéndose guardar durante mucho tiempo liofilizados (deseccación por congelación) o en forma de reservas de tierra. Existen varios procedimientos para preparar los cultivos de esporas o de micelio para su uso a escala industrial. Estos procedimientos son: (1) el crecimiento superficial en un medio líquido o en un medio de agar contenido en un matraz o en un recipiente parecido, (2) el crecimiento superficial sobre medios dispuestos en capas poco profundas en bandejas, (3) el crecimiento sobre salvado de trigo suelto y humedecido al que se le puede acidificar o bien se le puede añadir un nutriente líquido, por ejemplo líquido de maceración del maíz, (4) crecimiento sobre pan o sobre galletas «crackers» que previamente se han esterilizado y humedecido, y (5) crecimiento por el procedimiento de inmersión en un medio líquido aireado, con el cual generalmente se obtienen gránulos formados por micelio, con o sin esporas. Las esporas de los mohos se obtienen de diferentes formas según el procedimiento mediante el cual se han producido. Pueden ser arrastradas por lavado o retiradas de las superficies secas, se pueden dejar en el material seco, que se muele totalmente o se reduce a polvo, o por comodidad para su uso, se incorpora a algún polvo seco, por ejemplo, a harina. Ni que decir tiene que los gránulos se emplean como tales. Las esporas de *Penicillium roqueforti* que se utilizan en la elaboración de los quesos azules de Roquefort, de Stilton, de Gorgonzola, etc., se suelen cultivar en dados de pan esterilizado, humedecido y generalmente acidificado; se puede emplear pan integral de trigo o pan de una fórmula especial. Una vez que el mohos ha terminado de esporular, se desecan tanto el pan como el cultivo, se reducen a polvo, y se envasan, generalmente en botes.

Las esporas de *P. camemberti* se preparan cultivando el mohos en galletas «crackers» estériles humedecidas. Se prepara una suspensión de esporas con la

cual se siembra la superficie de los quesos de Camembert, de Brie, o de quesos de tipos parecidos.

Los cultivos iniciadores de mohos utilizados como inóculo en las fermentaciones industriales sumergidas se suelen preparar en forma de gránulos o masas de micelio que se producen durante el crecimiento sumergido mientras el cultivo está siendo agitado intensamente. Cuando se desea un crecimiento superficial en un medio líquido, en un medio de agar, o en salvado, se suelen utilizar como inóculo las esporas de mohos, producidas según los procedimientos señalados anteriormente. El koji, o cultivo iniciador para preparar la salsa de soja que se describe en el capítulo siguiente, suele ser un cultivo mixto obtenido a partir de un lote anterior, aunque para prepararlo también se han utilizado cultivos puros de *Aspergillus oryzae*, junto con una levadura y *Lactobacillus delbrueckii*. El moho se cultiva en arroz cocido y esterilizado.

BIBLIOGRAFIA

- Amerine, M. A., H. W. Berg, and W. V. Cruess. 1972. The technology of wine making. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Chance, H. L. 1963. Salt: a preservative for bacterial cultures. *J. Bacteriol.* 85:719-720.
- Christensen, V. W. 1975. New developments in cultures. 70th Annu. Meet. Am. Dairy Sci. Ass. Kans. State Univ.
- Christensen, V. W. 1976. "Superstarts" direct set concentrated cultures for cheese-making. Cheese Ind. Conf. August 1976.
- Efstathiou, J. D., L. L. McKay, H. A. Morris, and E. A. Zottola. 1975. Growth and preservation parameters for preparation of a mixed species culture concentrate for cheese manufacture. *J. Milk Food Technol.* 38:444-448.
- Foster, E. M. 1962. Symposium on lactic starter cultures. VI. Culture preservation. *J. Dairy Sci.* 45:1290-1298.
- Foster, E. M., F. E. Nelson, M. L. Speck, R. N. Doetsch, and J. C. Olson, Jr. 1957. Dairy microbiology. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J.
- Fry, R. M. 1954. The preservation of bacteria. In R. J. C. Harris (ed.), *Biological applications of freezing and drying*. Academic Press, Inc., New York.
- Gibson, C. A., G. B. Landerkin, and P. M. Morse. 1966. Effects of additives on the survival of lactic streptococci in frozen storage. *J. Appl. Microbiol.* 14:665-669.
- Gilliland, S. E. 1985. Bacterial starter cultures for foods. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla.
- Gilliland, S. E., and M. L. Speck. 1974. Frozen concentrated cultures of lactic starter bacteria: a review. *J. Milk Food Technol.* 37:107-112.
- Hales, M. W. 1963. The care of cultures. *J. Dairy Sci.* 46:1439-1440.
- Harlander, S. K., L. L. McKay, and C. F. Schachtels. 1984. Molecular cloning of lactose-metabolizing genes from *Streptococcus lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 48:347-351.
- Hartsell, S. E. 1956. Maintenance of cultures under paraffin oil. *Appl. Microbiol.* 4: 350-355.

- Keogh, B. P. 1970. Survival and activity of frozen starter cultures for cheese manufacture. *J. Appl. Microbiol.* 19:928-931.
- Lamprech, E. D., and E. M. Foster. 1963. The survival of starter organisms in concentrated suspensions. *J. Appl. Bacteriol.* 26(3):359-369.
- McCoy, E. 1954. Selection and maintenance of cultures. *In* L. A. Underkofler and R. J. Hickey (eds.), *Industrial fermentations*. Chemical Publishing Company, Inc., New York.
- Perlman, D., et al. 1955. Symposium on the maintenance of cultures of microorganisms. *Bacteriol. Rev.* 19:280-283.
- Rose, A. H. (ed.). 1982. *Fermented foods*. Academic Press, Inc., New York.
- Sellars, R. L. 1967. Lactic starter cultures. *In* H. J. Peppler (ed.), *Microbial technology*. Reinhold Publishing Corporation, New York.
- Sellars, R. L., and F. J. Babel. 1970. Cultures for the manufacture of dairy products. Chr. Hansen's Laboratory, Inc., Milwaukee.
- Simmons, J. C., and D. M. Graham. 1959. Maintenance of active lactic cultures by freezing as an alternative to daily transfer. *J. Dairy Sci.* 42:363-364.
- Speck, M. L. (Convenor). 1962. Symposium on lactic starter cultures. *J. Dairy Sci.* 45:1262-1294.
- Steel, K. J., and H. E. Ross. 1963. Survival of freeze dried bacterial cultures. *J. Appl. Bacteriol.* 26:370-375.
- Tamine, A. Y. 1981. Microbiology of starter cultures. *In* R. K. Robinson (ed.), *Dairy microbiology*, vol. 2. Applied Science Publications, London.
- Valles, E., and G. Mocquot. 1968. Préparation de suspensions concentrées et congelées de bactéries lactiques thermophiles destinées à la fromagerie. *Lait.* 48:631-643.
- Wagman, J., and E. J. Weneck. 1963. Preservation of bacteria by circulating-gas freeze drying. *Appl. Microbiol.* 11:244-248.
- Ziamba, J. U. 1970. Top-quality cultures made in unique plant. *Food Eng.* 42:68, 70, 73.

Fermentaciones de alimentos

La fermentación láctica de la col, de los pepinos, y de las aceitunas verdes, no sólo facilita su conservación, sino que también produce nuevos productos alimenticios característicos. La mayoría de las fermentaciones producen productos nuevos y deseados, siendo secundario su efecto conservador. Las fermentaciones pueden ser producidas por levaduras, por bacterias, por mohos, o por mezclas de estos microorganismos. En el primer grupo de productos alimenticios –el pan, la cerveza, el vino y los licores destilados– la fermentación por levaduras es de capital importancia. En la fabricación del vinagre a partir de materias primas que contienen azúcares, intervienen levaduras y bacterias, mientras que en la producción de los leches fermentadas intervienen principalmente bacterias. Los mohos tienen importancia en la fabricación de ciertos tipos de quesos y en la preparación de los alimentos orientales.

PAN

En la fabricación del pan, los microorganismos son útiles por dos motivos principales: (1) Pueden producir gas para fermentar, o hacer subir, la masa, dando al pan la textura suelta y porosa deseada, y (2) pueden producir sustancias aromáticas beneficiosas. También pueden intervenir en el acondicionamiento de la masa.

Fermentación

La masa suele ser fermentada por las levaduras del pan (Capítulo 21) que fermentan los azúcares existentes en la misma y producen principalmente dióxido de carbono y alcohol. No obstante, para llevar a cabo la fermentación de la masa, en lugar de las levaduras del pan se han utilizado otros microorganismos eficaces productores de gas, como son las levaduras silvestres, las bacterias coliformes, las especies sacarolíticas de *Clostridium*, las bacterias lácticas heterofermentativas y varias mezclas de estos microorganismos existentes en la naturaleza. También se ha conseguido la fermentación de la masa añadiéndole directamente gas (CO_2).

Fermentación mediante las levaduras del pan. Durante las 2 horas siguientes a la adición de la levadura, en la masa existe escaso o ningún crecimiento, pero transcurridas entre 2 y 4 horas ya existe cierto crecimiento, si es que se deja que transcurra tanto tiempo antes de proceder a su cocción, y posteriormente, transcurridas de 4 a 6 horas, este crecimiento disminuye. La fermentación por la levadura se inicia tan pronto como la masa (o esponja) se mezcla y continúa hasta que la temperatura del horno inactiva los enzimas de la levadura. El panadero profesional añade a la masa una importante cantidad de levadura y dispone de relativamente poco tiempo para fabricar el pan. Las tendencias actuales de la fabricación casera de pan apuntan hacia la adición de un exceso de levaduras, de modo que la fermentación puede tener incluso menor duración que la fermentación industrial del pan. Estas operaciones de corta duración favorecen poco o nada el crecimiento de la levadura durante la fermentación. Los antiguos procedimientos caseros de elaboración del pan suponían emplear menor cantidad de levadura o utilizar una levadura de menor actividad y de aquí que el tiempo necesario para elaborar el pan era mayor y tanto las levaduras como las bacterias tenían cierta oportunidad para crecer. Durante la fermentación, el «acondicionamiento» de la masa tiene lugar cuando las proteínas de la harina (gluten) maduran, es decir, cuando se vuelven elásticas y esponjosas y, por consiguiente, capaces de retener la máxima cantidad del dióxido de carbono producido por las levaduras. El acondicionamiento de la masa se debe a la actividad ejercida sobre el gluten (1) por los enzimas proteolíticos existentes en la harina procedentes de la levadura, del malta, o añadidos de cualquier otra procedencia y (2) por la disminución del pH por los ácidos que se añaden y por los que se producen en la propia masa. Los acondicionantes de la masa que se añaden, a veces denominados nutrientes de la levadura, incluyen sales de amonio para estimular el crecimiento de las levaduras y otras sales, por ejemplo, KBrO_3 , KIO_3 , CaO_2 , y $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, para mejorar las propiedades de la masa.

Si bien es posible que los azúcares que contiene la harina más los producidos por la amilasa de la harina sean suficientes para la fermentación, casi todas las fórmulas exigen que se añada una mayor cantidad de azúcares o de malta que contenga amilasa. La velocidad de la producción de gas por las levaduras aumenta

añadiendo (1) mayor cantidad de levadura, (2) azúcares o malta que contengan amilasa, y (3) nutriente de las levaduras, dentro de unos límites. Esta velocidad disminuye como consecuencia (1) de la adición de sal, (2) de la adición de una cantidad excesiva de nutriente de las levaduras, y (3) de la utilización de temperaturas excesivamente elevadas o excesivamente bajas. Los principales objetivos que persigue el panadero durante la fermentación de la masa son: que se haya producido la suficiente cantidad de gas y que la masa esté en condiciones de retener este gas en el momento oportuno.

En la fabricación del pan por el procedimiento de la esponja, algunos ingredientes se mezclan a una temperatura de 23 a 24°C y se deja que fermenten hasta que alcanzan la madurez deseada. Después, se añade el resto de los ingredientes y la fermentación sigue hasta que la masa ha adquirido las propiedades deseadas. En el procedimiento del amasamiento no interrumpido todos los ingredientes se mezclan a una temperatura comprendida entre 26 y 28°C. El local donde tiene lugar la fermentación, en el que la masa permanece durante casi todo el tiempo que dura la fermentación, se suele mantener a una temperatura de 27°C aproximadamente.

Fermentación mediante otros microorganismos. La fermentación de la masa se puede llevar a cabo mediante microorganismos productores de gas que nada tienen que ver con las levaduras del pan. Los panes pueden ser fermentados utilizando masa que se ha guardado de la elaboración de un lote anterior, como ocurre en la fabricación de ciertos panes especiales y en el de la fabricación del pan de masa ácida.

En la fermentación pueden intervenir bacterias lácticas heterofermentativas y bacterias anaerobias sacarolíticas. La fermentación del pan con sal se debe a «levaduras que actúan en presencia de sal» así como a microorganismos procedentes de los ingredientes de la masa; también se puede utilizar levadura de los panaderos. En algunos casos, una sucesión de microorganismos fermenta la masa, le comunica sabor y la modifica, como ocurre en la elaboración de las galletas del tipo «soda crackers», en la que las bacterias lácticas actúan sobre la masa transcurridas de 3 a 4 horas de fermentación. La masa de este tipo de galletas también puede ser fermentada por levadura que se le añade y por bacterias que ya existían en ella.

Fermentación mediante compuestos químicos. En lugar de emplear microorganismos, la fermentación de la masa se puede llevar a cabo mediante agentes químicos, aunque, según las normas de identidad que especifican la fermentación por levaduras, al alimento resultante de esta fermentación no se le puede llamar pan. Para fermentar la masa se puede emplear el gas dióxido de carbono, que puede ser incorporado directamente a la masa, o levaduras químicas, las cuales son mezclas de compuestos químicos que liberan gas cuando se mezclan en la masa. También se puede emplear bicarbonato amónico, ya que el calor de la cocción dará lugar al desprendimiento de los gases dióxido de carbono

y amoníaco. La harina autofermentable contiene al mismo tiempo los componentes ácido y básico de la levadura química, los cuales reaccionan al humedecerse.

Fabricación continua de pan

Los procedimientos de la fabricación continua de pan suelen suponer el crecimiento de la levadura en parte de los ingredientes y su fermentación para obtener una gran cantidad de levadura activa –o por lo menos la adición de mayor cantidad de levadura que la habitual– antes de que se forme la masa definitiva. La fermentación de la masa puede tener lugar en las artesas inmediatamente antes de su cocción.

Producción de sabor

Se ha señalado que las levaduras colaboran en la producción del sabor del pan gracias a los productos que se liberan durante la fermentación de los azúcares, aunque la mayoría de los autores creen que estos microorganismos añaden poco o ningún sabor al pan, sobre todo por lo que se refiere al que se fabrica mediante los procedimientos rápidos que se emplean en la actualidad. Los alcoholes, los ácidos, los ésteres, y los aldehídos son productos que pueden comunicar sabores agradables al pan. Sin embargo, la mayoría de los expertos afirma que las bacterias que crecen en la masa pueden comunicar al pan la mayor parte del sabor. En los sistemas de fermentación de la masa y elaboración del pan que se suelen emplear a escala industrial, las bacterias disponen de demasiado poco tiempo para que crezcan lo suficiente como para que influyan en la producción de sabor, aunque el mayor tiempo de que disponen cuando el pan se fabrica por los procedimientos caseros antiguos permite a las bacterias que crezcan lo suficiente para que tenga lugar una importante producción de sabores agradables. De este modo, la masa que se fermenta mediante masa de una hornada anterior puede recibir un buen inóculo de bacterias productoras de sabor agradable. Algunas marcas especiales de pan elaborado de esta manera son famosas por sus sabores característicos.

Por consiguiente, la mayor parte del sabor del pan procede de los ingredientes que entran a formar parte de su composición y de las reacciones químicas que tienen lugar en él durante la cocción, como es la reacción de ennegrecimiento de Maillard. Si antes de proceder a la cocción del pan se concede a las bacterias el tiempo suficiente para que crezcan, pueden comunicarle sabor, lo mismo que también se lo pueden comunicar, aunque en menor grado, las levaduras. Entre las sustancias responsables del sabor del pan así producidas se pueden encontrar alcohol, diacetilo, aldehídos, acetofina e isoalcoholes, y los ácidos láctico, acético y succínico y sus ésteres.

Cocción

A pesar de que durante la cocción del pan el interior de la hogaza no llega a alcanzar los 100°C, el calor sirve para destruir las levaduras, inactivar sus enzimas, así como los existentes en la harina y en la malta, difundir el gas existente en la misma y fijar su estructura. La cocción, además de ser responsable del aspecto externo de la hogaza, también aporta al pan sabores agradables. El calor también hace desaparecer la mayor parte del alcohol y demás sustancias volátiles producidas por las levaduras, aunque aporta sustancias tales como el furfural, el ácido pirúvico y otros aldehídos, y otras sustancias que comunican sabor al pan. La modificación más importante que tiene lugar en el pan durante su cocción es la gelatinización del almidón. La «estructura» del pan es consecuencia de este proceso de gelatinización, en el cual el gluten proporciona el soporte estructural de la masa, pero el almidón mantiene la estructura del pan cocido.

Pan de centeno

El pan de centeno se puede fabricar utilizando fermento o sin utilizarlo. El antiguo procedimiento de preparar el fermento dependía de las bacterias que de forma natural existen en la mezcla de harina de centeno y agua. Se dejaba que esta mezcla fermentase durante 5 a 10 horas; después, se le añadía más harina y más agua y se dejaba que la fermentación continuase durante otras 5 ó 6 horas; después de ello se repetía la misma operación varias veces más. La mitad del producto así obtenido se incorporaba a la esponja o masa con la cual se iba a fabricar el pan, mientras que el resto se guardaba para preparar más fermento. Este fermento fue modificado por algunos panaderos añadiendo levaduras y bacterias lácticas procedentes de suero de mantequilla cultivado o de suero de mantequilla búlgaro al fermento que se preparaba de nuevo diariamente. Como es natural, estos fermentos no son uniformes.

Los actuales métodos de preparación del fermento suponen la adición de importantes cantidades de cultivos de bacterias productoras de ácido a la masa que se utiliza como fermento y el control, tanto del tiempo de fermentación (de 18 a 24 horas), como de la temperatura de incubación (25°C aproximadamente). Una temperatura de incubación excesivamente elevada, de 32 a 35°C, por ejemplo, favorece el crecimiento de microorganismos productores de gas, como son las bacterias coliformes y las butíricas. Algunos panaderos prefieren utilizar bacterias lácticas que crecen a bajas temperaturas, por ejemplo, *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, y *Leuconostoc mesenteroides**, mientras que otros prefieren utilizar bacterias lácticas que crecen a temperaturas elevadas, como son *Lactobacillus bulgaricus** y *Streptococcus thermophilus*, y ajustar la temperatura de incubación a las temperaturas óptimas de crecimiento de estos microorganismos. El crecimiento de bacterias lácticas heterofermentativas se considera beneficioso. El fermento comunica un peculiar sabor agrio al pan de centeno que no le confieren ni la adición de ácido láctico ni la de ácido acético.

Pan de San Francisco

La fermentación de este tipo de pan se debe a la levadura *Torulopsis holmii*, forma asporógena de *Saccharomyces exiguus*. El microorganismo que le sigue en importancia de los que intervienen en la fermentación, responsable de la producción de ácido, ha sido identificado como un lactobacilo heterofermentativo, *Lactobacillus sanfrancisco*.

BEBIDAS DE MALTA

La cerveza y la ale* son las dos principales bebidas de malta que se producen y consumen en este país, razón por la cual son las únicas que aquí se estudian. Se elaboran con malta, lúpulo, levadura, agua y reforzadores de la malta. La malta se prepara con granos de cebada que se han hecho germinar y se han desecado y de los cuales se ha eliminado el brote o germen. Los reforzadores son sustancias que contienen almidón o azúcar que se añaden a la malta para aumentar la cantidad de carbohidratos existentes en la misma. Entre los reforzadores que aportan almidón se incluyen el maíz y sus productos derivados, el arroz, el trigo, la cebada, el grano de sorgo, la soja, la mandioca, las patatas, etc., siendo el maíz y el arroz los que se utilizan con mayor frecuencia. Los reforzadores azucarados son sustancias tales como los azúcares y los jarabes.

Elaboración de la cerveza

Se hará un breve resumen de la fabricación de la cerveza como ejemplo de todas las operaciones que se llevan a cabo durante la misma.

Preparación de la malta. En la preparación de la malta, los granos de cebada se maceran o «se ponen en remojo», a una temperatura comprendida entre 10 y 15,6°C, se dejan germinar durante 5 a 7 días a una temperatura comprendida entre 16 y 21°C, y se desecan al horno. Se eliminan la mayoría de los brotes o gérmenes y queda la malta. La malta, que contiene amilasas y proteinasas, se aplasta antes de utilizarla.

Amasado. El amasado tiene por objeto solubilizar al máximo las fracciones valiosas de la malta y sus reforzadores y, sobre todo, provocar la hidrólisis de los almidones y demás polisacáridos así como la de las proteínas y productos

*N. del T.: Cerveza inglesa de poco grado alcohólico.

resultantes de su hidrólisis. Primeramente se prepara la masa principal de malta mezclando la malta molida con agua a una temperatura de 38 a 50°C. A esta masa se añaden, una vez cocidos, los reforzadores amiláceos de la malta disueltos en agua, los cuales, después de ser sometidos a ebullición o después de ser tratados con vapor a presión, se encuentran a una temperatura próxima a 100°C. Con ello, la temperatura de la masa de cereal y malta alcanza aproximadamente unos 65 a 70°C, temperatura a la cual, transcurrido un breve espacio de tiempo, tiene lugar la sacarificación (producción de azúcares a partir del almidón). A continuación, se eleva la temperatura hasta 70°C aproximadamente, con lo cual se inactivan los enzimas. Las sustancias insolubles que sedimentan en el fondo del recipiente actúan a modo de filtro, de forma que el líquido que sale del mismo, llamado **mosto de cerveza**, es transparente. Para llevar a cabo esta filtración se puede emplear un filtro «clarificador» especial. Al mosto se le añaden los aclarados del material filtrante. A continuación, se añade el lúpulo al mosto de cerveza para constituir el líquido a partir del cual, por fermentación, se obtendrá el mosto de cerveza definitivo. Algunos sistemas de amasado y la propia masa se pueden sustituir por operaciones más modernas utilizando jarabes derivados del maíz o de la cebada parcialmente hidrolizados.

Ebullición del mosto de cerveza con el lúpulo. El líquido que contiene el mosto de cerveza y el lúpulo se hierve durante dos horas y media aproximadamente, después de las cuales se filtra a través de los residuos de lúpulo. De esta forma se eliminan los sólidos del mosto de cerveza y las proteínas precipitadas. Se lava el precipitado con agua caliente para arrastrar la mayor parte de las sustancias solubles, y las aguas de lavado se añaden al primer filtrado. La masa o mosto de cerveza resultante está lista para ser fermentada.

La ebullición del mosto de cerveza con el lúpulo tiene varias finalidades: (1) concentrarlo, (2) esterilizarlo, prácticamente, (3) inactivar los enzimas, (4) extraer del lúpulo las sustancias solubles, (5) coagular y precipitar las proteínas y otros compuestos, (6) caramelizar ligeramente los azúcares, y (7) aportar sustancias antisépticas (principalmente las alfa-resinas humulona, cohumulona y adhumulona) al mosto de cerveza y a la cerveza. Estas resinas son eficaces frente a las bacterias grampositivas. Del lúpulo se extraen ácidos amargos y resinas que contribuyen a dar sabor, a estabilizar y principalmente a conservar la cerveza; un aceite esencial que aumenta algo más su sabor; y taninos, los cuales se eliminan en la mayor cantidad posible porque pueden ocasionar sabores desagradables y turbiedad de la cerveza. Los recientes progresos incluyen el empleo de extractos concentrados de lúpulo o lúpulos molidos envasados al vacío en sustitución de las flores completas de lúpulo desecadas.

Fermentación. Para inocular o «sembrar con el cultivo iniciador» el mosto de cerveza una vez se ha enfriado, se utiliza una levadura de cerveza especial de las que crecen en el fondo que es una cepa de *Saccharomyces carlsbergensis*. La levadura iniciadora es normalmente una levadura que se ha obtenido de una

fermentación anterior. Se emplea una cantidad relativamente importante de inóculo, aproximadamente 1 libra¹ por barril de cerveza (31,5 galones)². Durante la fermentación, la temperatura del mosto de cerveza varía en las distintas fábricas de cerveza, aunque normalmente suele estar comprendida entre 3,3 y 14°C. Algunos fabricantes de cerveza mantienen la temperatura entre 3,3 y 4,4°C aproximadamente, mientras que otros empiezan con una temperatura baja y después la elevan. En un plazo de 8 a 14 días, normalmente en un plazo de 8 a 10 días, la fermentación es total.

Durante la fermentación, la levadura convierte al azúcar del mosto de cerveza principalmente en alcohol y dióxido de carbono y pequeñas cantidades de glicerina y ácido acético. Las proteínas y derivados de las grasas producen pequeñas cantidades de alcoholes superiores y ácidos, mientras que los ácidos orgánicos y los alcoholes reaccionan entre sí para dar ésteres aromáticos. Conforme el dióxido de carbono se desprende en mayor cantidad, aumenta la formación de espuma; posteriormente, cuando la fermentación ha terminado, la formación de espuma disminuye hasta desaparecer. En una fase posterior, las levaduras de fondo «se rompen», es decir, precipitan y sedimentan. La multiplicación de las bacterias no es beneficiosa ni durante la fermentación ni durante el subsiguiente envejecimiento de la cerveza.

Envejecimiento o maduración. La cerveza joven o «verde» se guarda, o «encuba», en tinas a una temperatura próxima a 0°C durante un tiempo que oscila de desde varias semanas a varios meses, durante el cual tiene lugar la precipitación de las proteínas, de las levaduras, de las resinas y de otras sustancias no deseables, con lo cual la cerveza se vuelve transparente y suave, es decir, se convierte en cerveza madura. Se producen ésteres y otros compuestos que cooperan en la producción de su sabor y aroma, mientras que su cuerpo pasa de áspero a suave.

Acabado. Una vez envejecida, a la cerveza se le añade CO₂ hasta que este gas alcanza un porcentaje aproximado del 0,45 al 0,52 por cien, principalmente utilizando el gas recogido durante la fermentación. A continuación, la cerveza se enfría, se clarifica, o se filtra y se envasa en botellas, en botes o en barriles. El porcentaje de alcohol es de aproximadamente el 3,8 por cien expresado en peso. La cerveza que se ha de envasar en botes o en botellas pequeñas se somete a un tratamiento de pasteurización de corta duración a una temperatura en torno a los 60 a 61°C o se filtra a través de membranas o de otros tipos de filtros con el fin de eliminar la totalidad de las levaduras.

Tratamientos continuos. La preparación continua de la malta para acortar el período de germinación de la cebada supone el tratamiento del grano con agua

¹N. del T.: 1 libra = 453,59 g (0,450 g aprox.) = 0,45359 kg.

²N. del T.: 31,5 gal = 143,199 l.

mezclada con aire, en forma de un aerosol finamente pulverizado, una vez la cebada ha sido humedecida y lavada. La fermentación continua emplea el amasado y la ebullición ininterrumpidas del mosto de cerveza así como su fermentación en chorro continuo. La cerveza se puede embotellar sin madurar.

Microbiología. Las operaciones que se realizan durante la fabricación de la cerveza influyen de forma importante en la capacidad que los microorganismos tienen tanto para sobrevivir como para multiplicarse. Poco se sabe acerca de la multiplicación de los microorganismos durante la preparación de la malta, en la masa principal de malta, o en la masa de cereal-malta, aunque en los dos primeros casos debe tener lugar la multiplicación. Primeramente se prepara la masa principal de malta mezclando la malta molida con agua a una temperatura de 38 a 40°C. No obstante, la ebullición del mosto de cerveza y del lúpulo durante 2,5 horas proporciona el suficiente calor para destruir todas las esporas bacterianas excepto las más termorresistentes, como son las de algunas especies de *Bacillus* o de *Clostridium*, mientras que la acción combinada del calor y de las sustancias antisépticas que contiene el lúpulo pueden destruir la mayoría de ellas e inhibir la germinación de las supervivientes. El cultivo iniciador de levaduras que se utiliza como inóculo debe ser puro (aunque generalmente no suele serlo) y, por consiguiente, no debe aportar microorganismos contaminantes. El mosto de cerveza no es un medio apropiado para la multiplicación de algunos microorganismos por su bajo pH (de 3,7 a 4,5) y por su contenido en sustancias antisépticas extraídas del lúpulo. Además de ello, posteriormente, tanto durante la fermentación como durante el envejecimiento de la cerveza, las temperaturas son bajas y ambos procesos transcurren en anaerobiosis. El alcohol producido durante la fermentación también puede inhibir los microorganismos.

La cerveza debe impedir la multiplicación de los microorganismos por su pH bajo, por su contenido en sustancias antisépticas en forma de alcoholes y en forma de sustancias extraídas del lúpulo, (principalmente resinas y humulonas), y por la baja temperatura a la cual se guarda almacenada. Asimismo, durante todas las fases de su fabricación y durante su almacenamiento, la cerveza es un medio anaerobio y la mayor parte de la que se vende ha sido pasteurizada o filtrada.

Aún así, a pesar de todos los motivos citados por los cuales la cerveza debe estar exenta de microorganismos capaces de alterarla, está expuesta no sólo a defectos por causas físicas y químicas, sino también a «enfermedades» producidas por microorganismos. Como quiera que los microorganismos que mayor importancia tienen como agentes causales de enfermedades de la cerveza son destruidos fácilmente por temperaturas inferiores a la de ebullición, de ello se deduce que los citados microorganismos deben contaminarla después de haber sometido a ebullición el mosto de cerveza con el lúpulo.

Defectos y «enfermedades» de la cerveza

El término defectos se aplicará aquí a las características indeseables de la cerveza cuyas causas no son microbianas, como son: (1) la turbiedad debida a las

proteínas inestables, a los complejos que forman las proteínas con el tanino, al almidón, y a las resinas, (2) los sabores anormales producidos por ingredientes en malas condiciones o por el contacto con metales, y (3) las propiedades físicas no apropiadas. Esta revisión se limitará a las alteraciones debidas a microorganismos, siendo ésta la razón de que a este tipo de alteraciones se les conozca con la denominación de **infecciones de la cerveza** o **enfermedades de la cerveza**. En la fábrica de cerveza, la masa puede experimentar la fermentación butírica por especies de *Clostridium* o la fermentación láctica por bacterias lácticas, en el caso de que la masa se mantenga durante un tiempo excesivo a temperaturas que favorecen la multiplicación de las citadas bacterias. Los sabores anormales producidos en estas fermentaciones pueden pasar a la cerveza. En el Capítulo 21 se señaló que el cultivo de levaduras que se emplea como inóculo para iniciar la fermentación de la masa, normalmente suele estar contaminado con bacterias y con levaduras silvestres y puede contener microorganismos capaces de alterar la cerveza. Tanto las levaduras como las bacterias producen turbiedad cuando crecen en la cerveza, y de aquí que las levaduras de la cerveza procedentes de la fermentación pueden ser responsables de su turbiedad. Del mismo modo, las levaduras silvestres, por ejemplo, *Saccharomyces pastorianus* pueden enturbiar la cerveza. Las levaduras pueden ser inhibidas o excluidas eliminando el aire, fermentando la mayor parte del azúcar del mosto de cerveza con el fin de obtener una cerveza «seca», utilizando cultivos apropiados de levaduras de cerveza, y saneando adecuadamente la factoría. Las levaduras también pueden comunicar sabores y olores anormales a la cerveza. Así por ejemplo, el sabor amargo puede ser producido por *S. pastorianus*, y *Hansenula anomala* puede comunicarle un sabor que recuerda al de los ésteres. La mayoría de las levaduras producen olores a frutas, y algunas producen sulfuro de hidrógeno a partir del extracto de lúpulo de la cerveza. Aquellas levaduras que son capaces de utilizar las dextrinas existentes en la cerveza (p. ej., *Saccharomyces diastaticus*) son microorganismos capaces de alterarla.

Las bacterias que producen enfermedades de la cerveza pertenecen principalmente a los géneros *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Flavobacterium* y *Acetobacter*. La «enfermedad de las sarcinas», caracterizada por acidez, turbiedad y viscosidad de la cerveza, es producida por *Pediococcus cerevisiae*. Como quiera que los cocos se suelen agrupar de cuatro en cuatro, es decir, en tetradas, en un principio se pensó que se trataba de sarcinas.

Algunos lactobacilos, por tolerar la acidez y las sustancias antisépticas del lúpulo, son capaces de crecer en la cerveza. *Lactobacillus pastorianus** y *L. diastaticus** producen acidez y una turbiedad sedosa en la cerveza. Estas bacterias producen ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico, alcohol y dióxido de carbono a partir de los azúcares, y son especialmente perjudiciales en las fermentaciones superficiales, como son las que se utilizan para fabricar las cervezas de tipo «ale». Cuando *Zymomonas anaerobium* crece en la cerveza, produce una turbiedad sedosa y un olor que recuerda el olor a sulfhídrico y el olor a manzanas. Produce dióxido de carbono y alcohol. Esta especie es destruida fácilmente por el calor y rara vez se encuentra en la cerveza pasteurizada.

Obesumbacterium proteus es responsable de un olor y un sabor que recuerdan los de la chirivía, tanto en el mosto de cerveza como en la propia cerveza. Produce alcohol y ácido y no tolera un pH tan bajo como es un pH de 4,2. Se ha comprobado que es un contaminante corriente de las levaduras de los inóculos. Cuando crecen en aerobiosis, las especies de los géneros *Acetobacter* y *Gluconobacter*, que toleran la acidez y los antisépticos del lúpulo, pueden acidificar tanto el mosto de cerveza como la cerveza. La exposición al oxígeno se puede dar en los mostos de cerveza que permanecen almacenados durante un tiempo excesivo, en los barriles de cerveza vacíos, y en las levaduras de los inóculos. Son varias las especies que pueden acidificar la cerveza; *Gluconobacter oxydans* subesp. *sub-oxydans** y *G. oxydans* subesp. *industrius** pueden producir viscosidad; y a *A. pasteurianus* se le ha atribuido la producción de turbiedad y acidez.

A otras bacterias, incompletamente descritas y no identificadas, se les ha atribuido la producción de enfermedades de la cerveza. Se ha culpado a especies de los géneros *Micrococcus**, *Streptococcus* y *Bacillus* de ocasionar defectos, aunque en algunas ocasiones simplemente se encontraban en la cerveza. Se ha señalado que *Streptococcus mucilaginosus**, microorganismo que probablemente sea un pediococo, produce viscosidad.

Se debe volver a insistir en que todas las levaduras y todas las bacterias que producen infecciones o enfermedades en el mosto de cerveza y en la cerveza, son destruidas al hervir el mosto y el lúpulo y deben llegar posteriormente a la cerveza procedentes del equipo, del aire, del agua o de la levadura que se utiliza como inóculo y en que las precauciones de asepsia y de higiene contribuirán a evitar los inconvenientes citados.

Otras bebidas de malta y tipos de cerveza

Las variaciones en las bebidas de malta o en los tipos de cerveza suelen estar relacionadas con: (1) el contenido alcohólico, (2) la concentración de malta y de lúpulo utilizados, (3) la duración del envejecimiento, (4) los sólidos totales existentes inicialmente (que relaciona los carbohidratos fermentescibles existentes inicialmente con los que quedan después de la fermentación), y (5) la temperatura de fermentación.

El licor de malta puede tener un contenido alcohólico superior al de la cerveza corriente.

La **cerveza oscura fuerte** es una cerveza de color muy oscuro con un elevado contenido de alcohol. Su fabricación supone la adición de concentraciones más elevadas de malta y de lúpulo seguida de un envejecimiento de mayor duración.

La **cerveza tipo Pilsen** es una cerveza de tipo «lager»¹, de color claro, en la que quedan pocos carbohidratos fermentescibles.

¹N. del T.: La cerveza de tipo «lager» es una cerveza ligera originaria de Alemania (*Lagerbier*), que se diferencia de los demás tipos de cerveza porque su fermentación tiene una duración mayor y tiene lugar a una temperatura más baja.

Las **cervezas bajas en calorías, ligeras, o sin carbohidratos** se fabrican con mosto de cerveza previamente hidrolizado. Los enzimas fúngicos (glucoamilasas y amilasas) se utilizan para hidrolizar la dextrina a maltosa y a glucosa, las cuales pueden ser fermentadas totalmente para dar alcohol; el resultado final es una menor concentración de los carbohidratos que quedan en la cerveza.

La **cerveza tipo ale** se suele fabricar con una levadura de superficie, una cepa de *Saccharomyces cerevisiae*, en lugar de la levadura de fondo que se emplea para fabricar la cerveza corriente, aunque a veces se utiliza una levadura de fondo. La fermentación principal tiene lugar a una temperatura comprendida entre 12,2 y 24,4°C, temperatura que es más elevada que la que se utiliza para fabricar la cerveza corriente, y, por lo tanto, la fermentación es más rápida, puesto que dura de 5 a 7 días. La levadura de superficie forma unos grumos que recogen el dióxido de carbono y son llevados a la superficie del mosto de cerveza. De vez en cuando se retira la espuma que forma la levadura. En la fabricación de la ale se utiliza mayor cantidad de lúpulo que en la cerveza y algunas cervezas de tipo ale tienen un contenido alcohólico más elevado. La ale suele tener un color pálido y un sabor acre.

Las cervezas de los tipos **weiss, porter¹ y stout²** son ales en cuya fabricación se emplean levaduras de superficie. La cerveza de tipo weiss es una ale ligera y acre que se fabrica principalmente con trigo. Las cervezas de tipo porter y stout son ales negras, fuertes y dulces.

Bebidas parecidas a la cerveza

El **sake** es un vino o una cerveza de color amarillo, de origen japonés, que se fabrica con arroz, con un contenido alcohólico del 14 al 17 por cien aproximadamente. El fermento, o koji, para la fabricación del sake se prepara cultivando *Aspergillus oryzae* en una masa de arroz macerado y tratado con vapor de agua hasta que se obtiene la mayor cantidad posible de enzimas. El koji preparado de esta forma contiene amilasas que hidrolizan el almidón del arroz dando azúcares que pueden ser utilizados por las levaduras y otros enzimas hidrolíticos, como son las proteínas. El koji se mezcla con más masa de arroz, el almidón se convierte en azúcar, y varias especies de levaduras del género *Saccharomyces* llevan a cabo la fermentación alcohólica. El sake es el líquido que se obtiene filtrando la masa fermentada transcurridos de 10 a 14 días. El **sonti** es un vino o una cerveza de la

¹ N. del T.: Cerveza de color pardo oscuro y de sabor amargo, parecida a la cerveza de tipo «stout», que se fabrica (en la actualidad principalmente en Irlanda) con malta pasada de tueste o con malta tostada.

² N. del T.: Cerveza fuerte de color oscuro que se fabrica con cebada o malta perfectamente tostadas y a veces con azúcar caramelizado.

India que se fabrica con arroz. En su fermentación intervienen el moho *Rhizopus sonti* y levaduras.

El **pulque** es una bebida de Latino-América parecida a la cerveza que contiene aproximadamente un 6 por cien de alcohol, que se obtiene por fermentación natural del jugo del agave o pita¹.

La **cerveza de jengibre** es una bebida ácida ligeramente alcohólica que se elabora por fermentación de una solución de azúcar aromatizada con jengibre. El fermento es la planta del jengibre, en la cual una levadura, *Saccharomyces pyriformis*, y una bacteria capsulada, *Lactobacillus vermiformis** se encuentran englobadas en la sustancia gelatinosa de la cápsula del lactobacilo.

VINOS

A no ser que se especifique otra cosa, el término **vino** se aplica aquí para designar al producto obtenido mediante la fermentación alcohólica por levaduras de las uvas o del zumo de uvas y el subsiguiente proceso de envejecimiento. No obstante, se pueden elaborar vinos por fermentación de jugos de frutas, de bayas, de ruibarbo, de dientes de león, de miel, etc.

Vino de uva

Los vinos de uva son en su mayor parte tintos o blancos. Los vinos tintos contienen el pigmento rojo del hollejo de las variedades de uvas rojas o moradas, mientras que los vinos blancos se elaboran con uvas blancas o con el zumo de otras uvas fermentado sin el hollejo. Se expondrá brevemente la fabricación del vino tinto como ejemplo de las operaciones de la fabricación del vino.

Preparación del zumo

Las uvas de una variedad especialmente calificada para la fabricación de vino se vendimian en el momento en que tienen el contenido de azúcar deseado. La concentración de azúcar puede oscilar entre el 15 y el 25 por cien en función de la variedad de uva y su grado de madurez. Las uvas se tratan con vapor de agua y se aplastan mecánicamente y, a continuación, se tratan con dióxido de azufre (de 75 a 200 ppm), o con metabisulfito potásico en cantidades equivalentes, con el fin de inhibir el crecimiento de los competidores perjudiciales de la levadura del vino.

¹N. del T.: También conocida en América con el nombre de maguey (*Agave americana* L.).

Fermentación. A las uvas aplastadas, es decir, al mosto, se les añade un «inóculo natural» (levadura existente en la superficie de las uvas) o, más corrientemente, se le añade de un 2 a un 5 por cien de una levadura vínica especial que es una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* var, *ellipsoideus*. Al principio, el contenido del tanque de fermentación se mezcla dos veces al día perforando la «capa superficial» formada por el hollejo de los granos de uva, por los tallos de los racimos, etc., que flotan, bombeando el zumo sobre los hollejos o mezclándolo de alguna otra forma para airearlo y, por consiguiente, para estimular el crecimiento de la levadura y favorecer la extracción del pigmento de los hollejos (en los vinos tintos). En lugar de proceder de la forma indicada, el pigmento rojo se puede extraer de los hollejos mediante calor y se puede añadir de nuevo al mosto. Más tarde, se deja de mezclar el contenido del tanque, ya que la anaerobiosis es más favorable para que en el mosto tenga lugar la fermentación alcohólica. Es muy importante que la temperatura se mantenga dentro de un intervalo óptimo, es decir, entre 24 y 27°C para los vinos tintos, mientras tiene lugar la fermentación activa, la cual dura alrededor de 3 a 5 días, y entre 10 y 21°C para los vinos blancos (en los que la fermentación activa dura de 7 a 14 días). Una temperatura excesivamente elevada inhibe las levaduras del vino y permite que los microorganismos competitivos, por ejemplo los lactobacilos, crezcan y produzcan defectos; una temperatura excesivamente baja retarda la actividad de las levaduras del vino y permite que crezcan levaduras silvestres, bacterias lácticas y otros microorganismos. Durante la fermentación se libera calor, y esta circunstancia, unida a la existencia de temperaturas atmosféricas elevadas, es posible que haga necesario el enfriamiento artificial del mosto.

Una vez que la primera fermentación o fermentación activa ha avanzado suficientemente, el mosto fermentado se separa de los residuos (bagazo) y se coloca en un tanque de almacenamiento bajo ligera presión de dióxido de carbono para que tenga lugar la fermentación secundaria, la cual dura de 7 a 11 días a una temperatura en torno a 21 a 29°C. Si se desea un vino seco, al tener lugar esta segunda fermentación es fermentado el azúcar que queda en el mosto. El vino transparente se extrae, o «se trasiega», para separarlo del sedimento que queda en el fondo del tanque.

Almacenamiento y envejecimiento. Antes de su envejecimiento, el vino puede ser sometido a una pasteurización instantánea (aunque normalmente no se suele pasteurizar) con el fin de precipitar las proteínas. Se enfría, se observa durante unos días, se filtra y se trasvasa a toneles de madera (normalmente de roble blanco o de madera roja) o a tanques de hormigón revestidos de plástico para que envejezca. Periódicamente se separa el vino del sedimento existente en el fondo de los toneles o de los tanques de hormigón. El envejecimiento del vino durante meses o durante años da como resultado una serie de cambios beneficiosos en su cuerpo y en su sabor, que le dan el aroma o bouquet que deben ser una de sus características. Se considera que tanto los ésteres como los alcoholes influyen de forma importante en el bouquet y en la palatabilidad de los vinos.

Mientras el vino envejece, es posible que tenga lugar cierta fermentación del ácido málico del zumo de uvas por lactobacilos o por micrococos* (fermentación maloláctica), con producción de ácido láctico y dióxido de carbono y disminución de la acidez.

Una vez envejecido, el vino se filtra o se clarifica por cualquier otro procedimiento, se introduce en toneles o se embotella, y se almacena. Algunos vinos se pasteurizan una vez envejecidos, generalmente embotellados. El contenido alcohólico definitivo varía ampliamente, aunque suele oscilar entre el 6 y el 9 por cien en peso o entre el 8 y el 13 por cien en volumen.

Acidez volátil de los vinos. Un elevado contenido de ácidos volátiles en el vino indica que la fermentación no ha sido correcta. En los Estados Unidos el límite legal de acidez volátil, expresada en ácido acético, es de 0,14 mg por 100 ml para el vino tinto y de 0,12 g por 100 ml para el vino blanco.

Microbiología. Cuando se aplastan las uvas, en su superficie existen diversos microorganismos, entre los cuales se incluyen levaduras y bacterias. En ellas no sólo se encuentra la flora propia de su superficie, sino que también existe una serie de contaminantes procedentes del suelo. Para eliminar estos microorganismos, el fabricante de vinos añade dióxido de azufre o sulfitos al mosto o, con menor frecuencia, lo pasteuriza. Durante la fermentación principal, predomina la levadura vínica añadida. Durante las primeras etapas de la fermentación, el crecimiento de la levadura es favorecido por la aireación del mosto; más tarde, la anaerobiosis favorece la fermentación alcohólica llevada a cabo por levaduras, que libera dióxido de carbono y alcohol etílico, sustancias que contribuyen a inhibir los microorganismos que no son levaduras vínicas. La atmósfera de dióxido de carbono existente por encima de la superficie del vino durante la fermentación secundaria impide el crecimiento de los contaminantes aerobios, como por ejemplo las bacterias acéticas. La pasteurización que se lleva a cabo a continuación, si bien no tiene esta finalidad, reduce el número de microorganismos que más tarde podrían producir alteraciones («enfermedades») en el vino. Durante el envejecimiento y almacenamiento del vino, el crecimiento de microorganismos debe ser escaso o nulo, aunque es posible que los microorganismos que son capaces de crecer después tengan su origen en la contaminación de los tanques, de los toneles, o de las botellas, y es posible que en él tengan lugar cambios, como por ejemplo la fermentación maloláctica.

Tipos de vinos

No se intentará dar la lista de los diferentes nombres que se adjudican a los diferentes tipos de vinos. En lugar de ello, se definirán unos cuantos términos generales descriptivos. La mayoría de los vinos son **no espumosos** —es decir, no conservan el dióxido de carbono producido durante la fermentación— al contrario

de lo que sucede en los vinos **espumosos**, los cuales contienen cantidades importantes de este gas. A otros vinos se les puede **carbonatar**¹ artificialmente. Los vinos **secos** no contienen azúcar sin fermentar o lo contienen en escasa cantidad, al contrario de lo que sucede en los vinos **dulces**, los cuales poseen azúcar residual o añadido. Los vinos suelen tener un contenido alcohólico que oscila entre el 11 y el 16 por cien en volumen, aunque a veces este porcentaje puede ser del orden del 7 por cien. Sin embargo, los vinos **reforzados**, a los cuales se les ha añadido productos de la destilación del vino conocidos con la denominación de «espíritus de vino» o «brandy», contienen entre el 19 y el 21 por cien de alcohol en volumen, aproximadamente. Los vinos **de mesa** tienen un contenido alcohólico relativamente bajo y no contienen azúcar o lo contienen en escasa cantidad, mientras que los vinos **de postre** son dulces y reforzados.

El sherry francés seco tiene interés porque se elabora con uvas que poseen un elevado porcentaje de azúcar como consecuencia de que son desecadas por un moho gris que las infecta denominado *Botrytis cinerea*; por consiguiente, producen un vino con un elevado porcentaje de alcohol. En el jerez español, crece una levadura formadora de película, que probablemente pertenezca a una o más especies de *Saccharomyces*, mientras el vino está siendo trasegado a toneles que se llenan parcialmente una vez han tenido lugar las fermentaciones principales. Este crecimiento de levaduras, o «flor», comunica al vino un bouquet y un sabor especiales.

Defectos del vino y alteraciones producidas por microorganismos

Lo mismo que ocurre en la cerveza, el vino presenta defectos debidos a causas no microbianas y alteraciones producidas por microorganismos. Entre los defectos se incluyen los debidos a metales o a sus sales, a enzimas, o a los agentes que se emplean para clarificar el vino. El hierro, por ejemplo, puede producir un sedimento conocido con las distintas denominaciones de quiebra gris, quiebra negra, quiebra azul, o quiebra férrica, mientras que en los vinos blancos puede ser responsable de un precipitado blanco de fosfato de hierro denominado quiebra blanca². Al estaño, al cobre y a las sales de estos dos metales se les ha atribuido la producción de turbiedad. Los vinos blancos se pueden volver pardos mientras que el color de los vinos tintos puede precipitar por acción de la peroxidasa, enzima oxidante que poseen ciertos mohos. La gelatina que se utiliza para clarificar los vinos puede enturbiarlos.

Los microorganismos que alteran el vino son principalmente levaduras silvestres, mohos, y bacterias pertenecientes a los géneros *Acetobacter*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, y tal vez a los géneros *Micrococcus** y *Pediococcus*.

¹ N. del T.: Añadir dióxido de carbono.

² N. del T.: Con el nombre de «quiebras» se designa a una serie de defectos del vino que se caracterizan por cambios de color y pérdida de su transparencia. Las más conocidas son la quiebra parda, la quiebra férrica, la quiebra cúprica, la quiebra negra y la quiebra blanca.

Factores que influyen en el crecimiento de los microorganismos en el vino. Los factores que se sabe que influyen en la sensibilidad de los vinos a ser alterados por microorganismos son:

- 1 La acidez o pH.** Cuanto más bajo es el pH, tanto menor es la probabilidad de que el vino se altere. El pH mínimo que permite el crecimiento de los microorganismos es distinto para cada microorganismo, para cada tipo de vino, y varía en función de su contenido en alcohol. El crecimiento de los mohos, de las levaduras y de las bacterias acéticas no será detenido por ningún pH normal del vino, aunque la mayoría de las bacterias lácticas tolerarán la acidez por debajo de valores del pH de aproximadamente 3,3 a 3,5, pH más bajo que el de la mayoría de los vinos (la mayoría de los vinos de mesa de California tienen un pH en torno a unos valores comprendidos entre 3,5 y 4,0).
- 2 El contenido de azúcar.** Los vinos secos (con un porcentaje de azúcar del 0,1 por cien o menos), con su bajo contenido de azúcar, rara vez son alterados por bacterias, aunque un porcentaje de azúcar comprendido entre un 0,5 y un 1 por cien favorecerá su alteración.
- 3 La concentración de alcohol.** La tolerancia al alcohol varía de acuerdo con el microorganismo que produce la alteración. Así por ejemplo, las bacterias acéticas que alteran los mostos y los vinos son inhibidas por un porcentaje de alcohol, en volumen, superior a un 14 a 15 por cien, aunque los cocos desacidificantes son inhibidos por un porcentaje de alcohol próximo al 12 por cien, las especies de *Leuconostoc* por un porcentaje superior al 14 por cien, los lactobacilos heterofermentativos por aproximadamente el 18 por cien (excepto *Lactobacillus trichodes**, que crece en vinos reforzados cuyo porcentaje de alcohol supera el 20 por cien), y los lactobacilos heterofermentativos son inhibidos por un porcentaje de alcohol del 10 por cien aproximadamente.
- 4 La concentración de sustancias accesorias del crecimiento.** Las especies de *Acetobacter* son capaces de sintetizar sus propias vitaminas, si bien a las bacterias lácticas se les debe proporcionar la mayoría de ellas. El principal origen de estas sustancias en los vinos lo constituye la levadura vínica, la cual, tras su autólisis, libera los factores accesorios del crecimiento. Cuanto mayor es la cantidad de estas sustancias en el vino, tanto mayor es la posibilidad de que sea alterado por las bacterias lácticas.
- 5 La concentración de taninos.** Los taninos que se añaden al vino junto con gelatina para clarificarlo retardan la multiplicación de las bacterias, aunque no se suelen añadir en la cantidad suficiente para que tengan mucha importancia práctica como inhibidores.
- 6 La cantidad de dióxido de azufre existente en el vino.** Cuanto mayor es la cantidad de dióxido de azufre que se añade al vino, tanto más se retrasa la multiplicación de los microorganismos capaces de alterarlo. La cantidad de 75 a 200 ppm que se suele añadir al mosto suele ser adecuada. Su eficacia depende de la especie de microorganismo cuya multiplicación sea preciso

retardar y aumenta conforme descienden el pH y la concentración de azúcar del vino.

- 7 *La temperatura de almacenamiento.* La alteración del vino suele ser más rápida a temperaturas comprendidas entre 20 y 35°C, siendo más lenta conforme la temperatura desciende y se aproxima al punto de congelación.
- 8 *La existencia de aire.* La ausencia de aire impide el crecimiento de los microorganismos aerobios, como son los mohos, las levaduras formadoras de película, y las bacterias del género *Acetobacter*, aunque las bacterias lácticas crecen perfectamente en anaerobiosis.

Alteración por microorganismos aerobios. Las levaduras formadoras de película, las cuales son capaces de oxidar el alcohol y los ácidos orgánicos, pueden crecer en la superficie del mosto y de los vinos expuestos al aire y producir una película gruesa denominada «flores del vino». No deben originar trastorno alguno si el mosto se mezcla de vez en cuando y se evita que el vino entre en contacto con el aire.

En presencia de aire, las bacterias acéticas aerobias, habitualmente *Acetobacter aceti* o *Gluconobacter oxydans*, oxidan a ácido acético el alcohol del mosto o del vino, proceso no deseable que recibe la denominación de **acetificación**. Estas especies bacterianas también pueden oxidar a ácido glucónico la glucosa del mosto comunicándole un sabor «arratonado» o «agridulce».

Algunos mohos, como por ejemplo los pertenecientes a los géneros *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus*, y otros, pueden crecer en las paredes de la planta industrial, en los toneles, en los tanques, en las mangueras, y en los tapones de corcho y también pueden crecer en la superficie de las uvas y en la del mosto frío. Los mohos se controlan con una adecuada limpieza de las paredes y del equipo.

Alteración por microorganismos facultativos. Las levaduras silvestres, que incluyen a todas las levaduras excepto las que se añaden al vino como fermento, pueden llevar a cabo fermentaciones anormales que dan como resultado un escaso porcentaje de alcohol, una elevada acidez volátil, sabores anormales, y turbiedad en el vino. Las levaduras, que proceden principalmente de las uvas a partir de las cuales se elabora el mosto y son preferentemente levaduras apiculadas, se suprimen o eliminan utilizando un fermento activo de la levadura vínica, por sulfitación o pasteurización del mosto antes de su fermentación, o controlando la temperatura del mosto durante su fermentación. Las temperaturas bajas, inferiores a 21,1°C, favorecerán el crecimiento de algunas levaduras silvestres y de las bacterias que producen mucílago.

Las bacterias lácticas son la causa principal de la alteración del mosto y de los vinos por bacterias. Ha existido cierta confusión en la adjudicación de denominaciones a los distintos tipos de alteración de los vinos por bacterias, probablemente porque distintas especies bacterianas pueden ser capaces de producir la misma alteración o porque, bajo condiciones distintas, el mismo microorganismo puede producir distintas alteraciones. Probablemente la alteración que se da con mayor

frecuencia es la denominada *tourne*¹ (acidificación o agriado) en la cual las especies heterofermentativas del género *Lactobacillus*, como son *L. brevis*, *L. hilgardii*, *L. trichodes** y tal vez *L. buchneri*, producen ácido a partir de los azúcares, de la glucosa, y de la fructosa existentes en el vino. El crecimiento de los lactobacilos en el vino produce una turbiedad sedosa, aumenta la cantidad de los ácidos láctico y acético, produce dióxido de carbono, a veces le comunica un sabor «a ratón» u otros sabores desagradables, y altera su color. Cuando la fermentación de la fructosa da lugar a la formación del producto amargo manitol, a veces se califica de «manítica»; el amargor (*amertume*) también puede ser debido a la fermentación del glicerol del vino. La producción de ácido debida a cualquier causa, como por ejemplo la liberación de dióxido de carbono por las bacterias lácticas heterofermentativas, recibe el nombre de *pousse*². En los vinos de mesa, la especie heterofermentativa *L. plantarum* produce principalmente ácido láctico a partir de los azúcares, aumentando la acidez fija y comunicándoles un sabor «arratonado».

La acidez del vino puede ser reducida por las bacterias que lo alteran mediante la oxidación de los ácidos málico, cítrico, y tartárico que llevan a cabo las bacterias del género *Acetobacter* (aerobio) o mediante la oxidación de los ácidos málico y tartárico por especies de los géneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, o *Pediococcus*, o *mesenteroides*; mientras que *Lactobacillus trichodes**, que no crece en los mostos, es la única especie conocida que altera los vinos de postre de California. Es interesante señalar que la producción de ácido láctico a partir del ácido málico en los vinos muy ácidos puede mejorar su calidad al reducir su acidez. El ácido lactico es un ácido más débil que el ácido málico, y de tres moléculas de ácido

¹N. del T.: Descomposición del ácido tartárico con formación de ácido acético y gas carbónico y disminución de la acidez del vino, tanto de la real como de la titulable, con las consecuencias ya conocidas de turbiedad, ennegrecimiento, pardeamiento al aire y gusto soso.

²N. del T.: Enfermedad del vino caracterizada por una fermentación con desprendimiento de gas carbónico por otros cocos.

El mucílago o viscosidad de los vinos blancos jóvenes, acompañada de turbiedad y del aumento de la acidez volátil, se ha atribuido a ciertas especies de *Leuconostoc*, a *L. mesenteroides*, y a *L. dextranicum*; a micrococos*; y a lactobacilos. La adición de glucosa, cuando está permitida, favorece la producción de dextrano y, por consiguiente, la producción de mucílago por especies del género *Leuconostoc*. Es probable que cualquier bacteria o cualquier levadura que crezca en el vino origine una turbiedad indeseable, y que cualquier bacteria acética o cualquier bacteria láctica heterofermentativa que crezca en el vino pueda aumentar su acidez volátil hasta un grado que lo convertirá en invendible. La fermentación de los azúcares suele dar lugar a un aumento de la acidez, de la acidez fija si la bacteria láctica es heterofermentativa, y de la acidez fija y volátil si el microorganismo es heterofermentativo. La oxidación o fermentación de los ácidos orgánicos de la uva da lugar a una disminución de la acidez fija. Se debe insistir de nuevo en que la composición del vino es importante a la hora de determinar la posibilidad de que las bacterias lo alteren. De acuerdo con ello, los vinos blancos de bajo contenido alcohólico están más fácilmente expuestos que los demás vinos a volverse viscosos y a ser alterados por cocos; en los mostos y en los vinos de mesa crecen las especies *Lactobacillus hilgardii*, *L. brevis*, y *Leuconostoc*.

málico únicamente se originan dos moléculas de ácido láctico. Algunas bacterias también son capaces de producir ácido láctico a partir del ácido tartárico y del glicerol del vino.

Otros vinos

Vinos elaborados con otras frutas. Se puede obtener vino con casi todas las clases de frutas, incluyendo las manzanas (**sidra fermentada**), los melocotones, los albaricoques, las ciruelas, las peras (**perry**), las cerezas, las bayas, y muchas otras. Las bayas y la mayoría de las demás frutas (excepto las uvas que se emplean para obtener vino) no contienen la cantidad suficiente de azúcar para obtener un buen vino y de aquí que se tengan que «mejorar» añadiéndoles azúcar antes de que fermenten. Por otra parte, la elaboración del vino de estas frutas es parecida a la elaboración del vino de uvas. Los vinos que se obtienen pueden ser secos, dulces, reforzados, espumosos o carbónicos. A partir de frutos secos, como por ejemplo a partir de las pasas, de los dátiles, de los higos, y de las ciruelas, también se pueden elaborar vinos para ser consumidos como tales o para ser destilados con el fin de obtener brandies.

Se ha prestado gran atención a la fabricación y a las enfermedades del vino de manzanas o sidra fermentada que se elabora con el zumo que se obtiene al exprimir las manzanas. Gran parte de la sidra fermentada de América se fabrica localmente con manzanas que no se adaptan especialmente a su elaboración y es fermentada por las levaduras que se encuentran en las mismas de forma natural. Por consiguiente, a menudo únicamente se produce de un 4 a un 6 por cien de alcohol, existe un residuo de azúcar, y tanto su sabor como su bouquet pueden ser escasos o faltar. Las sidras inglesas y francesas y algunas sidras americanas fabricadas a escala industrial, se obtienen a partir de manzanas que contienen un elevado porcentaje de azúcares y de tanino. Entre las operaciones de su fabricación se pueden incluir la sulfitación, la adición de azúcares y nutrientes para las levaduras, y la inoculación con un cultivo de levaduras de eficacia probada. Se ha indicado que durante la elaboración de la sidra son activos lactobacilos heterofermentativos que fermentan los ácidos málico y cítrico, los azúcares, y el glicerol para producir dióxido de carbono; los ácidos láctico, acético, propiónico y succínico; y el manitol.

La mayoría de las alteraciones o enfermedades de la sidra fermentada son parecidas a las del vino de uvas: turbiedad, bajo contenido de alcohol y sabores anormales originados por levaduras silvestres: turbiedad y sabores desagradables producidos por lactobacilos; mucosidad o viscosidad debida a bacterias; producción de ácido acético, etc. La acidez baja y el bajo contenido de nitrógeno de las sidras estimulan el crecimiento de los microorganismos que las alteran.

Vinos elaborados con otros productos agrícolas. Teóricamente, todo producto comestible que contenga la suficiente cantidad de humedad, de azúcar

y de los demás nutrientes que utilizan las levaduras, se puede utilizar para elaborar vino. El vino de miel, o **hidromiel**¹ se fabrica con miel diluida a la cual se le han añadido sales minerales y nutrientes nitrogenados para las levaduras. El vino de diente de león² es un vino de fabricación casera que se elabora mediante la fermentación alcohólica de un extracto acuoso de flores de diente de león, al cual se le ha añadido azúcar, sustancias que le dan sabor, y levadura.

LICORES DESTILADOS

Los licores destilados, o espíritus, que aquí nos interesan son los elaborados por destilación de un producto que ha experimentado una fermentación alcohólica. El **ron** es el destilado de la fermentación alcohólica del jugo, de los jarabes, o de la melaza de la caña azucarera. Los **whiskys** son destilados que se obtienen a partir de masas de granos sacarificadas y fermentadas, por ejemplo, el whisky de centeno, que se elabora con una masa de granos de centeno, el whisky de maíz que se elabora con una masa de maíz, el whisky de trigo, con una masa de trigo, etc. Tanto los whiskys como los rones se fabrican con masas fermentadas por levaduras especiales que emplean los destiladores, cepas de *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*, que producen grandes cantidades de alcohol. Las masas de granos se suelen acidificar con el fin de favorecer el crecimiento de las levaduras. El envejecimiento de los licores destilados en toneles de madera de roble socarrada, es un proceso químico más que biológico. El término **brandy** significa que se trata de un destilado de vino de uva, a no ser que se le añada una palabra que especifique otra procedencia, por ejemplo, brandy de manzana (applejack), brandy de melocotón, y brandy de albaricoque.

Los licores destilados no deben presentar problemas de alteración por microorganismos.

VINAGRE

En el Capítulo 13 se señaló que, a las temperaturas ordinarias, el desarrollo normal de los cambios en los zumos de frutas es una fermentación alcohólica por

¹ N. del T.: Otros nombres con los cuales se conoce este «vino» son los siguientes: aguamiel, aloja, meloja y agualoja.

² N. del T.: A esta abundante y conocida planta herbácea, de flores amarillas, perteneciente a las Compuestas, también se le conoce con el nombre de amargón.

levaduras, seguida de la oxidación a ácido acético por bacterias acéticas. Si en la fermentación se produce bastante cantidad de ácido acético, el producto obtenido se denomina vinagre. El **vinagre** se define como un condimento que se elabora por fermentación alcohólica de sustancias azucaradas o amiláceas, seguida de una fermentación acética. Para que sea vinagre legal, debe contener como mínimo 4 g de ácido acético por 100 ml (o 40 granos)¹.

Clases de vinagre

Teniendo en cuenta la materia prima a partir de la cual han sido fabricados, los vinagres se pueden clasificar en las clases siguientes: (1) vinagres de jugos de frutas, por ejemplo de manzanas, de uvas, de naranjas, de peras, de bayas, etc. (2) vinagres fabricados con hortalizas amiláceas, como son los vinagres de patata y de batata, cuyo almidón debe ser previamente hidrolizado a azúcares, (3) vinagres fabricados con cereales malteados, como son los vinagres de cebada, de centeno, de trigo, y de maíz, (4) vinagres fabricados con productos azucarados, como son los que se fabrican con jarabes, con melaza, con miel, con la espuma del jarabe de meple, etc., y (5) vinagres que se fabrican con espíritu de vino, o alcohol, por ejemplo, el que se fabrica con el líquido que queda después de preparar la levadura (cerveza), o el que se fabrica con alcohol etílico desnaturalizado y diluido. De hecho, para fabricar vinagre se puede utilizar cualquier materia prima que contenga la suficiente cantidad de azúcar o de alcohol y que no sea rechazable como alimento. La denominación descriptiva de las distintas clases de vinagre deriva de la materia prima que se ha utilizado para su fabricación: vinagre de sidra es el que ha sido fabricado con zumo de manzanas, el vinagre de cerveza² se obtiene a partir de la ale, el vinagre de malta, que se obtiene a partir de cereales malteados, el vinagre de espíritu de vino a partir del alcohol, etc. En los Estados Unidos, la mayor parte del vinagre de mesa es vinagre de sidra, y de aquí que el término vinagre, si no se especifica otra cosa, se suele emplear para referirse al vinagre de sidra. El vinagre de uvas (vinagre de vino) es más corriente en Francia, mientras que en las Islas Británicas lo es el vinagre fabricado con líquidos malteados (vinagre de cerveza).

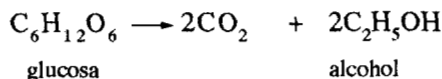
Fermentación

Según ya se ha indicado, la fabricación del vinagre a partir de materias primas que contienen azúcar comprende dos pasos: (1) la fermentación del azúcar a alcohol etílico y (2) la oxidación del alcohol a ácido acético. El primer paso es un

¹ N. del T.: Grano: Antigua unidad de peso que se utilizaba en Farmacia.

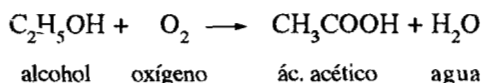
² N. del T.: De la cerveza inglesa ale se obtiene la cerveza agria («alegar») o vinagre de cerveza.

proceso anaeróbico llevado a cabo por levaduras, bien sea por las existentes de forma natural en la materia prima utilizada, o bien, preferentemente, por cultivos de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* que producen grandes cantidades de alcohol, los cuales se incorporan a la materia prima. La reacción simplificada de este proceso es la siguiente:



En realidad, tienen lugar una serie de reacciones intermedias, y se producen pequeñas cantidades de otras sustancias, como por ejemplo glicerol y ácido acético. Asimismo, también se encuentran pequeñas cantidades de otras sustancias, producidas a partir de compuestos que no son azúcares, entre las cuales se incluyen el ácido succínico y el alcohol amílico.

El segundo paso, oxidación del alcohol a ácido acético, es una reacción anaeróbica llevada a cabo por bacterias acéticas:



En esta reacción, el acetaldehído es un producto intermedio. Entre los productos finales de la reacción se encuentran pequeñas cantidades de aldehídos, ésteres, acetoína, etc.

La octava edición del Manual de Bergey propuso tres grupos de *Acetobacter* con un total de nueve subespecies. El género *Gluconobacter* contenía especies con capacidad para oxidar el etanol a ácido acético.

El Volumen 2 del Manual de Bergey (1986) propuso una Familia denominada *Acetobacteriaceae* que comprendía dos géneros: *Acetobacter* y *Gluconobacter*. Las especies de este último género se diferenciaban de las del género *Acetobacter* por su incapacidad para oxidar los ácidos acético y láctico a dióxido de carbono. En la actualidad, el género *Acetobacter* se define como un género que contiene especies capaces de oxidar los ácidos acético y láctico a dióxido de carbono. Muchas de las denominadas «bacterias acéticas» en la actualidad se incluyen en el género *Gluconobacter*. Si bien es posible que la mayor parte del «trabajo» de la fermentación del vinagre lo realicen especies del género *Gluconobacter*, los cultivos que en realidad se utilizan para su fabricación industrial no son cultivos puros, sino que son una mezcla de cepas que han sido adaptadas a la fermentación.

Procedimientos de fabricación

Las distintas formas de fabricación del vinagre se pueden dividir en procedimientos «lentos», como son el procedimiento casero, o procedimiento de «dejar que se haga por sí solo», y el procedimiento francés o de Orleans, y procedimien-

tos «rápidos», como son el procedimiento del generador de vinagre o el procedimiento de nebulización. En los procedimientos lentos, durante la acetificación, el líquido alcohólico no se desplaza, mientras que en los procedimientos rápidos el líquido alcohólico se encuentra en movimiento. Para producir el ácido acético, la mayoría de los procedimientos lentos utilizan jugos de frutas fermentados o líquidos de malta, mientras que los procedimientos rápidos se utilizan principalmente para producir vinagre a partir del espíritu de vino (alcohol). Tanto los jugos de frutas como los líquidos de malta contienen una abundante cantidad de nutrientes para las bacterias del vinagre, aunque para mantener activas a estas bacterias en los procedimientos del generador que utilizan alcohol, desnaturalizado con acetato de etilo o con vinagre, es preciso añadirle como suplemento «nutriente del vinagre», que es una mezcla de compuestos orgánicos e inorgánicos cuya composición es distinta para cada fabricante. Se ha señalado que, como nutrientes del vinagre, se han utilizado mezclas de varias sustancias, como por ejemplo, fosfato amónico dibásico, urea, asparagina, peptonas, extracto de levadura, glucosa, malta, almidón, dextrina, sales minerales, y otras sustancias.

Procedimientos lentos. En el procedimiento casero de fabricación, o procedimiento de dejar que el vinagre se haga por sí solo, se deja que un jugo de frutas, como es el jugo de manzanas, experimente una fermentación alcohólica espontánea, preferentemente hasta que el alcohol alcance un porcentaje del 11 al 13 por cien, por las levaduras inicialmente existentes en el jugo, después de la cual, se llena parcialmente con el jugo fermentado un tonel que se coloca en posición horizontal con su boca abierta hacia arriba. A continuación, se deja que la solución alcohólica experimente una fermentación acética, denominada acetificación, llevada a cabo por las bacterias del vinagre existentes en dicha solución de forma espontánea, hasta que se produce el vinagre. En la superficie del líquido debe crecer una película de bacterias del vinagre, llamada «madre del vinagre», que son las que oxidan el alcohol a ácido acético. Por desgracia, es posible que la producción de ácido acético sea escasa como consecuencia de que durante la fermentación se ha producido poco alcohol, como consecuencia de que no existen cepas de bacterias del vinagre que produzcan ácido acético, como consecuencia de que, si existe escasez de alcohol, las bacterias del vinagre oxidan el ácido acético, o como consecuencia de que en la superficie de los toneles crecen levaduras formadoras de película y mohos que compiten con las bacterias del vinagre, que destruyen el alcohol y los ácidos, y como consecuencia de que en el líquido crecen bacterias perjudiciales que producen sabores desagradables. Este procedimiento de fabricación es muy lento y muchas veces el vinagre es de calidad inferior.

En contraposición con el procedimiento de fabricación de lotes de vinagre que acabamos de describir, el procedimiento de Orleans, o procedimiento francés, muy utilizado en Europa, es un procedimiento continuo, si bien en ambos procedimientos se suelen utilizar toneles.

En el procedimiento de Orleans, aproximadamente la tercera o la cuarta parte de un tonel, se llena con vinagre recién obtenido en la fabricación de un lote

anterior, el cual sirve tanto para introducir un inóculo activo de bacterias del vinagre como para acidificar el vino, la sidra fermentada o el líquido de malta que se añaden, con el fin de que inhiban a los microorganismos competitivos. Al vinagre se le añade la cantidad suficiente de líquido alcohólico para llenar aproximadamente la mitad del tonel, dejando una cámara de aire en su parte superior que se comunica con la atmósfera exterior a través de la boca del tonel y de un orificio situado a cada lado del mismo por encima del nivel del líquido. Estos orificios están protegidos con rejillas. Las bacterias acéticas que crecen formando una película en la superficie del líquido llevan a cabo la oxidación del alcohol a ácido acético a una temperatura en torno a los 21 a 29°C, durante un tiempo de semanas a meses, transcurrido el cual, parte del vinagre así obtenido se extrae para ser embotellado y es sustituido introduciendo en el tonel una cantidad igual de líquido alcohólico. Esta operación se repite varias veces, de manera que esta forma de obtención de vinagre viene a ser un procedimiento más o menos continuo. Mediante este procedimiento, que es bastante lento, se puede obtener vinagre de gran calidad. Uno de los inconvenientes de este procedimiento consiste en que la película gelatinosa constituida por las bacterias del vinagre se hunde en el líquido con el consiguiente retraso de la acetificación. Para obviar este inconveniente, con el fin de que la película se mantenga en la superficie del líquido, a veces se coloca un armazón o marco flotante. Se ha dicho que una película de bacterias excesivamente espesa dará lugar a una disminución de la acetificación.

Procedimientos rápidos. Según ya se ha indicado, los procedimientos rápidos de la fabricación de vinagre suponen el desplazamiento del líquido alcohólico durante el proceso de acetificación. Más corrientemente este líquido se vierte a gotas sobre superficies en las cuales han crecido las bacterias del vinagre y a las cuales se les proporciona una abundante cantidad de aire.

El procedimiento del generador es el único de uso corriente en la actualidad. El generador sencillo es un tanque cilíndrico de tamaño variable y generalmente hecho de madera. Su interior se divide en tres partes: una zona superior, en la cual entra el líquido alcohólico; una zona media de gran capacidad en la que se deja que el líquido gotee en forma de lluvia sobre virutas de madera de haya, zuros de maíz, virutas de bejuco*, carbón vegetal, bagazo de manzanas, o de cualquier otro material que ofrezca una abundante superficie total y no se deposite formando una masa compacta; y zona inferior en la que se recoge el vinagre. El líquido alcohólico se introduce en la zona superior del generador mediante un canal de carga automática o mediante un dispositivo de aspersión (rociador) y gotea en forma de lluvia sobre la viruta o sobre cualquier otro de los materiales antes citados, en cuya superficie se ha formado una película viscosa correspondiente al crecimiento de

* N. del T.: Denominado también roten, rota, o palma de la India. Se da el nombre de bejuco a un grupo de árboles tropicales sarmentosos, cuya madera, por su flexibilidad y resistencia, se emplea para fabricar muebles, jarcias, bastones, etc.

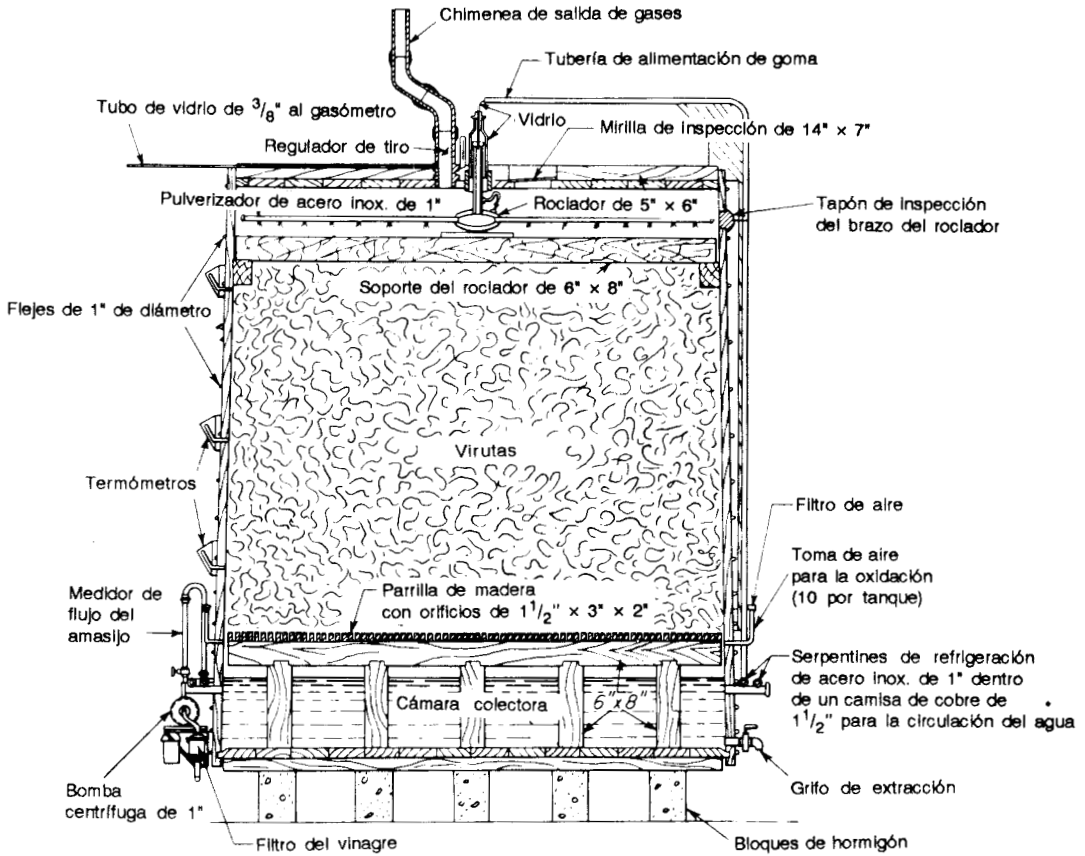


Figura 22.1. Esquema de un generador de vinagre por el procedimiento rápido. (Gentileza de Food Engineering.)

las bacterias acéticas que oxidan el alcohol a ácido acético. El aire penetra en el generador por el falso fondo de la zona media, y, después de calentarse, asciende, para salir del generador por la zona superior. Como quiera que la oxidación que tiene lugar libera bastante calor, suele ser necesario controlar la temperatura para que no sobrepase mucho los 29 a 30°C. Esto se puede realizar utilizando serpentines de refrigeración, ajustando las velocidades de entrada del aire y del líquido alcohólico, y enfriando el líquido alcohólico antes de que entre en el generador o enfriando el líquido alcohólico parcialmente acetificado que, procedente del fondo del tanque, vuelve a la zona superior para ser acetificado de nuevo.

Cuando se va a poner en funcionamiento un nuevo generador, antes de que se pueda fabricar vinagre, se debe formar la película de mucílago correspondiente a las bacterias del vinagre. Primeramente, se llena la parte media del tanque con vinagre recién fabricado que contenga bacterias del vinagre activas con el fin

de sembrar las virutas con las bacterias deseables, o bien se hace circular este vinagre por el generador. A continuación, se hace gotear lentamente a través del generador un líquido alcohólico acidificado con vinagre para reforzar el crecimiento de las bacterias existentes en la superficie de las virutas y después se hace circular de nuevo por el generador. Algunos fabricantes acidifican la totalidad del líquido alcohólico antes de introducirlo en el generador, o bien dejan cierta cantidad de vinagre para acidificar el nuevo lote de líquido.

El vinagre se puede fabricar con un solo paso del líquido alcohólico a través del generador, o bien, en el caso de que al principio se haya producido una cantidad insuficiente de ácido, o de que quede una cantidad excesiva de alcohol, se puede hacer pasar de nuevo a través del generador el vinagre recogido en la parte inferior. A veces se hacen funcionar generadores en serie, de forma que el líquido del primer tanque pasa por un segundo e incluso por un tercer generador.

El generador de Frings (Figura 22.1) es un tanque cilíndrico de gran capacidad cerrado herméticamente, provisto de un aspersor (rociador) en la parte superior, de serpentines de refrigeración próximos a la parte inferior de la zona media que contiene las virutas, y de dispositivos para hacer circular de nuevo a través del sistema el vinagre que se recoge en la cámara colectora de la zona inferior del generador. Los modelos modernos de estos generadores están equipados con reguladores automáticos para la entrada del líquido alcohólico, para la entrada de aire filtrado, para regular la temperatura, y para reciclar el líquido que se recoge en la cámara de la parte inferior del generador de vinagre. Estos generadores producen una gran cantidad de ácido acético y dejan un escaso residuo de alcohol. En el sistema de fabricación de Mackin se rocía en el interior de la cámara, por medio de inyectores, una niebla o llovizna fina de una mezcla de bacterias del vinagre y solución nutriente de alcohol. La llovizna se mantiene en circulación durante algún tiempo mediante aire filtrado y después se deja que caiga y se deposite en la parte inferior del generador donde se recoge para ser enfriada, atomizada de nuevo, y devuelta a la cámara. Esta operación continúa hasta que la oxidación del alcohol es casi total.

El generador de inmersión está integrado por un tanque que contiene una cesta llena de virutas de madera de haya que se puede sacar de la solución diluida de alcohol o sumergir en la citada solución existente en la parte inferior del tanque. Cuando la cesta se encuentra fuera del líquido, la aireación permite la rápida producción de ácido acético por parte de las bacterias del vinagre existentes en la superficie de las virutas, mientras que cuando la cesta se sumerge en el líquido, se añade más medio de cultivo y se extrae parte del ácido acético producido.

Procedimiento de la fermentación sumergida. En el procedimiento de la fermentación sumergida (Hromatka y Ebner, 1959) se siembra con *Acetobacter aceti* genum* un medio en agitación que contiene de un 8 a un 12 por cien de alcohol (sidra fermentada, vino, masa de malta fermentada, o espíritu de vino) y se mantiene a una temperatura entre 24 y 29°C con aireación controlada mediante aire finamente dividido. En una publicación posterior, Hromatka describió

el uso de un cultivo puro de *Gluconobacter oxydans* en una fermentación acética sumergida (Manual de Bergey, 1984). El generador de ácido acético de Frings, representado en la Figura 22.2, constituye un ejemplo de los aparatos que se emplean en este procedimiento de fabricación de vinagre.

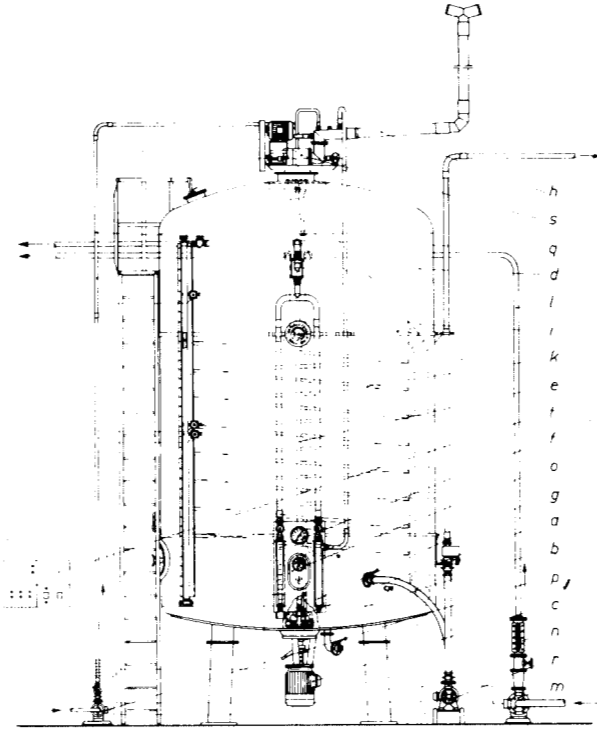


Figura 22.2. Fabricación de vinagre mediante fermentación oxidativa sumergida (Acetificador de Frings). (Con licencia del Dr. H. Ebner y de Food Engineering, Chilton Company, Philadelphia. Copyright 1965).

Las bacterias se multiplican en una suspensión de diminutas burbujas de aire y líquido en fermentación. La suspensión se obtiene mediante un aireador especialmente diseñado para ello. Está formado por un rotor (a) accionado por un motor eléctrico (c) instalado debajo del tanque (d). El rotor aspira el aire, le imprime velocidad tras mezclarlo totalmente con agua, y distribuye uniformemente la suspensión a lo largo de la sección transversal del tanque.

Con el fin de garantizar la distribución uniforme de las burbujas de aire, el rotor que introduce la mezcla formada por la mezcla de las burbujas con el agua está rodeado por un armazón (b). Un tubo de aire (e) conectado al rotor

sale al exterior del tanque cerca de su parte superior y, una vez fuera del tanque, se bifurca en dos derivaciones. Una de estas derivaciones va a parar a un rotámetro (*f*) que mide la cantidad de aire que entra en el tanque cada minuto. La otra derivación va a parar a un cilindro de condensación (*g*) conectado al tubo de salida del aire (*h*).

Cuatro cuadros estabilizadores (*i*) se encuentran fijados a la circunferencia del interior del tanque. A éstos se halla fijado el serpentín de refrigeración (*k*) de acero inoxidable. El agua de refrigeración entra en el serpentín por un tubo (*l*) que procede de una bomba (*m*) y de un medidor de flujo (*n*). El funcionamiento de la bomba es gobernado por un termómetro regulador (*o*) con el fin de mantener constante la temperatura de fermentación. La bomba de carga (*p*), que se encuentra próxima al tanque de carga, bombea la masa a través del tubo de carga (*q*). Al entrar en el tanque cerca del centro de la parte superior, la masa fluye directamente al interior del rotor.

La bomba de descarga (*r*), que se encuentra próxima al generador de ácido acético, vacía la mitad del tanque tras completarse cada ciclo de fermentación. Fijado en el centro de la parte superior del tanque se encuentra el desespumador (*s*), el cual destruye mecánicamente la espuma (los generadores Morton no están provistos de desespumador). La fracción líquida de la espuma es bombeada de nuevo al tanque por el desespumador. El aire sale por el tubo de vaciado. El regulador (*t*) carga y descarga el generador.

Acabado

No cabe duda que la composición del vinagre depende de la materia prima que se haya utilizado para fabricarlo. Los vinagres fabricados con frutas y líquidos de malta tienen el sabor típico de estas materias primas. El procedimiento de fabricación también influye en la calidad del vinagre. Los vinagres fabricados mediante procedimientos lentos son menos ácidos que los fabricados mediante procedimientos rápidos como consecuencia del envejecimiento que experimentan durante el prolongado tiempo que se tarda en fabricarlos. Los vinagres de fabricación rápida, cuando envejecen en tanques o en toneles, mejoran en cuanto a su cuerpo, sabor, y bouquet. Para clarificar el vinagre, que debe ser muy transparente, se emplean la filtración y el «refinado», que consiste en una clarificación por sedimentación de las partículas de los materiales añadidos que se encuentran en suspensión. Gran parte del vinagre que en la actualidad se vende en el comercio se pasteuriza a granel o embotellado. Tanto el tiempo como la temperatura que se utilizan para pasteurizar el vinagre son variables; no obstante, el calentamiento a temperaturas comprendidas entre 60 y 66°C durante algunos segundos constituye un ejemplo de pasteurización de este producto.

La fortaleza del vinagre se mide en granos, esto es, diez veces el número de gramos de ácido acético contenidos en 100 ml de vinagre. De acuerdo con

ello, un vinagre de 40 granos contiene 4 gramos de ácido acético en 100 ml de vinagre a la temperatura de 20°C.

Defectos y enfermedades del vinagre

Lo mismo que sucede en los vinos, los metales y sus sales pueden enturbiar el vinagre y modificar su color. El ión ferroso puede ser oxidado a ión férrico y reaccionar con los taninos, con los fosfatos y con las proteínas produciendo turbiedad. La turbiedad también puede ser debida a sales de estaño o de cobre. El hierro que actúa sobre los taninos o la actividad de la oxidasa pueden ser responsables del oscurecimiento del vinagre.

Defectos debidos a microorganismos. Los defectos debidos a microorganismos pueden ser consecuencia de la mala calidad de las materias primas a partir de las cuales se ha fabricado el vinagre o de la mala calidad del propio condimento. El vino y la sidra fermentada, por ejemplo, están expuestos a las alteraciones citadas al estudiar las enfermedades del vino. Las especies de los géneros *Lactobacillus* y *Leuconostoc* existentes en los zumos de frutas, no sólo son responsables de sabores anormales, por ejemplo, el sabor «a ratón», sino que también pueden producir una cantidad de ácido acético suficiente para impedir que las levaduras fermenten el alcohol. En anaerobiosis, es posible que las bacterias butíricas produzcan ácido butírico que tanto perjudica la calidad del vinagre. Estos inconvenientes se pueden reducir añadiendo dióxido de azufre a los zumos de frutas, pero este compuesto químico inhibe a las bacterias acéticas.

Los defectos del propio vinagre se reducen en su mayor parte a la producción de una mucosidad excesiva en la masa de bacterias del vinagre y a la destrucción del ácido acético en el producto. Ya se ha señalado anteriormente que una película mucilaginosa de bacterias de una densidad y de un espesor notables reduce la velocidad de la acetificación en el procedimiento lento. Sin embargo, una cantidad excesiva de mucílago es mucho más perjudicial en el procedimiento de fabricación de vinagre del generador, ya que impide la aireación. La producción de mucílago es favorecida por los líquidos alcohólicos que son buenos medios de cultivo, como son la sidra, el vino, o un medio al que se le haya añadido un nutriente del vinagre excesivamente rico, aunque normalmente no perjudica la acetificación de medios pobres, como son los que se utilizan para fabricar vinagre a partir del espíritu de vino (alcohol). Varias especies de bacterias del vinagre son capaces de producir mucílago (celulosa), aunque probablemente *Acetobacter aceti* subesp. *xylinum** sea la más importante. En el vinagre, la oxidación del ácido acético a dióxido de carbono y agua puede ser llevada a cabo por las propias bacterias acéticas durante la operación de la fabricación del vinagre, en el caso de que escasee el alcohol o de que la aireación sea excesiva. Otros microorganismos capaces de

oxidar el ácido acético en anaerobiosis son las levaduras formadoras de película («flores del vino»), los mohos y las algas.

HORTALIZAS FERMENTADAS

La fermentación láctica de las hortalizas sin duda tuvo su origen en el efecto conservador que ejerce el ácido láctico en los alimentos. Durante la fermentación de las hortalizas, la multiplicación de las bacterias lácticas da como resultado (1) la disminución de la multiplicación de microorganismos perjudiciales y el retraso o la inhibición de la alteración normal y (2) la producción de varios sabores típicos como consecuencia de la acumulación de ácidos orgánicos o productos secundarios, que originan un producto final característico y definido.

En la Tabla 22.1 se ofrece una comparación entre algunas de las distintas hortalizas fermentadas. Obsérvese que las condiciones reducidas (inmersión) y el empleo de sal son comunes a todas las fermentaciones que figuran en la citada Tabla. Los motivos por los cuales se emplean estas condiciones se expondrán al estudiar la fermentación del sauerkraut.

Sauerkraut

La definición federal de este alimento fermentado es la siguiente:

El sauerkraut es el producto puro, estable, y de sabor típico, obtenido mediante la fermentación completa, principalmente láctica, de la col, debidamente preparada y troceada, en presencia de no menos de un dos por cien ni más de un tres por cien de sal. Una vez ha terminado de fermentar, contiene no menos de un uno y medio por cien de ácido, expresado en ácido láctico. El sauerkraut que ha sido salmuerado de nuevo en el tratamiento de enlatado o de reenvasado, contiene no menos de un uno por cien de ácido, expresado en ácido láctico.

Procedimiento general de fabricación. Los repollos bien tupidos y totalmente desarrollados de una variedad de col preferida para la elaboración del sauerkraut, se dejan marchitar durante 1 ó 2 días con el fin de que su temperatura sea uniforme y de esta forma facilitar su troceado. Se eliminan las hojas que presentan manchas de alteración y las externas, se lavan los repollos con agua limpia, y se extrae el corazón para trocearlo y añadirlo al resto de la col. El repollo se corta en trozos del tamaño deseado, generalmente pequeños. A continuación, antes de introducir la col troceada en las cubas donde ha de fermentar, se mezcla con un 2,25 a un 2,50 por cien de sal, o bien

Tabla 22.1. Estudio comparativo de las hortalizas fermentadas.

Artículo	Presentación	Aplicación de sal	Circunstancias o modificaciones	Cultivo utilizado	Flora láctica dominante	Acidez, % *	pH
Zanahoria	Entera, a dados, picada	Salmuera ^a al 2%	Inmersión	Natural, ^b láctico mixto	Homofermentativa	1,4	3,3
Apio	Troceada	Salmuera al 2 1/4%	Inmersión	Natural	Homofermentativa	1,2	3,5
Acetuna (verde) ^c	Entera	Salmuera al 5-8%	Inmersión	Natural	Mixta	0,7-1,0	3,8
Método antiguo		Salmuera al 10%	Menor duración de la actuación de la lejía y del aclarado, adición de ácido láctico (al 3%)	<i>L. plantarum</i>	Mixta u homofermentativa		3,8
Encurtidos	Enteros	Salmuera al 6-15%	Inmersión	Natural	Mixta	0,6	3,8
Método antiguo		Salmuera al 6,6%	Cloración, acetato de Na (0,5%)	<i>L. plantarum</i> <i>P. cerevisiae</i> *	Homofermentativa		3,8
Método moderno		Granular al 2 1/4%	purga de N ₂	Natural	Mixta	1,7-2,5	3,5
Sauerkraut	Picado		Inmersión				

*Expresada como ácido láctico.

^aUna vez equilibrada.^bNatural, tal como se encuentra en las plantas.^cSi bien las acetunas verdes son frutas, su fermentación se parece a la de las hortalizas fermentadas.

Fuente: Resumido por Stamer (1973) a partir de numerosas referencias bibliográficas.

se le añade la sal en el momento de introducir los trozos de col en aquéllas. Es preferible el primer sistema porque la distribución de la sal resulta más uniforme, da tiempo para que la sal penetre en la col, y hace más fácil el llenado de las cubas de fermentación. Una vez que los trozos de col han sido introducidos en las cubas de fermentación, se hace presión sobre los mismos y, finalmente, se deja que por su propio peso se hundan en el líquido de la cuba, de forma que en la parte superior de la misma quede una capa del jugo obtenido al prensar la col a la que se le ha añadido sal. Se deben proteger las cubas con una tapadera de cualquier tipo para evitar que en las mismas penetren suciedad o insectos. Durante la fermentación láctica, la temperatura debe ser de 21 a 24°C. Si la temperatura es inferior a 15,6°C, la fermentación será lenta e incompleta; si se encuentra por encima de 26 a 29°C, es posible que tengan lugar fermentaciones anormales. Si la superficie del jugo extraído se deja al descubierto, durante la fermentación en la superficie del líquido crecerán levaduras o mohos formadores de velo. Antiguamente, una vez que había dejado de producirse gas, estos velos se eliminaban o se evitaba que se formasen, bien recubriendo la superficie con aceite mineral (o con parafina, en los fermentadores de pequeña capacidad), bien llenando totalmente los recipientes. En la actualidad, por encima de la col en fermentación se colocan bolsas de plástico llenas de agua con el fin de aislar la superficie a la vez que ejercen una presión que mantiene sumergida la col en el líquido. Cuando se ha obtenido la acidez deseada, se detiene la fermentación mediante el tratamiento térmico que se lleva a cabo durante el enlatado, o mediante temperaturas bajas.

Composición de la col. La composición de la col depende de la variedad de que se trate y de las condiciones bajo las cuales ha crecido. En la elaboración del sauerkraut es muy importante el contenido de azúcar de la col, debido a su influencia en la acidez máxima que se puede originar por fermentación. Análisis diferentes han puesto de manifiesto que en los distintos lotes de col el contenido de azúcar oscila entre un 2,9 y un 6,4 por cien; los porcentajes de azúcar más elevados permitirían la producción de una excesiva acidez si no se tomasen las medidas para detener la fermentación. Aproximadamente el 85 por cien de los azúcares son glucosa y fructosa y el 15 por cien es sacarosa.

Adición de sal. Pederson y Ward (1949) han demostrado que para obtener sauerkraut de la mejor calidad, a la col troceada se le debe añadir de un 2,25 a un 2,5 por cien, en peso, de sal y que ésta se debe distribuir uniformemente. La sal extrae los jugos de las plantas que contienen los azúcares y los demás nutrientes, contribuye a regular la flora de la fermentación (por favorecer el crecimiento de las bacterias lácticas), y tiene un efecto dispersante sobre las agrupaciones de bacterias. Los microorganismos perjudiciales que compiten con las bacterias lácticas, por ejemplo las bacterias proteolíticas y las esporógenas,

tanto aerobias como anaerobias, son más inhibidas por la sal que los microorganismos beneficiosos productores de ácido.

Lavado de los repollos. Keiper y otros (1932) demostraron que el lavado de los repollos de col no sólo reducía el número total de microorganismos en la col troceada, sino que también aumentaba el porcentaje de bacterias lácticas deseables en la flora que permanece en los repollos después de lavarlos. En sus experiencias, las bacterias lácticas aumentaron desde el 24 por cien al 35 por cien, mientras que el porcentaje de microorganismos indeseables, como son las bacterias cromógenas, las coliformes, las levaduras y los mohos, disminuyeron.

Fermentación. En la col troceada y salada y en el jugo que le rodea, rápidamente se origina una anaerobiosis, debida principalmente a la eliminación del oxígeno como consecuencia de la respiración de las células vegetales, aunque en su aparición también contribuyen algo las bacterias. El jugo contiene la flora propia de la col y microorganismos contaminantes procedentes de la tierra y del agua. Al principio, empiezan a multiplicarse diferentes tipos de bacterias, aunque pronto predominan los tipos productores de ácido. Entre las bacterias que alcanzan un número elevado al principio de la fermentación, las más importantes son las bacterias coliformes, por ejemplo, *Enterobacter cloacae*, especie que produce gas, ácidos volátiles y algo de ácido láctico. En las primeras fases de la fermentación también se ha encontrado la especie *Erwinia herbicola*. Estos microorganismos deben aportar algo de sabor. No obstante, las bacterias de la especie *Leuconostoc mesenteroides* enseguida aventajan en crecimiento a todos los demás microorganismos y siguen produciendo ácido hasta que éste alcanza un porcentaje comprendido entre el 0,7 y el 1 por cien (expresado en ácido láctico). Estos estreptococos, que se presentan en parejas o en cadenas cortas, crecen bien a temperaturas comprendidas entre 18 y 21°C y no sólo no son inhibidos por una concentración de sal del 2,5 por cien, sino que probablemente incluso son estimulados. Utilizan los azúcares para producir ácido láctico, ácido acético, etanol, manitol, dextrano, ésteres, y dióxido de carbono que contribuyen a comunicar sabor al sauerkraut de buena calidad, lo mismo que también se lo comunican los bacilos y cocos que producen ácido láctico a partir de los lípidos de la col. Los productos volátiles inhiben a las levaduras, mientras que el dextrano y el manitol (que tienen sabor amargo) pueden ser utilizados por la especie *Lactobacillus plantarum*, sucesora beneficiosa de los leuconostocs, pero no por la mayoría de los microorganismos competidores. *Streptococcus faecalis*, que es posible que crezca durante la fermentación de la col, sobre todo si el porcentaje de sal es elevado (del orden de un 3,5 por cien, por ejemplo), produce principalmente ácido láctico.

A continuación, los lactobacilos que no producen gas, principalmente los pertenecientes a la especie *Lactobacillus plantarum*, continúan produciendo ácido y pueden elevar la acidez hasta un porcentaje del 1,5 al 2,0 por cien. Estas bacterias, al fermentar los azúcares, producen principalmente ácido láctico.

También utilizan el manitol que ha sido producido por las bacterias del género *Leuconostoc* y de esta forma eliminan el sabor amargo. En la elaboración del sauerkraut, *L. plantarum* completa el grado de fermentación deseado. La experiencia ha demostrado que una acidez final correspondiente a un porcentaje del 1,7 por cien, expresada en ácido láctico, es la más conveniente. Cuando se ha alcanzado la citada acidez, se puede detener la fermentación enlatando o enfriando el sauerkraut.

Si después de que *L. plantarum* ha terminado su actuación quedan azúcar y manitol suficientes, pueden crecer lactobacilos productores de gas, principalmente de la especie *L. brevis*, y seguir produciendo ácido hasta que éste alcanza un porcentaje del 2,4 por cien, acidez que, no obstante, rara vez se alcanza debido a la escasez de azúcar y de manitol. Los lactobacilos aerógenos, que elaboran los mismos productos que los leuconostocs, comunican al sauerkraut un sabor desagradable muy ácido.

El sauerkraut de buena calidad debe tener un color pálido y debe ser desmenuzable, con una acidez de un 1,7 por cien aproximadamente y un sabor netamente ácido. En él se encuentran pequeñas cantidades de diacetilo que le comunican un aroma y un sabor agradables. Según Pederson (1931) el sauerkraut de calidad media que ha terminado de fermentar tiene un pH de 3,4 a 3,6, un contenido de ácido láctico del 1,25 por cien, aproximadamente un 0,3 por cien de ácido láctico, y un 0,58 por cien de alcohol etílico. Cuando se utiliza un porcentaje de sal del 3,5 por cien en lugar del porcentaje habitual del 2,25 por cien, o cuando la fermentación tiene lugar a una temperatura comprendida entre 32 y 37°C, en lugar de tener lugar a una temperatura más baja, *Pediococcus cerevisiae** puede desempeñar un papel importante en la fermentación, aunque es probable que el sauerkraut así obtenido sea de calidad inferior si se compara con el que se obtiene en condiciones normales de concentración de sal y de temperatura. Las concentraciones bajas de sal, del 1,0 por cien por ejemplo, favorecen el crecimiento de las especies heterofermentativas *Leuconostoc mesenteroides* y *Lactobacillus brevis*.

Se han realizado experiencias que han demostrado que para fabricar sauerkraut no es necesario, ni tampoco ventajoso, añadir cultivos de bacterias lácticas.

El sauerkraut se puede enlatar llenando las latas a una temperatura de 73,9°C, eliminando de las mismas el aire, cerrándolas y enfriándolas.

Defectos y alteración del sauerkraut. El sauerkraut puede ser de mala calidad como consecuencia de una fermentación anormal de la col. Una temperatura excesivamente elevada puede inhibir el crecimiento de *Leuconostoc* y, en consecuencia, puede impedir que este microorganismo comunique sabor al sauerkraut y permitir el crecimiento de *Pediococcus cerevisiae** y la aparición de sabores desagradables. Una temperatura excesivamente baja puede impedir la apropiada actividad de la sucesión deseada de bacterias lácticas y estimular el crecimiento de microorganismos contaminantes procedentes del suelo, por ejemplo, de *Enterobacter* y de *Flavobacterium*. Es posible que una fermentación excesivamente prolongada favorezca el crecimiento de la especie *Lactobacillus*

brevis, bacteria productora de gas que comunica un sabor muy ácido al sauerkraut. La adición de una cantidad de sal excesiva puede estimular el crecimiento de microorganismos distintos a los deseados, como por ejemplo de *Pediococcus cerevisiae** y de levaduras. La fermentación anormal de la col puede comunicar al sauerkraut un olor parecido al del queso debido a los ácidos propiónico, butírico, caproico y valérico, junto con los ácidos isobutírico e isovalérico.

El **sauerkraut blando** puede ser debido a una fermentación o a una exposición al aire insuficientes o a que la col se aprieta o comprime excesivamente.

El **sauerkraut de color pardo oscuro o negro** suele ser debido a que se oxida durante su exposición al aire y es originado por la acción conjunta de enzimas vegetales y de microorganismos. La destrucción del ácido por levaduras y mohos que forman película crea condiciones apropiadas para que los microorganismos proteolíticos y pectolíticos pudran rápidamente el sauerkraut. El oscurecimiento es favorecido por la salazón no uniforme («quemadura de la sal») y por la elevada temperatura. El color pardo puede ser debido al hierro de los aros y al tanino de los toneles.

El **sauerkraut de color rosa** muchas veces es originado por levaduras asporógenas de color rojo en presencia de aire y de un elevado contenido de sal y se presenta sobre todo cuando ésta no se ha distribuido uniformemente. La aparición del color rosa es favorecido por la temperatura elevada, por los toneles sucios, por la acidez baja, y por las sales de hierro. El color ligeramente rosa se ha atribuido a los pigmentos que contienen algunas variedades de col.

El **sauerkraut viscoso o pegajoso** es debido a variedades capsuladas de *Lactobacillus plantarum*. Este producto es comestible, pero no es apto para la venta. La viscosidad del sauerkraut puede desaparecer después de una conservación prolongada o al cocerlo. Por consiguiente, el sauerkraut está especialmente expuesto a alterarse en la superficie que contacta con el aire en la que las levaduras y los mohos que forman una película de crecimiento destruyen la acidez y permiten el crecimiento de otros microorganismos que ocasionan el reblandecimiento y el oscurecimiento del sauerkraut y le comunican sabores desagradables.

Encurtidos

Los encurtidos de pepino se pueden preparar sin fermentación alguna o fermentándolos parcial o totalmente. Tanto los pepinos no fermentados como los parcial o totalmente fermentados, se pueden pasteurizar con el fin de mejorar su calidad de conservación. Los pepinos, normalmente en salmuera y acidificados (de forma natural o artificial), se someten a tratamiento térmico con el fin de que en su interior se mantenga una temperatura de 73,9°C durante 15 minutos como mínimo. Tanto su calentamiento como su enfriamiento deben ser bastante rápidos. No se pretende describir aquí los distintos procedimientos que se utilizan para fabricar encurtidos, ya que son muy distintos unos de otros, razón por la cual

su estudio se limitará a los encurtidos que se obtienen mediante fermentación. Existen dos clases principales de encurtidos fermentados- encurtidos salados o conservados con sal, y encurtidos con eneldo. Los encurtidos salados se preparan para ser utilizados en la elaboración de determinados alimentos, como son los encurtidos y entremeses ácidos, los agrídulces y una mezcla de encurtidos y aperitivos.

Encurtidos salados o conservados con sal

Para preparar encurtidos salados o conservados con sal, se emplean pepinos tiernos que se lavan, se colocan en barriles o en tanques, y se les añade salmuera. A veces, si los pepinos contienen poco azúcar, se les añade un 1 por cien de glucosa, aunque algunos autores sostienen que la adición de azúcar favorecerá la aparición de encurtidos con gas o «hinchados».

Adición de sal. La frecuencia con que se añade sal y la cantidad que de la misma se añade son extraordinariamente variables en cada uno de los distintos fabricantes. Se emplean dos procedimientos generales de salazón: el que emplea una baja concentración de sal y el que emplea una elevada concentración de sal. En el primero se añade una cantidad de sal relativamente pequeña y su concentración se aumenta poco a poco hasta que en la salmuera exista la cantidad de sal suficiente para inhibir cualquier crecimiento bacteriano. A los pepinos, por ejemplo, se les puede añadir una salmuera de 30° salinométricos (cerca del 8 por cien de NaCl) junto con 9 libras de sal por cada 100 libras de pepinos. Algunos fabricantes empiezan por concentraciones inferiores al 8 por cien de sal, pero se arriesgan a que los pepinos experimenten fermentaciones anormales o a que se alteren; se ha comprobado que la concentración de sal del 6 por cien es la concentración mínima que inhibe a las bacterias esporógenas perjudiciales. En el procedimiento que emplea elevadas concentraciones de sal, la primera salmuera tiene una concentración de 40° salinométricos (aproximadamente un porcentaje de sal del 10,5 por cien), y se añaden 9 libras de sal por cada 100 libras de pepinos.

Después de recubrir los pepinos con una capa superficial de salmuera, se inicia la fermentación. En ambos procedimientos de salazón, la sal se añade semanalmente con el fin de aumentar la lectura del salinómetro hasta aproximadamente 3° por encima de los 60° salinométricos (aproximadamente un porcentaje de sal del 15,9 por cien). En el procedimiento de salazón lenta el aumento es de 2° salinométricos semanales hasta alcanzar los 50° salinométricos y, posteriormente, de 1° salinométrico semanal hasta alcanzar los 60° salinométricos. En los climas cálidos, la concentración de sal de la salmuera se puede aumentar más rápidamente, mientras que en los climas fríos se puede emplear inicialmente una salmuera de concentración salina inferior a 30° salinométricos.

Fermentación tradicional. Solamente hace poco tiempo que se ha propuesto la fermentación controlada de los encurtidos inoculándolos con las especies

bacterianas homofermentativas *L. plantarum* y *P. cerevisiae**. No obstante, antes de revisar este avance más reciente, se describirá la fermentación tradicional de los encurtidos.

La fermentación tradicional suele tardar de 6 a 9 semanas en completarse, dependiendo del procedimiento de salazón y de la temperatura empleados.

Es posible que, inicialmente, en los pepinos frescos que se acaban de poner en salmuera crezcan algunas o la totalidad de las numerosas especies de bacterias halotolerantes existentes. De hecho, por lo que se refiere a las especies bacterianas que crecen en los distintos lotes de salmuera de los pepinos, puede haber notables diferencias que dependen de la cantidad de bacterias y de las especies aportadas tanto por los pepinos o por la suciedad que queda en su superficie como por el agua con la cual se prepara la salmuera, de la concentración inicial de cloruro sódico y de la rapidez con que se aumenta su concentración, y de la temperatura de los pepinos en salmuera. En general, cuanto menor sea la concentración de sal, tanto mayor será el número de especies bacterianas que crecerán al principio, más rápida será la producción de ácido, y mayor será la acidez total producida. En la mayoría de los casos, el primer crecimiento está constituido por una mezcla de bacterias pertenecientes a los géneros *Pseudomonas* y *Flavobacterium* consideradas perjudiciales, de modo que, más que como productoras de ácido, se clasificarían como bacterias que alteran los pepinos. De igual forma, es probable que las especies de *Bacillus* procedan de la tierra que queda adherida a la superficie de los pepinos, y que su multiplicación no sea beneficiosa. En las salmueras de baja concentración de sal, pueden crecer bacterias coliformes (*Enterobacter*), *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus faecalis*, y *Pediococcus cerevisiae** y producir ácido durante algunos de los primeros días de la fermentación, mientras que en las salmueras con una concentración de sal del 15 por cien, es posible que cocos aerógenos no identificados produzcan cierta cantidad de ácido. Más tarde, si la concentración de sal no es excesivamente elevada, *Lactobacillus brevis* puede colaborar en la producción de ácido. En la mayoría de las salmueras, la bacteria más importante es *L. plantarum*, ya que se trata de una especie que produce acidez tanto en las salmueras de baja concentración de sal como en las de elevada concentración. Comienza a encontrarse en gran cantidad pocos días después de haberse iniciado la fermentación. Conforme la concentración de sal aumenta desde el 10 por cien hacia el 15 por cien, la actividad de *L. plantarum* es cada vez mayor. Al terminar la fermentación, la acidez total titulable, expresada como ácido láctico, es aproximadamente del 0,6 al 0,8 por cien. Las fermentaciones en las cuales las bacterias lácticas han sido relativamente eficaces, suelen proporcionar encurtidos consistentes y cuya densidad es mayor que la de los procedentes de fermentaciones debidas a bacterias homofermentativas.

Para complicar más la fermentación, una vez que las bacterias han producido cierta cantidad de ácido, pueden empezar a crecer levaduras. Estas levaduras son de dos tipos generales: levaduras oxidativas productoras de película, que crecen en la superficie de la salmuera y destruyen el ácido láctico por oxidación, y levaduras fermentativas que crecen en el interior de la salmuera y fermentan los

azúcares a alcohol y dióxido de carbono. Se han encontrado levaduras formadoras de película pertenecientes a los géneros *Debaryomyces*, *Endomycopsis*, y *Candida*. Los distintos procedimientos que se emplean para disminuir o eliminar la espuma que producen las levaduras durante la fermentación incluyen la agitación diaria de la superficie de la salmuera o la adición de aceite mineral, de ácido sórbico, de aceite de mostaza, o de otras sustancias. Las cubas que contienen los pepinos en salmuera se suelen situar a la intemperie, expuestas a la luz solar, la cual inhibe el crecimiento en la superficie de la salmuera. En orden de frecuencia decreciente de presentación, en las salmueras se han encontrado los siguientes géneros de levaduras fermentativas: *Torulopsis*, *Brettanomyces*, *Zygosaccharomyces* (subgénero de *Saccharomyces*), *Hansenula*, *Torulasporea*, y *Kloeckera*. El gas que producen estas levaduras burbujea en la salmuera y puede ser el causante de los encurtidos hinchados.

Una fermentación tan variable, tan complicada y tan imprevisible como la de los pepinos en salmuera, resulta difícil de resumir. La mayor parte del ácido normalmente lo produce *Lactobacillus plantarum*, aunque también lo pueden producir *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis*, *Streptococcus faecalis*, *Pediococcus cerevisiae**, y posiblemente bacterias coliformes. Las levaduras destruyen el ácido. *Leuconostoc mesenteroides*, las levaduras fermentativas, y las bacterias coliformes pueden producir gas.

Al poco tiempo de haber introducido los pepinos en la salmuera tienen un color blanco yesoso y son opacos cuando se cortan en sentido transversal, aunque durante la fermentación y curado su color cambia desde el verde vivo que tienen inicialmente a un color verde oliva o verde amarillento, y su pulpa se vuelve cada vez más traslúcida. Los encurtidos salados se pueden conservar durante mucho tiempo en salmuera al 15 por cien si se impide el crecimiento de levaduras formadoras de película. Son demasiado salados para ser consumidos directamente, y de aquí que deban ser «desalados» poniéndolos en remojo antes de preparar encurtidos ácidos, encurtidos agrídulces o variantes, aperitivos u otros alimentos.

Fermentación controlada. Según se verá en el epígrafe que trata de los defectos y alteraciones de los encurtidos, durante la fermentación tradicional pueden aparecer numerosos contratiempos y problemas debidos a la flora propia de los pepinos. Los varios años de investigaciones y experiencias realizadas por científicos del U.S. Food Fermentation Laboratory, Southern Region, USDA, han dado como resultado la propuesta de un procedimiento de fermentación controlada de los pepinos en salmuera (Etchells y otros, 1973). Dicho de forma resumida, este procedimiento está concebido para eliminar, o por lo menos reducir al mínimo, los defectos habituales de la fermentación tradicional o natural. En primer lugar, se lavan y se limpian los pepinos en la cuba (80 ppm de cloro). A continuación, la salmuera clorada se acidifica con ácido acético glacial (6 ml por cada galón*

* N. del T.: 1 galón = 4,546 litros.

de salmuera). Estos dos tratamientos (la cloración y la acidificación) suprimen totalmente el crecimiento de bacterias perjudiciales durante la adición inicial de sal y mientras se equilibra su concentración entre la salmuera y los pepinos. Después de una purga con nitrógeno, a la salmuera se le añade acetato sódico (en la proporción del 0,5 por cien) con el fin de tamponarla. El tamponado de la salmuera garantiza la adecuada utilización de todos los carbohidratos fermentescibles existentes en los pepinos. Transcurridas unas 10–24 horas tras alcanzado el equilibrio salino entre la salmuera y los pepinos, se siembran con cultivos especiales de *P. cerevisiae** y de *L. plantarum*. Durante la fermentación activa (que dura de 10 a 14 días), se repiten las purgas con nitrógeno y se añade más sal para mantener la concentración de la salmuera en 25° salinométricos (concentración de NaCl del 6 por cien).

Encurtidos con eneldo

Los encurtidos con eneldo reciben esta denominación porque se les da sabor añadiéndoles esta planta herbácea de alguna forma; normalmente se les suele añadir especias, y a los que cumplen las exigencias de la ley judía, ajo o cebolla. Los encurtidos con eneldo pueden ser no fermentados, fermentados, y preparados a partir de los conservados con sal, si bien aquí sólo se tratará de los encurtidos con eneldo «fermentados en una noche» y de los «auténticos».

La fermentación que tiene lugar para obtener encurtidos con eneldo se diferencia de la que tiene lugar cuando se conservan con sal en que en la primera se emplea una menor concentración de sal y en que inicialmente la salmuera se suele acidificar con vinagre (ácido acético). La baja concentración de sal favorece un aumento tanto de la rapidez con que se produce ácido como de la cantidad de ácido producida, aunque añade el riesgo de que en los encurtidos tengan lugar modificaciones perjudiciales debidas a microorganismos. Los condimentos que comunican sabor a los encurtidos (eneldo, especias, ajo, etc.) no ejercen una notable acción estimulante ni inhibidora sobre las bacterias productoras de ácido, si bien pueden constituir una fuente de gran cantidad de microorganismos perjudiciales y, por consiguiente, pueden ser causa de fermentaciones anormales o de alteración de los encurtidos. En la actualidad existen especias tratadas que contienen un escaso número de microorganismos.

Encurtidos con eneldo fermentados en una noche. Los encurtidos con eneldo fermentados en una noche se preparan con una fermentación ácida lenta a una temperatura baja en una salmuera acidificada relativamente débil. Así por ejemplo, una de las fórmulas exige una salmuera de 20° salinométricos (5,3 por cien de sal), 10 libras de eneldo seco, 1 libra de especias mezcladas, y 1 cuarto de galón* de vinagre de 100 granos por barril. Los pepinos en salmuera se mantienen

* N. del T.: Equivalente a 1,1365 litros.

a una temperatura de aproximadamente 3,3°C, a la que experimentan una fermentación láctica lenta hasta que se ha formado una cantidad de ácido comprendida entre el 0,3 y el 0,6 por cien. Los encurtidos se deben mantener fríos, y tienen un tiempo de conservación relativamente corto por su bajo contenido de sal y de ácido. Se puede conseguir una mayor acidez dejando que la fermentación tenga lugar antes de su almacenamiento, aunque en este caso existe mayor peligro de que se produzcan fermentaciones anormales o de que los encurtidos se alteren, y de que el color verde no sea retenido tan bien como cuando se emplea el tratamiento habitual.

Encurtidos con eneldo auténticos

En la elaboración de los encurtidos con eneldo auténticos, se añade a los pepinos una salmuera que contiene una concentración de sal comprendida, aproximadamente, entre el 7,5 y el 8,5 por cien (de 28 a 32° salinométricos), generalmente en barriles de 45 galones*, de forma que la concentración de sal en los encurtidos acabados será del 3,5 al 4,5 por cien aproximadamente. También se añade eneldo y especias de las que se emplean en la elaboración de encurtidos. La mayoría de los fabricantes añaden vinagre a los encurtidos, por ejemplo, 1 cuarto de galón por barril de un vinagre de 100 granos, con el fin de impedir las fermentaciones anormales. Se suele utilizar una temperatura comprendida entre 15 y 30°C, prefiriéndose, dentro de este intervalo de temperaturas, los valores más bajos.

Como consecuencia de la concentración de sal relativamente baja, al principio pueden crecer diversas bacterias del suelo, si bien la producción de ácido probablemente sea iniciada por bacterias tales como *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus faecalis*, y *Pediococcus cerevisiae*, siendo continuada por *Lactobacillus plantarum*, secundado posiblemente por *L. brevis*. La acidez final, expresada en ácido láctico, oscila entre el 1,0 y el 1,5 por cien.

Defectos y alteraciones de los encurtidos

Los encurtidos fermentados están expuestos a una serie de alteraciones o «enfermedades», la mayoría de las cuales son originadas por microorganismos. El arrugamiento es consecuencia del efecto físico debido a la concentración excesiva de las soluciones de sal, de azúcar o de vinagre. Según la mayoría de los autores, los **encurtidos huecos** crecen de esta forma y este defecto se acentúa si tras ser recolectados los pepinos y antes de fermentarlos se deja que transcurra cierto tiempo. Otros autores creen que las condiciones no apropiadas durante

* N. del T.: 45 galones equivalen a 204,57 litros.

la fermentación, como por ejemplo el hecho de mantenerlos demasiado sueltos en las cubas de fermentación, el peso insuficiente, la fermentación excesivamente rápida, y una salmuera excesivamente concentrada o de concentración insuficiente, originan los encurtidos huecos.

Los encurtidos **flotantes** o **hinchados** pueden ser debidos a que proceden de pepinos huecos o a que en los mismos existen levaduras, bacterias lácticas heterofermentativas, *L. plantarum*, o coliformes que pueden producir dióxido de carbono. Además, algunas veces, el dióxido de carbono, que se desprende y pasa a la salmuera, puede originar encurtidos que flotan. Este defecto se puede controlar purgando la salmuera con nitrógeno con el fin de eliminar el dióxido de carbono. La presencia de encurtidos flotantes está favorecida por una corteza gruesa que no deja que difundan al exterior los gases que en los mismos se forman, por la rápida producción de gas durante la fermentación, por una cantidad de sal elevada al principio, y tanto por el ácido como por el azúcar que se añaden. El hinchamiento de los encurtidos aumenta como consecuencia de factores que impiden la absorción de la salmuera.

Los **encurtidos viscosos** aparecen cuando los pepinos están expuestos al aire, circunstancia que permite el crecimiento de bacterias capsuladas. La viscosidad también puede ser debida a la eliminación de la espuma de las levaduras formadoras de película que han crecido en la superficie de la salmuera y que cae sobre los pepinos. En la fase inicial del ablandamiento la superficie de los encurtidos es viscosa.

Los **encurtidos blandos** son originados por enzimas pectolíticos, la mayoría de los cuales proceden de mohos y de las flores de la planta de pepino, los cuales se introducen en la cuba de fermentación. Los mohos pertenecen principalmente a los géneros *Penicillium*, *Fusarium*, *Ascochyta*, *Cladosporium*, y *Alternaria*. El primer paso de la degradación de la pectina del pepino puede ser la eliminación de los grupos metoxilo para formar ácido péctico mediante la actuación de la pectinesterasa existente en las levaduras de la salmuera y en el propio pepino o en otras partes accesorias de la planta. La pectina también puede ser convertida en urónidos intermediarios por el enzima polimetilgalacturonasa de los mohos y de las flores de la planta de pepino o de otras procedencias. Se cree que las flores de la planta de pepino, que suelen contener una población de hongos bastante abundante, son la principal fuente de enzimas pectolíticos. Las bacterias pectolíticas de los géneros *Bacillus* y *Aeromonas* y las del grupo coliforme solamente desempeñan un papel secundario, si es que intervienen, en el ablandamiento de los encurtidos. En la degradación final de las sustancias pécticas es posible que intervengan enzimas hidrolíticos terminales. Los mohos existentes en la superficie de los pepinos también pueden ablandar los encurtidos, de igual forma que pueden ablandarlos los enzimas propios del pepino y los ácidos, tanto si son débiles como si son fuertes. La desesterificación de las sustancias pécticas llevada a cabo por levaduras puede acelerar el reblandecimiento de los encurtidos por acción de poligalacturonasas de otras procedencias. El reblandecimiento de los encurtidos está favorecido (1) por una concentración de sal insuficiente y, por

consiguiente, por una fermentación anormal, (2) por una temperatura excesivamente elevada, que también influye en la producción de ácido, (3) por una acidez baja, bien porque no se produjo la suficiente cantidad de ácido, bien porque fue destruido por levaduras que crecen formando película o por mohos, (4) por la presencia de aire que favorece el crecimiento de levaduras formadoras de película, de mohos, o de bacterias que fermentan la pectina, y (5) por la inclusión de muchas flores (que normalmente acompañan a pepinos de un tamaño muy pequeño), en cuya superficie han crecido mohos que han producido poligalacturonasa, la cual origina el reblandecimiento de los encurtidos.

Los **encurtidos negros** pueden deber su color a la producción de sulfuro de hidrógeno por parte de bacterias (o, con menor frecuencia, se produce como consecuencia de reacciones químicas), el cual reacciona con el hierro del agua para dar lugar a sulfuro ferroso que es de color negro. De aquí que el agua que se emplea en la elaboración de encurtidos deba tener un bajo contenido de hierro y de yeso (CaSO_4). Este defecto es favorecido por la baja acidez de las salmueras. Otra causa que motiva el ennegrecimiento de los encurtidos es el crecimiento de la especie *Bacillus nigrificans**, que elabora un pigmento negro, variedad de *Bacillus subtilis* cuyo crecimiento es favorecido (1) por la existencia de un carbohidrato disponible, como por ejemplo la glucosa, (2) por una baja concentración de nitrógeno disponible, y (3) por una salmuera neutra o ligeramente básica.

La salmuera viscosa de los encurtidos, originada por varios bacilos móviles, gramnegativos, capsulados y no identificados, es favorecida (1) por las bajas concentraciones de sal, (2) por la acidez de valores bajos, y (3) por las temperaturas elevadas.

Aceitunas verdes

Si bien las aceitunas son frutas más que hortalizas, se estudiarán aquí porque su fermentación se parece a la de las hortalizas fermentadas que se acaban de revisar.

En la preparación de las aceitunas verdes, estas frutas se cosechan cuando están totalmente desarrolladas, si bien cuando todavía tienen un color verde o amarillo pajizo; al recolectarlas se evita que se golpeen para evitar que el producto acabado se altere. Cuando se someten a tratamiento, primeramente se tratan y a continuación se mantienen sumergidas en una solución de lejía de una concentración comprendida entre un 0,9 y un 2,0 por cien a unos 15 a 21°C, hasta que la lejía haya penetrado entre la mitad y las tres cuartas partes de la distancia hacia el hueso, y después se lavan varias veces (procurando que se hallen expuestas al aire el tiempo mínimo posible con el fin de evitar que adquieran un color oscuro) para eliminar la lejía. Este tratamiento elimina, aunque no del todo, el sabor amargo debido al glucósido oleuropeína. Después de ello, las aceitunas se introducen en barriles y se recubren con una salmuera, cuya concentración depende de la clase de aceitunas. Para las aceitunas manzanilla se recomienda una sal-

muera con una concentración de sal del 15% (de 40 a 50° salinométricos), lo que equivale a una concentración salina de un 6 a un 9 por cien una vez estabilizada; durante toda la fermentación, la concentración de sal se ajusta y se mantiene entre el 7 y el 8 por cien. Las aceitunas sevillanas en cambio, al principio se fermentan en una salmuera con una concentración de sal comprendida entre el 5 y el 6,25 por cien (de 20 a 25° salinométricos) o en una salmuera de menor concentración salina, que da lugar a una salmuera estabilizada con una concentración del 2,5 al 4 por cien, que, durante la fermentación, se ajusta a una concentración de sal del 6 al 8 por cien. La salmuera que se pierde, (fugas, evaporación, gas) se repone inmediatamente, de modo que en todo momento las aceitunas se hallan cubiertas con salmuera.

La fermentación láctica de las aceitunas en el interior del barril puede tener una duración de 6 a 10 meses, tiempo que depende de las temperaturas atmosféricas reinantes. Vaughn, Douglas, y Gililand (1943) han distinguido tres fases en la fermentación normal: (1) la primera fase, que dura de 7 a 14 días, durante la cual la salmuera se está estabilizando, los nutrientes que utilizan los microorganismos están siendo lavados de las olivas, y pueden crecer microorganismos capaces de producir alteraciones, por ejemplo, *Enterobacter* y *Pseudomonas*, y tal vez *Clostridium*, *Bacillus*, y levaduras, hasta tanto no se ha iniciado el crecimiento abundante de *Leuconostoc mesenteroides*, (2) la fase intermedia, que dura de 2 a 3 semanas, durante la cual *Leuconostoc* predomina en cuanto a crecimiento y a producción de ácido, y en la cual empiezan a crecer y a producir ácido *Lactobacillus plantarum* y *L. brevis*, y (3) la fase final, en la que predominan estos lactobacilos, sobre todo *L. plantarum*. En especial en las primeras fases de la fermentación, tiene lugar la producción de ácido por levaduras, por coliformes, por *Leuconostoc*, así como por la especie heterofermentativa *L. brevis* y por otros lactobacilos. Una temperatura media de 24°C favorece una fermentación rápida. La acidez final, expresada en ácido láctico, suele estar en torno al 0,7-1,0 por cien y el pH final tiene valores comprendidos entre 4,0 y 3,8 o más bajos. A veces, probablemente como consecuencia del daño experimentado por las bacterias lácticas durante el tratamiento con lejía, la fermentación láctica normal se retarda o no tiene lugar. Es posible que las aceitunas contengan poco azúcar o que lo hayan perdido en exceso durante los tratamientos con lejía y los posteriores lavados y, por lo tanto, sea necesario añadirles glucosa para que tenga lugar la fermentación deseada.

Los recientes avances en la fermentación de las aceitunas sugieren el empleo de una salmuera al 10% acidificada con ácido láctico (3%) para reducir el pH y neutralizar la lejía residual. El calentamiento de las aceitunas antes de su inoculación mejora la fermentación. Recientemente, de las aceitunas verdes se ha(n) aislado un (varios) inhibidor(es) bacteriano(s) termolábil(es). Dos productos resultantes de la hidrólisis de la oleuropeína, la aglicona y el ácido elnólico, tienen una acción inhibidora sobre algunas bacterias lácticas y sobre varias otras especies (Fleming y otros, 1973).

Las aceitunas que han sido deshuesadas y se han rellenado con pimienta en salmuera, se colocan en barriles, se les añade salmuera, y se dejan durante más o menos un mes hasta que la pulpa del pimienta haya fermentado.

Las aceitunas fermentadas se seleccionan y se clasifican y se pueden introducir de nuevo en barriles para ponerlas de nuevo en salmuera o se lavan, se envasan bajo vacío en recipientes de vidrio o en otro tipo de envases, y se les añade de nuevo una salmuera de aproximadamente 28° salinométricos (7 por cien de sal). A la salmuera final se le puede añadir ácido láctico comestible. Para mejorar su calidad de conservación, se pueden pasteurizar en el mismo envase a una temperatura aproximada de 60°C o añadirles una salmuera a una temperatura comprendida entre 79 y 82°C.

Defectos y alteraciones. La alteración gaseosa de las aceitunas verdes suele ser producida por bacterias coliformes, sobre todo por especies de *Enterobacter*, aunque a veces es debida a especies de los géneros *Bacillus* y *Clostridium*. Pone de manifiesto la existencia de gas la presencia de pequeñas manchas que parecen vesículas existentes debajo de la piel de las aceitunas o de bolsas de gas en su interior que dan lugar al defecto denominado «ojo de pescado» y que son la causa de las aceitunas «flotantes». Con menor frecuencia, levaduras que producen gas y bacterias lácticas heterofermentativas son responsables de la alteración gaseosa de las aceitunas verdes.

Si las condiciones del medio no son favorables para la fermentación láctica normal, una fermentación butírica anormal debida a especies del género *Clostridium*, por ejemplo a *Clostridium butyricum*, puede ocasionar olores y sabores anormales. Si el pH es superior a 4,2, es posible que aparezcan un olor y un sabor «a salvia», que se conocen con la denominación de alteración «zapatera», producidos por especies de *Clostridium*, secundadas por bacterias propiónicas. El olor también se ha definido como variable entre un ligero olor a queso (butírico) y un olor fétido y fecal (putrefacto).

El reblandecimiento resultante de la destrucción de las sustancias pécticas que contiene la aceituna, puede ser debido a causas físicas o químicas o puede ser originado por bacterias coliformes pectolíticas; por especies de *Bacillus*, de *Aeromonas*, o de *Achromobacter**; por levaduras (*Rhodotorula*); o por mohos (*Penicillium*, *Aspergillus*, etc.).

Las manchas blancas prominentes o pústulas, situadas inmediatamente por debajo de la epidermis de la aceituna, mal llamadas «manchas de levaduras», son en realidad colonias de *Lactobacillus plantarum* o de *L. brevis*. En la superficie de los encurtidos de pepino fermentados a veces se encuentran manchas de parecidas características.

La turbiedad de la salmuera de las aceitunas envasadas en frascos de vidrio puede ser debida a microorganismos: (1) a bacterias lácticas, si se reanuda la fermentación del azúcar residual, (2) a bacterias halotolerantes, o (3) a levaduras formadoras de película o a mohos, en el caso de que en la salmuera exista aire. Primeramente, durante el tratamiento de las aceitunas, el crecimiento superficial de las levaduras formadoras de película puede destruir el ácido láctico y producir olores y sabores desagradables que persistirán en el producto acabado.

Las aceitunas almacenadas, es decir, aquéllas que se mantienen en salmuera de desde semanas a meses antes de ser tratadas, experimentan una fermentación

láctica y después, si se exponen al aire, se pueden reblandecer por la actividad pectinolítica de una flora aerobia de levaduras formadoras de película y de mohos que crecen en su superficie. La mayoría de estos mohos pertenecen a los géneros *Fusarium* y *Penicillium*.

Aceitunas maduras

Las aceitunas destinadas a la producción de aceitunas maduras se recogen cuando tienen un color entre verde y amarillo pajizo, se envían en cajas o en cubos a la fábrica en la que, antes de iniciar su tratamiento, se mantienen en una salmuera de concentración salina comprendida entre el 5 y el 10 por cien. Mientras las aceitunas permanecen en la salmuera, en ellas suele tener lugar una fermentación láctica. Tras clasificar y seleccionar las aceitunas, se someten al siguiente tratamiento para «encurtirlas»: un primer tratamiento con una solución de lejía de una concentración comprendida entre el 0,5 y el 2,0 por cien con el fin de que simplemente atravesase la piel; un tratamiento de aireación con agitación o aplicación de aire comprimido para oscurecer la piel; y nuevos tratamientos con lejía seguidos de nueva aireación. Finalmente se deja que la lejía penetre hasta el hueso, con lo cual se hidroliza la totalidad del glucósido amargo oleuropeína, y a continuación se lavan las aceitunas con agua para eliminar la totalidad de la lejía. A continuación, se procede a estabilizar las aceitunas maduras en una salmuera de una concentración de sal comprendida entre el 2 y el 3 por cien durante 2 o más días, durante los cuales pueden fermentar, aunque esto no es conveniente ya que la fermentación puede ocasionar defectos de color. Las aceitunas maduras se suelen enlatar con una salmuera de poca concentración y, una vez envasadas en frascos de cristal o en latas de hojalata, se someten a tratamiento térmico a una temperatura de aproximadamente 115,6°C durante 60 minutos.

Defectos y alteración. La alteración de las aceitunas maduras puede tener lugar mientras se encuentran en la salmuera de mantenimiento, apareciendo en las mismas una disminución de la intensidad de su color y tal vez cierto reblandecimiento. Estos defectos, lo mismo que la formación de vesículas o alteración conocida como «ojo de pescado», se han atribuido a las bacterias coliformes. A no ser que la temperatura del agua con que se lavan las aceitunas sea inferior a 21°C o que se encuentre comprendida entre 49 y 60°C cuando se elimina de las mismas la lejía, puede tener lugar el crecimiento de bacterias con el consiguiente reblandecimiento de estas frutas. Se ha demostrado que este defecto puede ser debido a la actividad de los enzimas pectolíticos de *Bacillus subtilis* y de *Bacillus pumilus*.

Otras hortalizas fermentadas

Las hortalizas que se aprovechan por sus hojas, como las espinacas y las acelgas, y «verduras» tales como la remolacha, la mostaza, y los colinabos, se

pueden preparar mediante un procedimiento parecido al que se usa para elaborar el sauerkraut a partir de la col. La adición de un 2,5 por cien en peso de sal seca extrae el agua de las hortalizas y permite que en las mismas tenga lugar una fermentación láctica parecida a la que experimenta el sauerkraut. La lechuga agria preparada de esta forma se ha comparado favorablemente con el sauerkraut. Los nabos agrios* se elaboran con raíces jóvenes de esta planta, a las cuales, sin pelar y después de troceadas, se les añade aproximadamente un 2,2 por cien en peso de sal. Los nabos en salazón, envasados en frascos de vidrio de medio galón, se mantienen a una temperatura comprendida entre 21 y 24°C para que experimenten una fermentación láctica parecida a la que tiene lugar en el sauerkraut.

Se pueden preparar tomates verdes fermentados para incorporarlos a aperitivos y a encurtidos mixtos. La fermentación es parecida a la del sauerkraut aunque más lenta, interviniendo en ella la misma serie de bacterias. Para acelerar la fermentación de los tomates, se puede pinchar su piel.

A partir de hortalizas se elaboran una serie de alimentos orientales fermentados, algunos de los cuales se estudiarán más adelante.

PRODUCTOS LACTEOS FERMENTADOS

En una obra como ésta, no se pueden describir con la suficiente extensión ni las numerosas variedades de quesos ni las distintas leches fermentadas existentes. Sólo describiremos brevemente algunos de los productos lácteos fermentados. Si el estudiante quiere obtener un más amplio conocimiento y conocer el alcance de la industria de los productos lácteos fermentados, debe consultar la bibliografía que figura al final de este capítulo. Los productos lácteos fermentados incluyen el suero de mantequilla, el yogurt, el suero de mantequilla búlgaro, la leche acidófila, el kefir, el kumis, el skyr, y el taette, así como otros muchos productos lácteos, muy parecidos o idénticos a los citados. La nata ácida cultivada es un producto lácteo parecido. En todas las leches fermentadas citadas, las bacterias lácticas llevan a cabo la fermentación principal para producir ácido láctico. En la Tabla 22.2 se relacionan algunos de los cultivos que se utilizan en la elaboración de productos lácteos fermentados.

En la elaboración del suero de mantequilla cultivado y de la leche ácida se emplea la actividad de cultivos mixtos; una de las cepas suele ser la responsable de la producción de ácido láctico, mientras que otra cepa aporta las bacterias que proporcionan el aroma al producto lácteo en cuestión. En ambos productos lácteos se podrían utilizar *Streptococcus lactis* subesp. *cremoris** o *S. lactis* subesp. *lactis** para producir la acidez (del 0,7 al 0,9 por cien, expresada en ácido

* N. del T.: Se trata del alimento agrio de los alemanes denominado «Sauerrüben».

Tabla 22.2. Cultivos que se utilizan en los principales productos lácteos fermentados.

Cultivo	Misión del cultivo	Aplicación
<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	Sabor y formación de ojos	Queso de Emmental (suizo)
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L. helveticus</i> <i>L. brevis</i>	Acidez y sabor	Leche búlgara, yogurt, kumis, y quesos de Emmental (suizo) e italiano
<i>L. acidophilus</i>	Acidez	Kefir
<i>Streptococcus termophilus</i>	Acidez	Suero de mantequilla acidófilo
<i>S. lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i> *	Acidez y sabor	Quesos de Emmental, de Cheddar, e italiano y yogurt
<i>S. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> *	Acidez	Nata agria, mantequilla madurada, queso, suero de mantequilla, y cultivos iniciadores
<i>Leuconostoc cremoris</i>	Sabor	Suero de mantequilla cultivado, nata agria, requesón, toda clase de quesos, tanto caseros como industriales, y cultivos iniciadores
<i>S. faecium</i> , <i>S. faecalis</i>	Acidez y sabor	Suero de mantequilla cultivado, mantequilla madurada y cultivos iniciadores
		Quesos blandos italianos, queso de Cheddar y algunos quesos suizos

lático), y *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* o *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis* como cepa que aporta el sabor o el aroma al producir diacetilo, compuesto que comunica el típico sabor al suero de leche.

El suero de mantequilla búlgaro se obtiene con un cultivo puro de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, mientras que en la fabricación del yogurt se emplea un cultivo mixto de *Streptococcus termophilus* y de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. El fermento del kefir son los granos del kefir, que son agregados de una mezcla de microorganismos, principalmente de *Lactobacillus brevis* y de varias levaduras. Además de producirse ácido, en el kefir se produce una pequeña cantidad de alcohol (en una proporción comprendida entre el 0,5 y el 1,0 por cien) y la cantidad suficiente de dióxido de carbono para carbonatar la bebida si durante la fermentación se mantiene en un recipiente cerrado herméticamente. El kumis, elaborado generalmente con leche de yegua, se obtiene mediante la fermentación de la leche con una mezcla de bacterias lácticas y levaduras procedentes de un lote de kumis elaborado anteriormente. La leche acidófila, que se prepara por sus propiedades terapéuticas en casos de trastornos intestinales, utiliza un cultivo puro de *Lactobacillus acidophilus* que ha crecido en leche que previamente ha sido esterilizada o casi esterilizada. Recientemente, la adición de gran cantidad de *L. acidophilus* (una suspensión concentrada y congelada de bacterias) se ha utilizado para preparar una leche «acidófila dulce» no fermentada. El taette es un

suero de mantequilla viscoso que se obtiene con una variedad mucosa de *Streptococcus lactis* subesp. *lactis**, mientras que el skyr es una leche fermentada semisólida en la que han desarrollado su actividad *S. thermophilus* y *L. delbrueckii* subesp. *bulgaricus*, principalmente.

Las leches fermentadas tienen la suficiente acidez para impedir que las alteren bacterias proteolíticas u otras bacterias que no son ácidotolerantes. Es necesario enfriarlas en el momento oportuno para evitar la producción de ácido por parte de las bacterias del fermento, y envasarlas herméticamente para impedir el crecimiento de mohos.

En la elaboración de la mayoría de los tipos de quesos interviene una fermentación láctica. Los quesos no madurados, como por ejemplo el requesón y el queso de nata, se elaboran con fermentos parecidos a los que se emplean en la elaboración del suero de mantequilla cultivado. Se deben enfriar y mantener bajo refrigeración hasta tanto no se consumen y tienen un tiempo de conservación relativamente corto. Los quesos madurados experimentan inicialmente una fermentación láctica por bacterias lácticas seguida de la actividad de sus enzimas y de la de los enzimas de otros microorganismos; en algunos quesos intervienen además los enzimas del cuajo, y en algunos quesos italianos lipasas de origen animal que se añaden a la cuajada. Los principales compuestos que aportan el sabor a los quesos madurados son la sal, el ácido láctico, los ácidos grasos, los aminoácidos, y los compuestos de carbonilo (p. ej., los aldehídos y las cetonas). Los quesos blandos madurados, como por ejemplo el queso de Limburger, son más percederos que los quesos más duros, como son el queso de Cheddar y el suizo, aunque para favorecer la conservación de los quesos totalmente curados es preciso almacenarlos a temperaturas de refrigeración. Hasta cierto punto, los quesos de corteza dura, como son el de Cheddar y el suizo naturales, están protegidos por su corteza frente a la desecación y a la alteración. La refrigeración también es necesaria para la mayoría de los tipos de quesos, así como también el empaquetado para los percederos y para los trozos que se cortan de los quesos más estables de mayor tamaño. Los quesos se envuelven para reducir al mínimo las pérdidas de humedad y la penetración de oxígeno, ya que si no se envolviesen en los mismos podrían crecer mohos. En general, ni el curado ni la maduración mejoran mucho la calidad de conservación, aunque durante el envejecimiento de los quesos duros que han sido curados durante mucho tiempo tienen lugar pérdidas de humedad y en su superficie se forma una corteza protectora. La mayoría de los productos químicos que se generan durante la maduración tienen poco efecto conservador, si bien los ácidos grasos moderan el crecimiento de los microorganismos anaerobios; de hecho, casi todos los quesos se vuelven más básicos conforme envejecen y, por consiguiente, son más susceptibles a ser alterados por bacterias. El propionato que se produce durante la maduración del buen queso suizo retarda el crecimiento de la mayoría de los mohos en la superficie del queso, y la « mancha » superficial de microorganismos que aparece en los quesos madurados en su superficie, como por ejemplo en el queso de barra o en el de Limburger, puede producir sustancias que inhiben a los demás microorganismos.

ALTERACIONES Y DEFECTOS DE LOS PRODUCTOS LACTEOS FERMENTADOS

La elaboración de las leches fermentadas y de los quesos fermentados depende de una fermentación o de una serie de fermentaciones apropiadas. Por lo tanto, cualquier anomalía en estas fermentaciones influirá en la calidad de dichos productos e incluso puede alterarlos. Asimismo, el producto acabado puede estar expuesto a alteraciones debidas a microorganismos.

Leches fermentadas

Para elaborar la mayoría de las leches fermentadas, a la leche pasteurizada se le añade un fermento que es incubado hasta que se alcanza la acidez deseada. El principal producto que se obtiene en la fermentación de las leches ácidas es ácido láctico, aunque se pueden obtener, o se les puede añadir, cantidades menores de sustancias que les comunican sabor. Si las bacterias del fermento son inactivas, es posible que crezcan otras bacterias que alteran la cuajada y su sabor. Las bacterias proteolíticas, que normalmente no son capaces de competir con las bacterias lácticas, pueden originar una cuajada de mala calidad y sabores extraños. Si en la superficie existe aire, el producto acabado es susceptible de ser alterado por mohos procedentes del aire del equipo.

Queso

Los defectos del queso pueden tener causas mecánicas o biológicas, si bien aquí sólo se estudiarán estas últimas. Los clases de alteración de los quesos se pueden dividir en aquéllas que aparecen durante la elaboración y la maduración del queso curado y aquéllas que se presentan en el producto acabado.

Alteraciones durante la elaboración. Durante la elaboración de la mayoría de los tipos de queso o mientras éste se está secando, es estimulada una fermentación láctica. Si las bacterias lácticas carecen de actividad o la contaminación con otros microorganismos es indebidamente abundante, en el queso pueden tener lugar alteraciones que influyen negativamente en su calidad. En el queso que se elabora con leche sin tratar, es posible que los microorganismos productores de gas sean los causantes de sabores anormales así como de la presencia de ojos en la cuajada como consecuencia del gas producido. Las levaduras que fermentan la lactosa, si bien no suelen encontrarse en la cuajada en gran cantidad, también pueden ocasionar la alteración gaseosa de los quesos. Si las bacterias lácticas no tienen la suficiente actividad, las bacterias esporógenas que producen gas, sobre todo las especies del género *Clostridium*, son capaces de provocar alteraciones tanto en los quesos elaborados con leche sin tratar como en los elaborados con

leche pasteurizada; con menor frecuencia, los aerobacilos*, especies esporógenas del género *Bacillus* como por ejemplo *B. polymyxa*, pueden producir gas en los quesos y originar otros defectos. Estos microorganismos esporógenos también pueden originar defectos en los quesos en fase de maduración.

Es posible que otras bacterias compitan con los microorganismos del fermento con resultados que no se ponen de manifiesto hasta la fase de curado, en la que pueden resultar afectados tanto la consistencia como el sabor del queso. Así por ejemplo, en el queso de Cheddar elaborado con leche pasteurizada, las bacterias proteolíticas pueden producir un sabor amargo, y las especies del género *Leuconostoc* pueden producir ojos o grietas.

El requesón en particular, está expuesto a la alteración durante el período de almacenamiento previo a su consumo. Si las bacterias del fermento producen una cantidad de ácido insuficiente o lo producen con excesiva lentitud, la cuajada resultante no será utilizable o el queso será de calidad inferior como consecuencia del crecimiento de microorganismos perjudiciales. La proteólisis, la producción de gas, la viscosidad, y los sabores anormales pueden estropear el producto. Con frecuencia algunas bacterias de la flora propia del suelo o del agua, como por ejemplo *Pseudomonas*, *P. fragi*, y *Alcaligenes metalcaligenes**, vuelven gelatinoso o viscoso al queso cuya acidez es excesivamente baja como consecuencia de la adición de nata o como consecuencia de la falta de fermento.

Alteraciones durante la maduración. Durante la maduración o curación, los quesos normalmente experimentan modificaciones físicas y químicas como consecuencia de la actividad de los enzimas liberados por autólisis de las células bacterianas que crecieron durante su elaboración y como consecuencia de la actividad de microorganismos cuyo número aumenta durante la fase de maduración. El crecimiento de microorganismos distintos a los deseados da como resultado un queso de calidad inferior y, en los casos extremos, un queso sin valor como consecuencia de alteraciones en su textura, en su consistencia, en su aspecto general o en su sabor. No obstante, las alteraciones más importantes son bastante distintas según la clase de queso de que se trate, y de aquí que, con relación a las mismas, no se pueda generalizar. Es posible que la mayoría de las clases de quesos estén expuestas al «gas tardío», normalmente producido por bacterias lácticas heterofermentativas o por especies de *Clostridium* que fermentan los lactatos, pero posiblemente también por bacilos, por bacterias propiónicas o por bacterias lácticas heterofermentativas. Las cavidades producidas por el gas, u ojos del queso, son deseables en el queso suizo y quesos emparentados, aunque no lo son de ningún modo en otras variedades de quesos. En el queso suizo y en los quesos parecidos es especialmente perjudicial la aparición de grietas o hendiduras ocasionadas por el gas o la producción de ojos excesivamente numerosos, excesivamente pequeños o de forma irregular. La producción de gas por parte de bacterias esporógenas va acompañada de la producción de sabores indeseables, como por ejemplo el sabor a ácido butírico originado por bacterias anaerobias.

El sabor amargo puede ser originado por ciertos estreptococos lácticos; por las bacterias proteolíticas, por ejemplo por las de tipo ácido-proteolítico; por coliformes; por micrococos*; por otras varias bacterias; y (rara vez) por levaduras, las cuales suelen comunicar al queso un sabor dulce, a frutas, o a levaduras.

Es posible que se presente una putrefacción localizada o generalizada en aquellos quesos en los que las bacterias lácticas no han producido la acidez suficiente o en aquéllos en los que el ácido producido ha sido destruido por una especie bacteriana que fermenta los lactatos, como es *Clostridium tyrobutyricum*. En la putrefacción pueden intervenir bacterias anaerobias causantes de putrefacción, como por ejemplo *C. sporogenes* o *C. lentoputrescens**.

Las modificaciones de color del queso en fase de maduración pueden ser debidas a la actividad de microorganismos sobre compuestos producidos durante la curación o sobre colorantes añadidos, como por ejemplo sobre la bija* que se utiliza en la elaboración del queso de Cheddar, o puede ser consecuencia del crecimiento sobre la superficie o en el interior del queso de colonias o de microorganismos pigmentados. Las coloraciones anormales azul, verde o negra, pueden ser debidas a la reacción del sulfuro de hidrógeno, producido por algunos microorganismos, con metales o sales metálicas. Los grupos sulfhidrilo de origen bacteriano dan a la bija un tono de color que varía de rosa a indefinido. Las coloraciones que van desde pardo-rojizas a pardo-grisáceas a veces son consecuencia de la oxidación de la tirosina por bacterias que crecen en los quesos blandos. Las manchas de óxido del queso de Cheddar y de otros quesos parecidos son originadas por colonias de *Lactobacillus plantarum* var. *rudensis** o por *L. brevis* var. *rudensis**, mientras que las manchas amarillas, de color de rosa, o pardas del queso suizo, principalmente en la superficie de los ojos, son colonias de especies pigmentadas pertenecientes al género *Propionibacterium*.

Alteraciones del queso acabado. En general, el carácter perecedero de los quesos curados aumenta cuanto mayor es su contenido de humedad. Por lo tanto, los quesos blandos, como son los quesos de Limburger y de Brie, son más perecederos, mientras que los quesos duros, como son el de Cheddar y el suizo, son más estables. Los más temidos de los microorganismos que alteran los quesos son los mohos que suelen crecer en la superficie de los mismos, así como en las grietas y en los orificios que se practican para realizar catas. La mayoría de los quesos naturales poseen una corteza que, en cierto modo, sirve de protección al interior anaeróbico, aunque no suele estar lo suficientemente seca para impedir que en ella crezcan mohos. La acidez del queso no impide el crecimiento de los mohos, y la temperatura de almacenamiento no es excesivamente baja para detener su crecimiento. La mayoría de los mohos crecen formando colonias pigmentadas en la superficie de los quesos o en las grietas, sin que penetren mucho hacia su interior, aunque algunas especies producen verdaderas putrefac-

* N. del T.: Pasta tintórea que se prepara con las semillas de la bija, árbol bixáceo americano, llamado también achiote, provisto de hojas con largos pecíolos, flores rojas y olorosas y fruto carnoso con muchas semillas.

ciones. Las sustancias elaboradas por los mohos, como por ejemplo las micotoxinas y los antibióticos, pueden pasar al interior del queso. Localmente, no sólo son visibles modificaciones del color, sino que también se producen sabores anormales. Entre los mohos que crecen en la superficie de los quesos se encuentran los siguientes:

- 1 Especies del género *Oospora* (*Geotrichum*). *Oospora* (*Geotrichum*) *lactis*, conocido como **moho de las lecherías**, crece en la superficie de los quesos blandos y durante la fase de maduración, a veces inhibe el crecimiento de otros mohos y el de bacterias que maduran la superficie. Por debajo del fieltro, la cuajada poco a poco se va volviendo líquida. Las especies *O. rubrum* y *O. crustacea* originan una coloración roja, y *O. aurianticum* origina manchas de un color variable entre el anaranjado y el rojo. *O. caseovorans* produce el «cáncer del queso» en el queso suizo y en quesos parecidos. Los abultamientos correspondientes al crecimiento se llenan de una masa blanca de aspecto yesoso.
- 2 Especies del género *Cladosporium*. Tanto el micelio como las esporas de estos mohos son negros o ahumados, y de aquí que confieran colores oscuros al queso. La especie más corriente es *C. herbarum*, que se caracteriza por colores que varían desde el verde oscuro al negro. Otras especies dan lugar a colores anormales verdes, pardos o negros.
- 3 Especies de *Penicillium*, *P. puberulum* y otras especies de esporas verdes crecen en hendiduras, grietas y orificios de catas del queso de Cheddar y de quesos parecidos a los cuales comunican un color verde por ser de este color sus esporas. Pueden actuar sobre la bija y producir un moteado del queso o coloraciones anormales. *P. casei* origina manchas de color pardo amarillento en la corteza, y *P. aurantio-virens* produce modificaciones de color en el queso de Camembert.
- 4 Especies del género *Monilia*. *M. nigra* produce manchas negras penetrantes en la corteza de los quesos duros. Las especies de muchos más géneros, por ejemplo de los géneros *Scopulariopsis*, *Aspergillus*, *Mucor* y *Alternaria*, pueden modificar el color de los quesos y comunicarles sabores anormales.

Si la superficie está suficientemente húmeda, las levaduras pueden formar colonias o zonas provistas de color, y las levaduras formadoras de película pueden preparar el terreno para que crezcan las colonias de *Brevibacterium linens* cuyo color varía del amarillo al rojo. Este último microorganismo es beneficioso en la maduración superficial de algunos quesos pero no en la maduración de otros.

TE, CAFE, CACAO, Y CIDRA

Té

El té se puede clasificar en: (1) fermentado, o té negro, (2) no fermentado, o té verde, y (3) semifermentado, o té negro con el sabor del verde. Los expertos están

de acuerdo en que la «fermentación» de las hojas de té es consecuencia de la actividad de los enzimas de las hojas más que a la de los microorganismos existentes en las mismas, aunque la actividad de los microorganismos puede perjudicar el sabor y rebajar la calidad del té negro. Como productores de alteración se han señalado mohos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Rhizopus*.

Café

Los dos principales procedimientos de curar el café son: (1) el procedimiento seco, en el cual las bayas o «cerezas» se extienden y se secan a la intemperie mediante el calor del sol o artificialmente, y (2) el procedimiento húmedo, o procedimiento del café lavado, en el cual las bayas, tras eliminar su cubierta externa, se maceran en agua. En ambos procedimientos, la separación de la pulpa se consigue principalmente mediante bacterias pectinolíticas, en su mayor parte coliformes, aunque también es posible que existan bacilos y hongos pectinolíticos. A continuación tiene lugar una fermentación ácida llevada a cabo por bacterias lácticas tales como *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis* y *L. plantarum*, y *Streptococcus faecalis*. Los ácidos producidos pueden ser degradados por microorganismos oxidantes. Una vez que la pulpa y sus residuos han sido arrastrados por lavado, los granos se secan y se les quita la cáscara.

Antes de proceder al tostado de los granos de café, y con el fin de mejorar el sabor y el aroma del café tostado, existen patentes para fermentar los granos de café mediante ciertas especies de bacterias. En un procedimiento para eliminar la capa de pulpa de los granos, también se ha utilizado un enzima pectolítico derivado de mohos, impidiendo de esta forma que se obtenga un café con un sabor anormal que a veces es consecuencia de una fermentación anormal incontrolada.

Durante su desecación, los granos de café que han sido liberados se pueden estropear si esta operación se prolonga excesivamente.

Cacao

Cuando el cacao, o granos del cacao (semillas), se separa de su vaina está recubierto por una pulpa viscosa o pulpa de olor a fruta, que se elimina mediante una fermentación. Las semillas recubiertas por la pulpa se colocan en montones, en hoyos, o en una «caja de exudación», y se recubren con hojas de plátano o de llantén. Durante los 3 a 13 días que dura la fermentación, se remueven las semillas y se les da vueltas para airearlas y para mantener baja la temperatura. La fermentación persigue los siguientes objetivos: (1) eliminar de las semillas la pulpa que queda adherida, (2) matar el embrión de la semilla, y (3) dar aroma, sabor, y color a las semillas. También en este caso resulta difícil decir hasta qué punto intervienen en la fermentación los enzimas de la planta y cuál es el papel que en la misma desempeñan los microorganismos que se multiplican en las semillas de cacao.

Según algunas publicaciones, la fermentación se desarrolla en varias etapas: (1) fermentación de los azúcares de la pulpa a etanol y a dióxido de carbono por diversas levaduras, en especial por *Candida krusei* y por levaduras apiculadas, y fermentación ácida por bacterias, (2) oxidación del etanol a ácido acético por bacterias acéticas, (3) reacciones químicas desencadenadas por el calor que se produce en la fermentación, en la que las temperaturas se pueden elevar hasta 44 e incluso hasta 50°C, y por los enzimas de la planta, y (4) nuevas reacciones químicas que tienen lugar durante el curado o desecación de las semillas del cacao. Durante el curado de las semillas del cacao, los mohos y los actinomicetos pueden alterarlas.

Cidra

Los frutos del cidro*, divididos en dos mitades, se mantienen durante un tiempo de 6 a 7 semanas sumergidos en agua de mar o en una salmuera con una concentración de sal comprendida entre el 5 y el 10 por cien. Se ha señalado que las levaduras mejoran el aroma de la cidra mediante la esterificación de sus esencias y que la fermentación alcohólica llevada a cabo por levaduras, seguida de una fermentación acética, contribuyen a mejorar el sabor, el color, y la textura de la cidra. Durante su fermentación, se han encontrado, como microorganismos predominantes, una levadura, *Saccharomyces citri medicae*, y una bacteria, *Bacillus citri**

ALIMENTOS ORIENTALES FERMENTADOS

En la elaboración de la mayoría de los alimentos orientales fermentados que se citan a continuación intervienen mohos. En el fermento que los japoneses designan con el nombre de **koji** y los chinos con el de **chou**, los mohos actúan como fuentes de enzimas, tales como amilasas que hidrolizan el almidón de los granos, lipasas, y algunos más. Casi todos los fermentos son mezclas de mohos, de levaduras y de bacterias, aunque en la elaboración de unos cuantos alimentos orientales fermentados se han empleado cultivos puros.

Salsa de soja

El principal alimento oriental fermentado que se importa en los Estados Unidos, y que también se elabora aquí, es la salsa de soja, una salsa salada de color

* N.- del T.: Arbol aurantiáceo de flores encarnadas olorosas cuyo fruto es la cidra. Los frutos del cidro son parecidos a los del limón, aunque de mayor tamaño; su corteza, su semilla y su zumo se utilizan en Medicina.

pardo, de sabor fuerte, que se utiliza en platos tales como el llamado chop suey* o como componente de otras salsas. Tanto los procedimientos que se utilizan para preparar el fermento como la elaboración de la salsa de soja ofrecen muchas modalidades, y de aquí que den como resultado la obtención de distintos tipos de alimentos.

El fermento. Los fermentos (koji o chou) pueden ser cultivos mixtos transferidos de lotes anteriores o cultivos puros de microorganismos que han crecido por separado. El sustrato en el cual se siembra el fermento varía, aunque muy a menudo es una mezcla, esterilizada al autoclave, de semillas de soja, de granos de trigo quebrantados, y de salvado de trigo; una mezcla de salvado de trigo y harina de soja; o arroz. Una vez humedecido el sustrato, extendido en pequeñas cajas o bandejas, se siembra con esporas de *Aspergillus oryzae* (*A. soyae*), y se mantiene a una temperatura comprendida entre 25 y 30°C hasta que se juzga que el crecimiento de los mohos en la superficie del amasijo ha alcanzado la máxima cantidad de enzimas (generalmente después de transcurridos unos 3 días). En el koji también crece una flora integrada por bacterias lácticas, estreptococos y lactobacilos que produce ácido láctico, y tiene lugar cierto crecimiento de especies de *Bacillus*. El fermento se puede utilizar inmediatamente después de su preparación, se puede desecar para utilizarlo después, o puede ser desecado y obtener un extracto del mismo para utilizarlo posteriormente.

Preparación de la salsa de soja. La masa a fermentar puede estar integrada por semillas de soja tratadas al autoclave o por semillas de soja desengrasadas e hidrolizadas químicamente, por granos de trigo tostados y aplastados, y por salvado de trigo tratado con vapor de agua. La masa se siembra con el koji y se incuba en bandejas durante 3 días a una temperatura de aproximadamente 30°C. A continuación se empapa con una salmuera estéril de cloruro sódico al 24 por cien (a veces el koji se mezcla directamente con un volumen igual de agua salada). La masa mezclada con la salmuera se conserva desde 2,5 meses a un año o más, según la temperatura.

Fermentación. Las proteinasas, las amilasas, y los demás enzimas del koji continúan en actividad durante todo el período de conservación. En el curado se distinguen tres fases: (1) fermentación láctica por las bacterias lácticas del koji, seguida de la producción de más ácido por *Pediococcus halophilus*, (2) fermentación alcohólica por levaduras, tales como *Saccharomyces rouxii* y *Zygosaccharomyces soyae*, y (3) terminación de la fermentación y envejecimiento de la salsa. Los distintos microorganismos que tienen importancia en la elaboración de la salsa de soja se pueden añadir en cultivo puro o pueden proceder tanto de lotes anteriores de koji como de los ingredientes. Los principales microorganismos

* N. del T.: Plato chino a base de carne o pollo con arroz.

son: *Aspergillus soyae (oryzae)*, el microorganismo más importante, el cual crece en el koji para producir proteinasas, amilasas y otros enzimas que fermentan la salsa de soja y aporta aromas y sabores; las bacterias lácticas, por ejemplo, *Lactobacillus delbrueckii*, el cual acidifica el koji lo suficiente para evitar que se altere y acidifica la masa; *Bacillus subtilis* y otros bacilos, los cuales crecen en el koji para mejorar su sabor y convierten en menos turbia la salsa de soja; *Pediococcus halophilus*, el cual aumenta la cantidad de ácido en la masa y, por consiguiente, estimula el crecimiento de las levaduras, aporta aromas y sabores fundamentales, disminuye la intensidad del color, y reduce la actividad de las proteinasas de los mohos; y especies del género *Hansenula*, la especie *Saccharomyces rouxii*, y otras levaduras, las cuales producen alcohol y aportan sabor.

Salsa de tamari. Se trata de una salsa japonesa, parecida a la salsa de soja, elaborada mediante una fermentación de corta duración de un amasijo de soja al que a veces se le añade arroz. El principal moho que interviene en la elaboración de la salsa de tamari es un moho diferente, *Aspergillus tamarii*.

Miso

El koji que se emplea para preparar el **miso** es un cultivo de *Aspergillus oryzae* que se hace crecer a una temperatura de unos 35°C en una masa de arroz descascarillado y tratado con vapor, colocado en bandejas de poca profundidad, hasta que los granos están totalmente recubiertos por el moho, pero que éste no haya esporulado. El koji se mezcla con una masa de semillas de soja aplastadas y tratadas con vapor, se le añade sal, y se deja que la fermentación continúe primeramente durante una semana a 28°C y después durante dos meses a 35°C, transcurridos los cuales, se deja que la mezcla madure a la temperatura ambiente durante varias semanas. En la fermentación principal intervienen los enzimas del koji, levaduras (*Saccharomyces rouxii* y especies de *Zygosaccharomyces*), bacterias lácticas, y bacilos. El producto final se muele para convertirlo en una pasta que se utiliza mezclándola con otros alimentos.

Tempeh

En la elaboración del **tempeh**, un alimento indonesio, las semillas de soja se maceran en agua durante una noche a 25°C, se elimina la envoltura externa de las semillas y éstas, divididas en mitades, se hierven en agua durante 20 minutos, se escurren en esterillas, se enfrían, y se siembran con un lote anterior de tempeh o con esporas de mohos de especies del género *Rhizopus* (*R. stolonifer*, *R. oryzae*, *R. oligosporus*, o *R. arrhizus*). Se introduce la masa en un recipiente de plástico o en un tubo hueco, o bien se envuelve en hojas de plátano. A continuación se incuba a unos 32°C durante 20 horas hasta que se observa un abundante crecimiento de micelio, pero poca esporulación. El producto se corta a rebanadas finas (Fig.



Figura 22.3. Torta de tempeh. (Departamento de Fotografía del USDA.)

22.3), se sumerge en agua salada, y se fríe con grasa vegetal hasta que adquiere un color pardo dorado.

Ang-khak

El **ang-khak**, o arroz rojo chino, se obtiene cultivando el moho de la especie *Monascus purpureus* en arroz tratado al autoclave, y se emplea para dar color y sabor al pescado y a otros alimentos.

Natto

En la elaboración del **natto**, las semillas de soja, una vez hervidas, se envuelven en paja de arroz y se dejan fermentar durante 1 ó 2 días. En la superficie externa del fardo así preparado se puede ver un mucílago. En el natto crece *Bacillus natto**, probablemente idéntico a *Bacillus subtilis*, que libera enzimas parecidos a la tripsina, suponiéndose que se trata de enzimas que son importantes en la maduración de este alimento.

Queso de soja

El queso de soja, **tou-fu-ju**, o **tofu**, es un alimento chino fermentado que se elabora macerando en agua semillas de soja, moliéndolas para obtener una pasta,

y filtrándolas después a través de un lienzo. La proteína existente en el filtrado se coagula mediante una sal de calcio o de magnesio, después de lo cual se prensa el coágulo para formar bloques. Los bloques, colocados en bandejas, se mantienen en una cámara de fermentación a unos 14°C durante un mes, tiempo durante el cual crecen en los mismos mohos blancos, probablemente especies del género *Mucor*. La maduración final tiene lugar en los bloques introducidos en salmuera o en un vino especial.

Minchin

El **minchin** fermentado se prepara con gluten de trigo del cual se ha extraído el almidón. El gluten recién preparado y humedecido, se coloca en un frasco cerrado y se deja fermentar durante 2 a 3 semanas, transcurridas las cuales se sala. Se comprobó que una muestra típica contenía siete especies de mohos, nueve especies de bacterias, y tres especies de levaduras. El producto final se corta en lonjas que se hierven, se hornean o se fríen.

Idli

El **idli**, alimento fermentado de la India, se elabora con arroz y garbanzos negros a partes iguales. Los ingredientes se lavan y se maceran por separado, se muelen, se mezclan, y finalmente se dejan fermentar durante toda la noche. Cuando la pasta ha subido bastante, se cuece al vapor y se sirve caliente. En la pasta, primeramente crece la especie *Leuconostoc mesenteroides*, y la fermenta, después crece *Streptococcus faecalis* y finalmente *Pediococcus cerevisiae**, todas las cuales cooperan en su acidificación.

Pescado fermentado

Los japoneses preparan un pescado fermentado cortándolo a tiras, cociéndolo, y después favoreciendo su fermentación mediante mohos, principalmente mediante especies del género *Aspergillus*. A continuación las tiras de pescado se desecan. Los chinos cuentan con un alimento a base de pescado fermentado conservado en un arroz fermentado al que denominan **lao-chao**. En la fermentación del arroz tratado al vapor intervienen mohos y levaduras, produciéndose cierta cantidad de alcohol.

Huevos conservados

El **pidan**, o huevo chino en conserva, se elabora con huevos de pata que se revisten con una mezcla pastosa de sosa, paja quemada, sal, y cal apagada, y que

se recubren con cascarilla de arroz. Después de ello, los huevos se guardan en vasijas de arcilla cerradas durante un mes o más tiempo. En el interior del huevo crecen varias bacterias, aunque parece ser que predominan las bacterias coliformes y especies del género *Bacillus*.

Poi

Si bien el poi es un alimento hawaiano más que oriental, se describirá aquí. En la preparación del poi, las cebollas (tallos carnosos parecidos a bulbos) del taro* se tratan con vapor a una temperatura comprendida entre 70 y 100°C durante un tiempo de 2 a 3 horas, se enfrían, se lavan, se pelan, se cortan y se convierten en raspaduras, y a continuación se muelen finamente. Esta masa molida, una vez mezclada con agua para que adquiera la consistencia deseada, es el poi fresco que está listo para el consumo. El poi agrio o fermentado se prepara incubando a temperatura ambiente los barriles, u otro tipo de recipientes, que contienen el poi fresco, como mínimo durante 1 día y, a lo sumo, durante no más de 6 días. Durante las 6 primeras horas de fermentación, el poi se hincha o se esponja y cambia de color. Durante esta fase predomina una mezcla de microorganismos del suelo y del agua, microorganismos tales como bacterias coliformes, especies de *Pseudomonas*, bacterias cromógenas, y levaduras. Entre las 6 horas y los 4 días de fermentación, la flora está integrada preferentemente por bacterias productoras de ácido, entre las cuales se encuentran las especies *Lactobacillus pastorianus**, *L. delbrueckii*, *L. brevis*, *Streptococcus lactis* subesp. *lactis*, y *S. kefir* (*Leuconostoc*). Estas bacterias lácticas llevan a cabo la fermentación principal del poi, aunque durante la última fase de la fermentación, las levaduras (levaduras formadoras de película), y el mohó *Geotrichum candidum* aumentan en número y probablemente aportan olores a fruta y sabores agradables (bouquet). Los principales productos resultantes de la fermentación son los ácidos láctico, acético y fórmico, alcohol, y dióxido de carbono. Es probable que las fermentaciones anormales de este alimento sean de tipo butírico.

BIBLIOGRAFIA

General

- Gray, W. D. 1973. The use of fungi as food and in processing, pt. II. CRC Press, Cleveland.
- Hesseltine, C. W. 1965. A millennium of fungi food and fermentation. *Mycologia*. 57: 149-197.

* N. del T.: *Colocassia antiquorum*. Especie de planta de la familia de las Aráceas de las islas del Pacífico que se cultiva en los trópicos por las reservas de almidón que contiene su bulbo.

- Miller, B. M., and W. Litsky. 1976. *Industrial microbiology*. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Pederson, C. S. 1971. *Microbiology of food fermentations*. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Reed, G. 1982. *Prescott and Dunn's industrial microbiology*. 4th ed. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Reed, G. R., and H. J. Peppler. 1973. *Yeast technology*. 3d ed. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Rose, A. H. 1961. *Industrial microbiology*. Butterworth & Co. (Publishers), Ltd., London.
- Rose, A. H. (ed). 1982. *Economic microbiology*. Volume 7. *Fermented foods*. Academic Press, Inc., New York.
- Steinkraus, K. H. 1983. *Handbook of indigenous fermented foods*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Underkofler, L. A., and R. J. Hickey (eds.). 1954. *Industrial fermentations*. Chemical Publishing Company, Inc., New York.
- Weiser, H. H., G. J. Mountney, and W. A. Gould. 1971. *Practical food microbiology*. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.

Pan

- Amos, A. J. 1942. *Microbiology and baking*. *Chem. Ind.* 61:117-119.
- Biltcliffe, D. O. 1971. Active dried baker's yeast. I. Systems involved in the fermentation of mono- and disaccharides. *J. Food Technol.* 6:423-432.
- Biltcliffe, D. O. 1972. Active dried baker's yeast. II. Factors involved in the fermentation of flour. *J. Food Technol.* 7:63-77.
- Food Engineering Staff. 1962. Bread-dough process. *Food Eng.* 34(2):51.
- Fortmann, K. L. 1967. New developments in continuous dough making. *Baker's Dig.* 41:114-118.
- Kline, L., and T. F. Sugihara. 1971. Microorganisms of the San Francisco sour dough bread process. II. Isolation and characterization of undescribed bacterial species responsible for the souring activity. *Appl. Microbiol.* 21:459-465.
- Matz, S. A. 1972. *Bakery technology and engineering*. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Micka, J. 1955. Bacterial aspects of soda cracker fermentation. *Cereal Chem.* 32:125-131.
- Ng, H. 1972. Factors affecting organic acid production by sour dough (San Francisco) bacteria. *Appl. Microbiol.* 23:1153-1159.
- Oura, E., H. Suomalainen, and R. Viskari. 1982. Breadmaking. In A. H. Rose (ed.), *Fermented foods*. Volume 7. Academic Press, Inc., New York.
- Pomeranz, Y., and J. A. Shellenberger. 1971. *Bread science and technology*. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Schulz, A. 1952. The microbiology of sour dough. *Baker's Dig.* 26(5):27-29, 37.
- Sugihara, T. F., L. Kline, and M. W. Miller. 1971. Microorganisms of the San Francisco sour dough bread process. I. Yeasts responsible for the leavening action. *Appl. Microbiol.* 21:456-458.
- Sultan, W. J. 1969. *Practical baking*. 2d ed. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.

Bebidas alcohólicas

- Amerine, M. A. 1964. Wine. *Sci. Am.* August, pp. 169-179.
- Amerine, M. A. 1972. Quality control in the California wine industry. *J. Milk Food Technol.* 35:373-378.
- Amerine, M. A., H. W. Berg, and W. V. Cruess. 1972. *Technology of wine making*. 3d ed. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Asai, T. 1968. Acetic acid bacteria. Classification and biochemical activities. University Park Press, Baltimore.
- Berger, D. G. 1972. Quality control in the brewing industry. *J. Milk Food Technol.* 35:719-725.
- Broderick, H. M. 1977. *The practical brewer: a manual for the brewing industry*. 2d ed. Master Brewers Assoc. of the Americas, Madison, Wisc.
- Carr, J. G. 1962. The microbiology of wines and ciders. *Rep. Prog. Appl. Chem.* 47:645-657.
- Cruess, W. V. 1947. *The principles and practice of wine making*. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Dadd, M. J. S., and P. A. Martin. 1973. The Genus *Zymomonas*: a review. *J. Inst. Brew.* 79:386-391.
- Gini, B., and R. H. Vaughn. 1962. Characteristics of some bacteria associated with the spoilage of California dessert wines. *Am. J. Enol. Viticult.* 13:20-31.
- Haas, G. J. 1960a. *Microbial control methods in the brewery*. Academic Press, Inc., New York.
- Haas, G. J. 1960b. Microbial control methods in the brewery. *Appl. Microbiol.* 2:113-162.
- Halcrow, R. M. 1963. Biological considerations of brewery water supplies. *Brewers Dig.* 28(8):39-45.
- Hardwick, W. A. 1973. Recent advances in brewing technology. *In Fermented Foods*, 8th Ann. Symp. N.Y. State Agr. Exp. Stn. Spec. Rep. 16, April 1974.
- Hoggan, J. 1963a. Recent developments in brewing technology. *Food Manuf.* 38:308-314, 331.
- Hoggan, J. 1963b. Brewing, malting, and allied processes. *Rep. Prog. Appl. Chem.* 48:524-532.
- Joe, A. M., and K. M. Shahani. 1975. Grapes and wine technology: grapes to wine. *J. Milk Food Technol.* 38:237-243.
- Joslyn, M. A., and M. W. Turbovsky. 1954. Commercial production of table and dessert wines, Volume I, chap. 7. *In* L. A. Underkofler and R. J. Hickey (eds.), *Industrial fermentations*. Chemical Publishing Company, Inc., New York.
- Kleyn, J., and J. Hough. 1971. The microbiology of brewing. *Annu. Rev. Microbiol.* 25:583-608.
- Kodama, K., and K. Yoshizawa. 1977. Sake. *In* A. H. Rose (ed.), *Economic Microbiology*. Volume 1. Academic Press, Inc., New York.
- Rice, A. C. 1973. Yeast fermentation in wine technology. 8th Annu. Symp. N.Y. State Agr. Exp. Stn. Spec. Rep. 16, April 1974.
- Rose, A. H. 1977. *Alcoholic beverages*. Academic Press, Inc., New York.
- Samuel, O. C. 1963. Continuous brewhouse operation. *Food Proc.* 24(9):60-63.
- Shimwell, J. L. 1960. The beer acetic acid bacteria. *Brewers Dig.* 25(7):38-40.
- Vaughn, R. H. 1955. Bacterial spoilage of wines with special reference to California conditions. *Adv. Food Res.* 6:67-108.

- Webb, A. D. (ed.). 1974. Chemistry of wine making. Adv. Chem. Ser. 137. American Chemical Society, Washington.
- Wiles, A. E. 1961. The wild yeasts: a review. *Brewers Dig.* 36(1):40-46.
- Windisch, S. 1962. Microbiological problems in brewing. *Brewers Dig.* 37(2):47-51.

Vinagre

- Allgeier, R. J., and F. M. Hildebrandt. 1960. Newer developments in vinegar manufacture. *Adv. Appl. Microbiol.* 2:163-182.
- Asai, T. 1970. Acetic acid bacteria. University Park Press, Baltimore.
- Carr, J. G., and J. L. Shimwell. 1961. Acetic acid bacteria. 1941-1961: a critical review. *Antonie van Leeuwenhoek. J. Microbiol. Serol.* 27:386-400.
- Conner, H. A., and R. J. Allgeier. 1976. Vinegar: its history and development. *Adv. Appl. Microbiol.* 20:81-133.
- Hromatka, O., and H. Ebner. 1959. Vinegar by submerged oxidative fermentation. *Ind. Eng. Chem.* 51:1279-1280.

Hortalizas fermentadas

- Bates, R. D. 1970. Lactic acid fermentation of outer celery petioles. *J. Food Sci.* 35:476-479.
- Etchells, J. L., J. A. Bell, H. P. Fleming, R. E. Kelling, and R. L. Thompson. 1973. *Pickle Pak Sci.* 3:4-14.
- Etchells, J. L., A. F. Borg, and T. A. Bell. 1968. Bloaters formation by gas-forming lactic acid bacteria in cucumber fermentations. *Appl. Microbiol.* 16:1029-1035.
- Etchells, J. L., A. F. Borg, I. D. Kittel, T. A. Bell, and H. P. Fleming. 1966. Pure culture fermentation of green olives. *Appl. Microbiol.* 14:1027-1041.
- Etchells, J. L., R. N. Costilow, T. E. Anderson, and T. A. Bell. 1964. Pure culture fermentation of brined cucumbers. *Appl. Microbiol.* 12:523-535.
- Etchells, J. L., H. P. Fleming, and T. A. Bell. 1973. Factors influencing the growth of lactic acid bacteria during fermentation of brined cucumbers. *In* J. G. Carr et al. (eds.), *Lactic acid bacteria in beverages and foods*. Academic Press, Inc., New York, 1975.
- Etchells, J. L., H. P. Fleming, L. H. Hontz, T. A. Bell, and R. J. Monroe. 1975. Factors influencing bloater formation in brined cucumbers during controlled fermentation. *J. Food Sci.* 40:569-575.
- Etchells, J. L., and I. D. Jones. 1943a. Bacteriological changes in cucumber fermentation. *Food Ind.* 15(2):54-56.
- Etchells, J. L., and I. D. Jones. 1943b. Commercial brine preservation of vegetables. *Fruit Prod. J.* 22:242-246, 251, 253.
- Fabian, F. W., and L. J. Wickerham. 1935. Experimental work on cucumber fermentation (dills). VIII. *Mich. State Coll. Agr. Exp. Stn. Bull.* 146.
- Fleming, H. P., and J. L. Etchells. 1967. Occurrence of an inhibitor of lactic acid bacteria in green olives. *Appl. Microbiol.* 15:1178-1184.
- Fleming, H. P., J. L. Etchells, R. L. Thompson, and T. A. Bell. 1975. Purging of CO₂ from cucumber brines to reduce bloater damage. *J. Food Sci.* 40:1304-1310.

- Fleming, H. P., R. F. McFeeters, and M. A. Daeschel. 1985. The lactobacilli, pedococci, and leuconostocs: vegetable products. In S. E. Gilliland (ed.), *Bacterial starter cultures for foods*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla.
- Fleming, H. P., R. L. Thompson, T. A. Bell, and L. H. Hontz. 1978. Controlled fermentation of sliced cucumbers. *J. Food Sci.* 43:888-891.
- Fleming, H. P., R. L. Thompson, J. L. Etchells, R. E. Kelling, and T. A. Bell. 1973. BLOATER formation in brined cucumbers fermented by *Lactobacillus plantarum*. *J. Food Sci.* 38:499-503.
- Fleming, H. P., W. M. Walter, Jr., and J. L. Etchells. 1969. Isolation of a bacterial inhibitor from green olives. *Appl. Microbiol.* 18:856-860.
- Fleming, H. P., W. M. Walter, Jr., and J. L. Etchells. 1973. Antimicrobial properties of oleuropein and products of its hydrolysis from green olives. *Appl. Microbiol.* 26:777-782.
- Fulde, R. C., and F. W. Fabian. 1953. The influence of gram-negative bacteria on the sauerkraut fermentation. *Food Technol.* 7:486-488.
- Keipper, C. H., W. H. Peterson, E. B. Fred, and W. E. Vaughn. 1932. Sauerkraut from pretreated cabbage. *Ind. Eng. Chem.* 24:884-889.
- Pederson, C. S. 1931. Sauerkraut. N.Y. State Agr. Exp. Stn. Bull. 595
- Pederson, C. S., and M. N. Albury. 1953. Factors affecting the bacterial flora in fermenting vegetables. *Food Res.* 18:290-300.
- Pederson, C. S., and M. N. Albury. 1954. The influence of salt and temperature on the microflora of sauerkraut fermentation. *Food Technol.* 8:1-5.
- Pederson, C. S., and L. Ward. 1949. Effect of salt on the bacteriological and chemical changes in fermenting cucumbers. N.Y. State Agr. Exp. Stn. Bull. 288.
- Splittstoesser, D. F., and W. P. Wettergreen. 1964. The significance of coliforms in frozen vegetables. *Food Technol.* 18:392-394.
- Splittstoesser, D. F., W. P. Wettergreen, and C. S. Pederson. 1961. Control of microorganisms during preparation of vegetables for freezing. I. Green beans. II. Peas and corn. *Food Technol.* 15:329-331; 332-334.
- Stamer, J. R. 1973. Recent developments in the fermentation of sauerkraut. In J. G. Carr et al. (eds.), *Lactic acid bacteria in beverages and food*. Academic Press, Inc., New York. 1975.
- Stamer, J. R., B. O. Stoyla, and B. A. Dunckel. 1971. Growth rates and fermentation patterns of lactic acid bacteria associated with sauerkraut fermentation. *J. Milk Food Technol.* 34:521-525.
- Vaughn, R. H. 1954. Lactic acid fermentation of cucumbers, sauerkraut and olives, Volume II, chap. 11. In L. A. Underkofler and R. J. Hickey (eds.), *Industrial fermentations*. Chemical Publishing Co., Inc., New York.
- Vaughn, R. H. 1973. Lactic acid fermentation of olives with special reference to California conditions. In J. G. Carr et al. (eds.), *Lactic acid bacteria in beverages and food*. 1975. Academic Press, Inc., New York.
- Vaughn, R. H., H. C. Douglas, and J. R. Gililand. 1943. Production of Spanish-type green olives. *Calif. Agr. Exp. Stn. Bull.* 678.
- Walter, W. M., Jr., H. P. Fleming, and J. L. Etchells. 1973. Preparation of antimicrobial compounds by hydrolysis of oleuropein from green olives. *Appl. Microbiol.* 26:773-776.

Productos lácteos fermentados

- Collins, E. B. 1972. Biosynthesis of flavor compounds by microorganisms. *J. Dairy Sci.* 55:1022-1028.
- Foster, E. M., F. E. Nelson, M. L. Speck, R. D. Doetsch, and J. C. Olson, Jr. 1957. *Dairy microbiology*. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J.
- Gilliland, S. E. 1972. Flavor intensification with concentrated cultures. *J. Dairy Sci.* 55:1028-1031.
- Gilliland, S. E. (ed.). 1985. *Bacterial starter cultures for foods*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla.
- Harper, W. J. 1959. Chemistry of cheese flavors. *J. Dairy Sci.* 42:207-213.
- Hettinga, D. H., and G. W. Reinbold. 1972a. The propionic acid bacteria: a review. I. Growth. *J. Milk Food Technol.* 35:295-302.
- Hettinga, D. H., and G. W. Reinbold. 1972b. The propionic acid bacteria: a review. II. Metabolism. *J. Milk Food Technol.* 35:358-373.
- Hettinga, D. H., and G. W. Reinbold. 1972c. The propionic acid bacteria: a review. III. Miscellaneous metabolic activities. *J. Milk Food Technol.* 35:436-448.
- Hettinga, D. H., and G. W. Reinbold. 1975. Split defect of Swiss cheese. II. Effect of low temperatures on the metabolic activity of *Propionibacterium*. *J. Milk Food Technol.* 38:31-35.
- Hettinga, D. H., G. W. Reinbold, and E. R. Vedamuthu. 1974. Split defect of Swiss cheese. I. Effect of strain of *Propionibacterium* and wrapping material. *J. Milk Food Technol.* 37:322-328.
- Jensen, J. P., G. W. Reinbold, C. J. Washam, and E. R. Vedamuthu. 1975a. Role of enterococci in cheddar cheese: proteolytic activity and lactic acid development. *J. Milk Food Technol.* 38:3-8.
- Jensen, J. P., G. W. Reinbold, C. J. Washam, and E. R. Vedamuthu. 1975b. Role of enterococci in cheddar cheese: free fatty acid appearance and citric acid utilization. *J. Milk Food Technol.* 38:78-84.
- Jensen, J. P., G. W. Reinbold, C. J. Washam, and E. R. Vedamuthu. 1975c. Role of enterococci in cheddar cheese: organoleptic considerations. *J. Milk Food Technol.* 38:142-146.
- Kosikowski, F. V. 1973. New developments in milk and cheese fermentation processes. 8th Ann. Symp. N.Y. State Agr. Exp. Stn., Spec. Rep. 16, April 1974.
- Langsrud, T., and G. W. Reinbold. 1973a. Flavor development and microbiology of Swiss cheese: a review. I. Milk quality and treatments. *J. Milk Food Technol.* 36:487-491.
- Langsrud, T., and G. W. Reinbold. 1973b. Flavor development and microbiology of Swiss cheese: a review. II. Starters, manufacturing processes and procedures. *J. Milk Food Technol.* 36:531-543.
- Langsrud, T., and G. W. Reinbold. 1973c. Flavor development and microbiology of Swiss cheese: a review. III. Ripening and flavor production. *J. Milk Food Technol.* 36:593-610.
- Langsrud, T., and G. W. Reinbold. 1974. Flavor development and microbiology of Swiss cheese: a review. IV. Defects. *J. Milk Food Technol.* 37:26-42.
- Law, A. B. 1982. Cheeses. In A. H. Rose (ed.), *Fermented foods*. Volume 7. Academic Press, Inc., New York.

- Marth, E. H. 1963. Microbiological and chemical aspects of Cheddar cheese ripening: a review. *J. Dairy Sci.* 46:869-890.
- Marth, E. H. 1982. Cheese. In G. Reed (ed.), Prescott and Dunn's industrial microbiology. AVI Publishing Co., Inc. Westport, Conn.
- Price, W. V., and M. G. Bush. 1974a. The process cheese industry in the United States: a review. I. Industrial growth and problems. *J. Milk Food Technol.* 37:135-153.
- Price, W. V., and M. G. Bush. 1974b. The process cheese industry in the United States: a review. II. Research and development. *J. Milk Food Technol.* 37:179-199.
- Sandine, W. E., C. Daly, and P. R. Elliker. 1973. Causes and control of culture-related flavor defects in cultured dairy products. *J. Dairy Sci.* 55:1031-1039.
- Sandine, W. E., P. C. Radich, and P. R. Elliker. 1972. Ecology of the lactic streptococci. *J. Milk Food Technol.* 35:176-185.
- Speck, M. L. 1972. Control of food-borne pathogens by starter cultures. *J. Dairy Sci.* 55:1019-1023.
- Vedamuthu, E. R. 1982. Fermented milks. In A. H. Rose (ed.), Fermented foods. Volume 7. Academic Press, Inc., New York.

Varios

- Allen, O. N., and E. K. Allen. 1933. The manufacture of poi from taro in Hawaii. *Hawaii Agr. Exp. Stn. Bull.* 70.
- Camargo, R. de, J. Leme, Jr., and A. F. Martinelli. 1963. General observations on the microflora of fermenting cocoa beans (*Theobroma cacao*) in Bahia (Brazil). *Food Technol.* 17:1328-1330.
- Djien, K. S., and C. W. Hesseltine. 1961. Indonesian fermented foods. *Soybean Dig.* November, pp. 14-15.
- Domercq, Simone. 1957. Étude et classification des levures de vin de la Gironde. *Annu. Inst. Natl. Rech. Agron. Ser. E Annu. Technol. Agr.* 6:5-58.
- Fell, G. 1961. Étude sur la fermentation malolactique du vin et les possibilités de la provoquer par ensementement. *Landw. Jahrb. Schweiz.* 10:249-264.
- Hesseltine, C. W. 1961. Research at Northern Regional Research Laboratory on fermented foods. Proceedings of the Conference on Soybean Products for Protein in Human Foods. USDA Agr. Res. Serv.
- Hesseltine, C. W., M. Smith, and H. L. Wang. 1967. New fermented cereal products. *Dev. Ind. Microbiol.* 8:179-195.
- Hoynak, S., T. S. Polansky, and R. W. Stone. 1941. Microbiological studies of cacao fermentation. *Food Res.* 6:471-479.
- Mukherjee, S. K., M. N. Albury, C. S. Pederson, A. G. van Veen, and K. H. Steinkraus. 1965. Role of *Leuconostoc mesenteroides* in leavening the batter of idli, a fermented food of India. *Appl. Microbiol.* 13:227-231.
- Palo, M. A., L. Vidal-Adeva, and L. M. Maceda. 1962. A study of ang-kak and its production. *Philipp. J. Sci.* 89:1-22.
- Pederson, C. S., and R. S. Breed. 1946. Fermentation of coffee. *Food Res.* 11:99-106.
- Martinelli, A. F., and C. W. Hesseltine. 1964. Tempeh fermentation: package and tray fermentations. *Food Technol.* 18:761-765.
- Rusmin, S., and S. D. Ko. 1974. Rice-grown *Rhizopus oligosporus* inoculum for tempeh fermentation. *Appl. Microbiol.* 28:347-350.

- Sakaguchi, K. 1959. Studies on the activities of bacteria in soy sauce brewing. V. The effects of *Aspergillus soyae*, *Pediococcus soyae*, *Bacillus subtilis* and *Saccharomyces rouxii* in purely cultured soy sauce brewing. Rep. Noda Inst. Sci. Res. 3:23-29.
- Steinkraus, K. H. 1974. Research on traditional oriental and Indian fermented foods. 8th Annu. Symp. N.Y. State Agr. Exp. Stn., Spec. Rep. 16. April 1974.
- Steinkraus, K. H., Y. B. Hwa, J. P. Van Buren, M. I. Provvidenti, and D. B. Hand. 1960. Studies on tempeh: an Indonesian fermentation soybean food. Food Res. 25:777-788.
- Steinkraus, K. H., J. P. Van Buren, L. R. Hackler, and D. B. Hand. 1965. Pilot-plant process for the production of dehydrated tempeh. Food Technol. 19:63-69.
- Van Veen, A. G. 1965. Fermented and dried seafood products in Southeast Asia. In Fish as food, chap. 8. Academic Press, Inc., New York.
- Wang, H. L., L. Kraidej, and C. W. Hesseltine. 1974. Lactic acid fermentation of soybean milk. J. Milk Food Technol. 37:71-74.
- Wang, H. L., E. W. Swain, and C. W. Hesseltine. 1975. Mass production of *Rhizopus oligosporus* spores. J. Food Sci. 40:168-170.
- Yokotsuka, T. 1960. Aroma and flavor of Japanese soy sauce. Adv. Food Res. 10:75-134.

Alimentos y enzimas de origen microbiano

Los microorganismos se pueden utilizar como alimento para las personas o como pienso para los animales, pueden ser fuente de enzimas que se utilizan para tratar los alimentos, y pueden elaborar sustancias que se añaden a los alimentos.

LOS MICROORGANISMOS COMO ALIMENTO: PROTEINA UNICELULAR

A pesar de que se han aconsejado varias especies de microorganismos para ser consumidas por el hombre, entre las que se incluyen levaduras, mohos y algas, hasta la fecha solamente las levaduras se han utilizado como alimento hasta cierto punto, y en todo caso en circunstancias no habituales. Durante la Segunda Guerra Mundial, época en la que escaseaban en la dieta las proteínas y las vitaminas, los alemanes produjeron en cierta escala levaduras y un moho (*Geotrichum candidum*) para ser utilizados como alimento. En la época posterior a la citada guerra, los ingleses crearon una factoría en Jamaica para producir levaduras destinadas al consumo humano. Se informa de que en la actualidad existen en funcionamiento plantas industriales que producen levaduras destinadas tanto a la alimentación humana como a la alimentación animal, en Alemania, en Suiza, en Finlandia, en la Unión Surafricana, en Jamaica, en Formosa, y en los Estados Unidos. La producción de este tipo de alimentos tiene interés en aquellas zonas en las que existen

abundantes provisiones de hidratos de carbono baratos y escasez de proteínas y de vitaminas. En tiempos pasados, la mayor parte de la levadura que se utilizaba en los Estados Unidos con fines alimenticios o farmacéuticos era recuperada por los fabricantes de cerveza y por los fabricantes de licores destilados después de la fermentación alcohólica, pero en la actualidad cada vez se están cultivando mayores cantidades de levaduras para ser utilizadas directamente con estas finalidades. Los microorganismos se pueden denominar primarios cuando se cultivan directamente para la finalidad que se persigue, y secundarios cuando se obtienen como subproductos de una fermentación. Las levaduras secundarias obtenidas como subproducto de una fermentación alcohólica son cepas de las especies de levaduras de los fabricantes de cerveza, *Saccharomyces cerevisiae* o *S. carlsbergensis*, o de la levadura de los destiladores, *S. cerevisiae* var. *ellipsoideus*. A la levadura de los fabricantes de cerveza se le quita el sabor amargo lavándola con una solución de sosa cáustica y agua, se ajusta su pH a 5,5 con ácido fosfórico, se le añade sal, y se deseca, generalmente en un desecador de tambor. Antes de proceder a su desecación, se puede reforzar añadiéndole tiamina, riboflavina y niacina. Se puede obtener un tipo de levadura primaria cultivando durante algunas generaciones, en un medio de melaza o en un medio parecido, células obtenidas de fábricas de cerveza o de destilerías. De hecho, el consumo de «tortas de levaduras» que contienen células viables puede dar como resultado levaduras que se alimentan de vitaminas. Un suplemento nutritivo mejor sería un producto «muerto» como es la proteína unicelular de las levaduras.

La expresión proteína unicelular (SCP)* está admitida de forma universal para designar a las células microbianas (primarias) cultivadas y cosechadas para ser destinadas a la alimentación de los animales o de las personas. Al parecer, las denominaciones proteína bacteriana, proteína de las algas, y proteína microbiana son menos atractivas que el término proteína unicelular. La investigación sobre la SCP ha experimentado un impulso en vistas de la consiguiente crisis o escasez de alimentos que sobrevendrá si no se controla la población mundial. Muchos científicos creen que la utilización de las fermentaciones microbianas y el desarrollo de una actividad para producir y suministrar SCP son posibles soluciones para afrontar la escasez de proteínas siempre y cuando la cantidad de proteína producida u obtenida por la agricultura y por la pesca sean insuficientes. Los estudiantes que necesiten más información sobre este tema deben empezar por consultar la bibliografía que figura al final de este capítulo.

Las ventajas más palpables del empleo de la SCP incluyen (1) la posibilidad de utilizar alimentos que no consume el hombre como sustrato para producir SCP, (2) el elevado contenido de proteína propio de los microorganismos—con relación al peso de la célula microbiana desecada, su contenido proteico podría ser del orden del 60 al 70 por cien, (3) el rápido aumento del número de células microbianas (proteína) como consecuencia de que su tiempo de generación es extraordi-

*SCP = single-cell protein.

Tabla 23.1. Algunos procedimientos de fabricación de SCP.

Tipo	Compañía	Ubicación de la planta	Sustrato	Tipo de microorganismos	Tamaño de la planta miles de toneladas/año
Piensos	British Petroleum	Reino Unido	<i>n</i> -Parafina	Levaduras	4
	Chinese Petroleum	Taiwan	<i>n</i> -Parafina	Levaduras	1
	Dai Nippon	Japón	<i>n</i> -Parafina	Levaduras	?
	ICI	Reino Unido	Metanol	Bacterias	1
	Kanegafuchi	Japón	<i>n</i> -Parafina	Levaduras	5
	Kohjin	Japón	?	Levaduras	2,4
	Kyowa Hakko	Japón	<i>n</i> -Parafina	Levaduras	1,5
	Milbrew	EE.UU.	Suero de queso, mosto de cerveza	Levaduras	10
	Shell	Holanda	Metano	Bacterias	1
	Svenska-Socker	Suecia	Almidón de patata	Levaduras	2
	British Petroleum	Francia	Gasóleo	Levaduras	20
	United Paper Mills	Finlandia	Residuos de sulfitos	Levaduras	10
	URSS	URSS	?	Levaduras	20
	British Petroleum	Italia	<i>n</i> -Parafina	Levaduras	100
	Liquichimica	Italia	<i>n</i> -Parafina	Levaduras	100
	LSU-Bechtel		Residuos de celulosa	Bacterias	
	Tate & Lyle		Residuos de ácido cítrico	Hongos	
	ICAITI	Guatemala	Residuos de café	Hongos	
	IFP		CO ₂ , luz solar	Algas	
	General Electric		Residuos de la fabrica de piensos	Bacterias	
Mitsubishi		Metanol	Levaduras		
Finnish Pulp and Paper		Residuos de pasta de papel	Hongos		
Alimentos	AMOCO	EE.UU.	Etanol	Levaduras	7,5
	Boise Cascade	EE.UU.	Residuos de sulfitos	Levaduras	6
	St. Regis Paper	EE.UU.	Residuos de sulfitos	Levaduras	5
	Slovnaft-Kojetin	Checoslovaquia	Etanol	Levaduras	1
	Exxon-Nestlé		Etanol	Bacterias	
Dai-Nippon		Melaza	Levaduras		

(continúa)

Tabla 23.1. (Continuación).

Tipo	Compañía	Ubicación de la planta	Sustrato	Tipo de microorganismos	Tamaño de la planta miles de toneladas/año
Alimentos	RHM-Dupont Kraft Co.		Almidón Suero de queso	Hongos Levaduras	
	Anheuser-Busch	EE.UU.	Mosto de cerveza	Levaduras	5
	Yeast Products, Inc.	EE.UU.	Mosto de cerveza	Levaduras	

Fuente: Miller y Litsky (1976) y otras fuentes.

nariamente corto, y (4) la no dependencia del proceso de producción de SCP de las condiciones climáticas. La Tabla 23.1 resume muchos de los sistemas de producción de SCP que actualmente se utilizan o que se están experimentando. Muchos de estos sistemas están ideados para producir una SCP para ser utilizada en los alimentos destinados a los animales (escalón de piensos) y algunos de ellos están ideados para producir SCP para ser utilizada en los alimentos destinados al consumo humano (escalón de alimentos de consumo humano).

Microorganismos utilizados

Según se indica en la Tabla 23.1, para producir SCP se pueden utilizar diferentes levaduras, bacterias, hongos y algas. En cultivos en estanques o represas, se han utilizado dos especies de algas, *Scenedesmus acutus* (267-3A) y *Spirulina maxima*. Es posible que su utilización esté algo restringida en dos aspectos: (1) en el aspecto geográfico, ya que necesitan temperaturas cálidas y abundante luz solar además de dióxido de carbono, y (2) en el aspecto nutritivo, ya que su pared celular no es digestible. La especie *S. maxima* se está cultivando a escala comercial en el lago Texcoco, en Méjico. Posiblemente las bacterias útiles incluyan especies de *Pseudomonas* (utilizadas en el sistema del Reino Unido y en el que emplea la Chinese Petroleum Corp., de Taiwan), especies de *Alcaligenes* (utilizan el H₂ y el CO₂), y especies de *Cellulomonas* (que escinden la celulosa). Las bacterias son capaces de multiplicarse en diversos sustratos, su tiempo de generación es corto, y contienen un elevado porcentaje de proteína. Su utilización está algo restringida (1) por la escasa aceptación general que tienen las bacterias para ser utilizadas como alimento, (2) por su pequeño tamaño y por la dificultad que entraña su obtención, y (3) por su elevado contenido de ácido nucleico en relación con su peso seco (véase el epígrafe **Valor nutritivo y utilización de la SCP**). Las levaduras probablemente sean los microorganismos más apropiados y más utilizados para producir SCP. Entre las levaduras que se utilizan con esta finalidad

se incluyen cepas de *Candida utilis* (levadura torula), la cual se multiplica rápidamente, utiliza tanto las pentosas como las hexosas, y sintetiza sus propios factores accesorios de crecimiento a partir de compuestos sencillos, que hacen posible su producción a partir de materias primas que son medios de cultivo relativamente pobres. La especie *S. cerevisiae*, en cambio, sólo utiliza las hexosas y, por otra parte, es más exigente en cuanto a necesidades nutritivas. Se han utilizado dos variedades especiales de *Candida utilis*: *C. utilis* var. *major*, cuyas células son de mayor tamaño que las de la cepa originaria, y *C. utilis* var. *thermophila*, una cepa que se multiplica a elevadas temperaturas que puede ser cultivada a temperaturas comprendidas entre 36 y 39°C, mejor que a temperaturas comprendidas entre 32 y 34°C. También se han utilizado *C. arborea* (*Monilia candida*), *C. pulcherrima* y otras levaduras. Si es preciso cultivar las levaduras en suero de queso, se deben utilizar cepas que fermenten la lactosa. Las cepas de *C. lipolytica* se han utilizado en los sistemas en los que se emplean alcanos y gasóleo como sustratos. Por regla general, las levaduras tienen varias ventajas tanto sobre las bacterias como sobre las algas; estas ventajas son las siguientes: (1) mejor aceptación general, (2) menor contenido de ácido nucleico, (3) obtención más fácil como consecuencia de su tamaño y concentración, y (4) crecimiento en sustratos de bajo pH.

En otras investigaciones sobre la producción de SCP se han utilizado levaduras de los géneros *Rhodotorula* y *Saccharomyces* y hongos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, y *Fusarium*.

Materias primas que se utilizan como sustratos

Las materias primas que se han utilizado incluyen (1) melaza de la fabricación de azúcar o de la hidrólisis del almidón, (2) solución de sulfito, que es un producto residual del tratamiento de la pasta de madera en la industria papelera, (3) hidrolizado ácido de madera, (4) desperdicios agrícolas, por ejemplo el suero de queso* de la industria láctea, alimentos amiláceos hidrolizados, por ejemplo granos de cereales y patatas de destrío, y residuos de frutas, por ejemplo zumo de frutas o hidrolizado de corteza de limón, (5) metano, (6) metanol y etano, como fuentes de carbono para las levaduras, (7) parafina o alcanos, (8) gasóleo, fracción del petróleo que destila entre el aceite lubricante y el combustible diesel, y (9) gas de combustión, fuente de dióxido de carbono para los cultivos de algas.

Condiciones de crecimiento y producción

Como quiera que se están utilizando o experimentando numerosos sistemas, esta revisión se limitará a la utilización de levaduras en las materias primas que

* N. del T.: El suero lácteo o suero de queso («whey») es un subproducto que se obtiene en la fabricación de productos lácteos tales como el requesón y el queso.

corrientemente se emplean. Generalmente, las levaduras se producen mediante un sistema continuo que requiere (1) la creación de una multiplicación activa de levaduras en el fermentador, (2) el aporte de hidratos de carbono y de fuentes de nitrógeno, de fósforo y de potasio a un ritmo creciente hasta que se mantiene de forma continua un nivel máximo de multiplicación de las levaduras, (3) la aplicación de aireación y agitación, y (4) separación del líquido (caso de la cerveza) que contiene las células de levaduras a un ritmo y en un volumen que igualen las cantidades de medio fresco que se añaden.

Las condiciones óptimas para producir levaduras dependen tanto de la especie de levadura como de la materia prima que se utilizan. La aireación debe ser considerable, aunque a un nivel óptimo; una ventilación demasiado escasa favorece la producción de alcohol más que la multiplicación de las levaduras, mientras que una aireación excesiva favorece el aumento de la respiración y la producción de calor y, por consiguiente, la disminución de la producción de células de levadura. La temperatura óptima depende de la cepa de levadura. El pH se debe mantener en la banda de la acidez, generalmente entre los valores 4,5 y 6,0. La concentración de azúcares fermentescibles se mantiene a un nivel no superior al necesario para obtener un buen rendimiento de células. Tanto la cantidad como la clase de nutrientes inorgánicos a añadir dependen del sustrato que se utilice. La melaza de caña azucarera o la de remolacha azucarera, por ejemplo, suelen ser ricas en potasio y suelen contener cantidades bastantes elevadas de fósforo y de nitrógeno utilizables, pero la solución de sulfito carece de estos tres elementos, los cuales son necesarios en cantidades relativamente importantes. El nitrógeno se suele añadir en forma de amoníaco o de sales amónicas.

En relación con el azúcar aportado al medio, los rendimientos son de un 45 por cien o más de levadura seca. Las células de levadura se obtienen centrifugando el medio, se lavan, se concentran y se desecan. Todas las levaduras que se utilizan como alimento se inactivan antes de utilizarlas.

Antes de que algunas materias primas se puedan utilizar para cultivar levaduras es necesario someterlas a un tratamiento previo. La mayor parte del dióxido de azufre debe ser eliminado de las soluciones de sulfito mediante lavado con vapor de agua o mediante aireación y tratamiento con cal. La solución tratada sigue siendo un medio bastante selectivo para estimular más la multiplicación de las levaduras que la de los microorganismos competitivos, de forma que los problemas de contaminación son insignificantes durante un largo período de producción continua de levaduras. De igual forma, el hidrolizado de madera también requiere un tratamiento previo.

Valor nutritivo y utilización de la SCP

El valor nutritivo de la SCP depende del microorganismo utilizado para obtenerla. En los distintos cultivos ensayados, los valores correspondientes a la digestibilidad de la proteína, expresados en porcentajes, oscilan entre el 65 y el 96.

Los valores del cociente de eficacia de la proteína (PER) oscilan desde 0,6 a 2,6. El sistema de obtención de los microorganismos, su desecación, y los distintos tratamientos a que se someten, influyen en el valor nutritivo del producto acabado. Las levaduras que se utilizan como alimento¹ son ricas en proteínas y en la mayoría de las vitaminas del complejo B, aunque es posible que carezcan de metionina y tal vez de cisteína. Asimismo, es posible que el contenido de tiamina sea inferior al de las levaduras secundarias, y carecen de vitamina B₁₂. Las levaduras que se utilizan como alimento aportan cantidades variables de tiamina, riboflavina, biotina, niacina, ácido pantoténico, piridoxina, colina, estreptogenina, glutatión y, tal vez, ácido fólico y ácido p-aminobenzoico.

El United Nations Protein Advisory Group² ha resumido los principales inconvenientes de la utilización de la SCP en la alimentación humana de la forma siguiente: (1) elevada concentración de ácidos nucleicos (del 6 al 11 por cien) que eleva la concentración de ácido úrico en el suero y origina la formación de cálculos renales o la presentación de gota, (2) posible aparición de reacciones cutáneas como consecuencia del consumo de proteínas extrañas, (3) posible transporte de factores cancerígenos procedentes de diversas sustancias, y (4) posible presentación de reacciones gastrointestinales que producen náuseas y vómitos.

GRASAS DE ORIGEN MICROBIANO

Las grasas (designadas con mayor propiedad con la denominación de lípidos) son sintetizadas en cantidades estimables por ciertas levaduras, por microorganismos levaduriformes, y por mohos, aunque este sistema de obtención sólo se ha empleado durante épocas de necesidad urgente, por ejemplo, en caso de estado de guerra, en el que no se dispone de la cantidad suficiente de lípidos, tanto de origen animal como de origen vegetal, más baratos y de más fácil obtención.

Microorganismos utilizados

Entre las levaduras, se han investigado por su producción de grasa, *Candida pulcherrima*, *Torulopsis lipofera*, *Saccharomyces cerevisiae*, y *Rhodotorula glutinis*, habiéndose utilizado con esta finalidad la primera de estas especies en Alemania y en Suecia durante la Segunda Guerra Mundial. El microorganismo levaduriforme *Trichosporon pullulans* fue utilizado por los alemanes durante la Primera Guerra Mundial, lo mismo que también utilizaron varias cepas del moho *Geotrichum candidum*.

¹ N. del T.: Levaduras primarias, es decir, obtenidas mediante cultivo de determinadas especies con el fin de utilizarlas directamente en alimentación.

² Consejo Consultivo sobre Proteínas de las Naciones Unidas.

Materias primas

Los medios que se utilizan para producir grasas deben tener, en general, un elevado cociente carbono/nitrógeno, abundantes fosfatos, y para la mayoría de los microorganismos un pH ácido. En la producción de grasa utilizando la especie *Trichosporon pullulans*, primeramente se obtiene un abundante crecimiento en una masa con un cociente nitrógeno/carbono elevado, y después se obtiene la grasa en un medio cuyo cociente carbono/nitrógeno es elevado. Entre las fuentes de hidratos de carbono que se utilizan, se encuentran los residuos de celulosa, la madera hidrolizada, y las soluciones de sulfito que se desperdician en la fabricación de papel. En la materia prima el nitrógeno se puede encontrar en forma de sales amónicas, de orina, de agua de levadura, de aguas de lavado de la melaza, o de extractos de granos de cereales. Las sales que es preciso añadir a la materia prima son: cloruro potásico, fosfato monopotásico, y sulfato de magnesio. Si se le añaden pequeñas cantidades de alcohol o de acetato sódico aumenta la producción de lípidos. La elección de una determinada levadura dependerá de su capacidad para utilizar tanto las pentosas como las hexosas o de que sólo sea capaz de utilizar las últimas. La especie *Geotrichum candidum* es capaz de utilizar la lactosa del suero lácteo, al cual también se le pueden añadir nutriente nitrogenado y sales minerales.

Producción de grasa

Como quiera que todos los microorganismos antes citados crecen mejor en aerobiosis, su cultivo con el fin de producir grasa se llevó a cabo en capa fina en bandejas o en otras superficies planas cuando se utilizó *Trichosporon pullulans* o un moho, y en tanques bien aireados cuando las levaduras se cultivaron sumergidas. La temperatura óptima varía según el microorganismo que se utilice, oscilando desde los 15 a los 20°C para *T. pullulans* hasta los 25 a 30°C, o temperaturas ligeramente superiores, para los mohos y para las levaduras. Para que la mayoría de los microorganismos citados alcancen la máxima producción de grasa es necesario que transcurra bastante tiempo. *T. pullulans*, por ejemplo, necesita de 2 a 3 días para conseguir crecer y de 6 a 8 días más para producir la máxima cantidad de lípidos. La cantidad de lípidos producidos varía mucho según los microorganismos y los sistemas de producción que se utilicen. La obtención de los lípidos se realiza mediante extracción de los mismos con disolventes, con o sin autólisis de los microorganismos.

PRODUCCION DE AMINOACIDOS

Las fermentaciones industriales para producir glutamatos se han perfeccionado rápidamente como consecuencia de que se admite que el glutamato monosó-

dico (MSG)* es un importante aditivo que intensifica el sabor de los alimentos. La producción anual de glutamato se aproxima a las 200.000 toneladas. Las cepas que se utilizan, pertenecientes a los géneros *Corynebacterium*, *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, o la especie *Micrococcus glutamicus* (*Corynebacterium glutamicus*), carecen de α -cetoglutarato-deshidrogenasa, enzima del ciclo de Krebs responsable de la conversión del α -cetoglutarato en succinil-CoA. El glutamato se acumula porque el cetoglutarato en presencia de amoníaco es desviado a glutamato vía transaminación. La fermentación industrial para producir lisina es también una industria importante. Muchos productos, sobre todo los productos derivados de cereales, son pobres en este aminoácido indispensable. En la industria alimentaria se emplea principalmente para reforzar los productos cuyo contenido de lisina es escaso. Se han ideado otras fermentaciones para obtener los siguientes aminoácidos: ácido aspártico, treonina, isoleucina, fenilalanina, prolina, triptófano, valina, homoserina, ornitina, leucina, arginina, histidina y tirosina.

PRODUCCION DE OTRAS SUSTANCIAS QUE SE INCORPORAN A LOS ALIMENTOS

Se pueden emplear microorganismos para producir dextrano, xantano, ácido láctico y ácido cítrico, y tal vez para producir otras sustancias que se añaden a los alimentos.

Dextrano y xantano

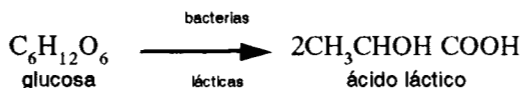
El dextrano, un polisacárido del grupo de las gomas, es un glucano neutro producido por *Leuconostoc mesenteroides* a partir de la melaza o de un medio que contenga sacarosa refinada; se utiliza como estabilizador en los jarabes azucarados, en los helados, y en los dulces y como expansor del plasma. La producción industrial de dextrano a partir de la sacarosa o de un medio rico en sacarosa es posible con filtrados que no contienen células, ya que el enzima responsable de la polimerización es un enzima extracelular. El xantano es un hidropolisacárido poliónico producido por *Xanthomonas campestris* cuando esta especie crece en un medio que contiene glucosa. En la industria alimentaria tiene muchas posibles aplicaciones, sobre todo como estabilizador. El xantano se diferencia del dextrano en que no es hidrolizado ni degradado por los seres humanos y tampoco por los animales y, por lo tanto, es excretado intacto.

Acido láctico

Generalmente, el ácido láctico se produce a escala industrial mediante bacterias lácticas homofermentativas o mediante bacterias parecidas a las mismas. La

*MSG = monosodium glutamate.

ecuación química simplificada de la producción de ácido láctico a partir de la glucosa por estos microorganismos es



En realidad, la reacción tiene lugar en varias etapas y se producen pequeñas cantidades de otras sustancias. Se ha calculado que el ácido láctico comestible representa aproximadamente la mitad del ácido láctico que se produce industrialmente por fermentación.

Microorganismos utilizados. El microorganismo que se utiliza en cada caso depende de la materia prima a fermentar. En épocas pasadas, *Lactobacillus delbrueckii* fue el microorganismo más utilizado para producir ácido láctico a partir de la glucosa, de la maltosa, o de la sacarosa, aunque se está utilizando cada vez más una bacteria del agriado plano como es *Bacillus coagulans*. Para producir ácido láctico a partir del suero lácteo se ha seleccionado *Lactobacillus delbrueckii* subesp. *bulgaricus*. Se ha aconsejado utilizar la especie *L. pentosus* (*L. plantarum*), que fermenta la pentosa, en la solución residual de sulfito de la fabricación de papel, y *L. brevis* (*L. pentoaceticus*) en los hidrolizados de zuros de maíz, de envolturas de semillas de algodón, etc. Algunos mohos, como por ejemplo *Rhizopus oryzae* se ha utilizado experimentalmente para producir ácido láctico en un medio que contiene glucosa y sales minerales.

Materias primas. En la fabricación de ácido láctico por fermentación, es conveniente empezar con un medio o masa relativamente simple con el fin de facilitar la recuperación del producto. Cuando la glucosa, la sacarosa, o la maltosa son los hidratos de carbono a fermentar, como ocurre en la melaza o en las masas de hidrolizado de almidón, se suele emplear *Lactobacillus delbrueckii* o un bacilo de los que producen el agriado plano. Los nutrientes nitrogenados, las sales minerales, y varios factores de crecimiento que necesitan las bacterias, se pueden añadir al medio en forma de germen de malta, de aguas de maceración del maíz, de leche, etc. A la solución de sulfito residual de la fabricación de papel, se le deben añadir sustancias parecidas para favorecer el crecimiento de *L. plantarum*. También se ha producido ácido láctico a escala industrial a partir del suero lácteo utilizando *L. delbrueckii* subesp. *bulgaricus*. Otras materias primas que han sido propuestas para ser utilizadas son las frutas de desecho, las patatas, la melaza, el jugo de remolacha, los hidrolizados de materiales amiláceos, por ejemplo, de patatas o de granos de cereales, y también los hidrolizados de zuros de maíz, los tallos de maíz, las envolturas de las semillas de algodón, y la paja.

Producción de ácido láctico. Una vez sometida la masa a tratamiento térmico, se mantiene a una temperatura favorable para el microorganismo con el cual se siembra: unos 45°C para *L. delbrueckii*, de 45 a 50°C para *L. delbrueckii*

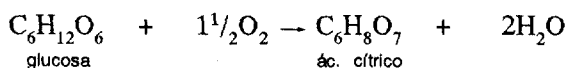
subesp. *bulgaricus* o para *Bacillus coagulans*, y 30°C para *L. plantarum*. El porcentaje óptimo de azúcar de la masa variará entre el 5 y el 20 por cien, según la materia prima y el microorganismo que se utilicen en la fermentación. En la masa se mantiene anaerobiosis. El pH se mantiene ligeramente ácido, neutralizándose el ácido láctico conforme se va produciendo, y añadiendo de vez en cuando a la masa hidróxido cálcico o carbonato cálcico a lo largo de los varios días que dura la fermentación. El lactato cálcico se puede hacer cristalizar como tal o se puede convertir en ácido láctico mediante la adición de ácido sulfúrico. El ácido láctico comestible es preciso que sea bastante más puro que el que se emplea en aplicaciones técnicas.

Aplicaciones del ácido láctico comestible. En las industrias alimentarias, el ácido láctico se emplea para acidificar las conservas de frutas, las gelatinas, los dulces, los sorbetes, las bebidas no alcohólicas, los extractos y otros alimentos. Se añade a las salmueras de los encurtidos y de las aceitunas y también al rábano picante y al pescado para contribuir a que se conserven. Su adición a la leche la hace más digestible por parte de los niños. El lactato cálcico es un ingrediente de algunas levaduras químicas.

Acido cítrico

En los Estados Unidos, la mayor parte del ácido cítrico se produce por fermentación.

Microorganismos utilizados. *Aspergillus niger* es el principal moho que se utiliza para producir ácido cítrico, aunque se sabe que existen otros varios mohos capaces de producir este ácido y de aquí que algunos hayan sido ensayados experimentalmente: tales son los mohos de las especies *A. clavatus*, *A. wentii*, *Penicillium luteum*, *P. citrinum*, *Mucor pyriformis*, y otros. Parece ser que a diferencia de lo que sucede en los procedimientos de fermentación por crecimiento en profundidad, en los procedimientos de producción de ácido cítrico mediante fermentación superficial, es preferible utilizar las diferentes cepas de *A. niger*. La reacción química teórica, simplificada, de la producción de ácido cítrico a partir de la glucosa es la siguiente:



En la producción de ácido cítrico intervienen otras reacciones intermedias, y se producen otras sustancias.

Materias primas. La mayor parte del ácido cítrico que se fabrica se obtiene a partir de las melazas, prefiriéndose para ello la melaza de la remolacha azucarera a la de la caña azucarera. En su fabricación también se ha ensayado la utilización

de la melaza negra y de la melaza invertida de la caña azucarera, y también de soluciones de glucosa o sacarosa a las que se les añaden fuentes de nitrógeno y de sales minerales. La fuente de nitrógeno suele ser algún compuesto sencillo, como por ejemplo sales de amonio o urea. La concentración de iones minerales, sobre todo por lo que se refiere a los iones de hierro, zinc, y manganeso, es muy importante para obtener buenos rendimientos. Una ligera escasez de nutrientes nitrogenados y de fosfatos también favorece la producción. Por consiguiente, parece ser que todos aquellos factores que tienden a reducir la formación de micelio por debajo del máximo incrementan la producción de ácido cítrico. Las condiciones que favorecen la producción de ácido cítrico tienden a inhibir la formación de ácido oxálico.

Producción de ácido cítrico. El antiguo procedimiento de fabricación de ácido cítrico consistía en el cultivo en superficie del moho utilizado para producirlo; el micelio del moho se cultivaba en capas de poco espesor del medio de cultivo dispuesto en bandejas o en otros recipientes parecidos. Los procedimientos modernos suponen la utilización del crecimiento en inmersión del micelio. Nuevamente se debe advertir que tanto la cepa de moho elegida como el medio que se emplea para producir ácido cítrico son distintos según el procedimiento de cultivo que se utilice. En la mayoría de los procedimientos se utiliza una concentración de azúcar comprendida entre el 14 y el 20 por cien, un pH bastante bajo, que es más ácido en el procedimiento de cultivo en superficie, y una temperatura en torno a los 25 a 30°C y un período de fermentación de 7 a 10 días en el procedimiento de cultivo en superficie, mientras que en el procedimiento del cultivo en inmersión el período de fermentación es más corto.

Aplicaciones del ácido cítrico. En las industrias alimentarias, el ácido cítrico se añade a los extractos, a las bebidas no alcohólicas, y a los dulces para darles sabor. Se ha añadido al pescado para ajustar su pH a un valor en torno a 5,0 con el fin de favorecer su conservación, a las alcachofas para que el fabricante al enlatarlas pueda utilizar un tratamiento térmico de menor intensidad que el que necesitaría emplear si no lo añadiese, a la carne de cangrejo para evitar que cambie de color, a los aceites como sinérgico de los agentes antioxidantes, y también se añade en forma de solución a los melocotones troceados para retrasar el pardeamiento. Un elevado porcentaje del ácido cítrico que se produce se utiliza con fines medicinales.

PRODUCCION DE ENZIMAS

Los biocatalizadores de las proteínas, denominados **enzimas**, utilizados por la células vivas, son responsables de numerosas reacciones metabólicas celulares.

La utilización de los enzimas microbianos, si bien sólo hace poco tiempo que se conocen, ha ido progresando a lo largo de siglos. Como quiera que los microorganismos son responsables de las fermentaciones de la cerveza, del vino, del pan, del queso, y de varias hortalizas, todos estos procesos constituyen ejemplos de transformaciones mediadas por células o de aplicaciones de los enzimas.

La tecnología actual hace posible aislar, purificar, e incluso inmovilizar (unir a un determinado sustrato) el enzima específico que se necesita para la función deseada. En la Tabla 23.2 se indican varios enzimas que se utilizan en las industrias de alimentos fermentados y sus respectivas procedencias, y a continuación se hace un estudio de algunos de los grupos de enzimas más importantes.

Tabla 23.2. Enzimas microbianos, origen y aplicación.

Enzima	Origen	Industria	Aplicación	
Amilasa	<i>Aspergillus niger</i>	Panificación	Suplemento de harinas	
	<i>A. oryzae</i>	Fabricación de cerveza	Preparación de la masa	
	<i>Bacillus subtilis</i>	Alimentaria	Alimentos precocinados	
	<i>Rhizopus spp.</i> <i>Mucor rouxii</i>	Alimentaria	Elaboración de jarabes	
Celulasa	<i>A. niger</i> <i>Trichoderma viride</i>	Alimentaria	Preparación de concentrados líquidos de café	
Dextrano-sacarasa	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Alimentaria	Dextrano para diversos usos	
Glucosaoxidasa	<i>A. niger</i>	Alimentaria	Eliminación de la glucosa de los sólidos del huevo	
Invertasa	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Alimentaria	Miel artificial, impide la formación de gránulos en los bombones de centro blando	
Lactasa	<i>S. fragilis</i>	Láctea	Hidrólisis de la lactosa	
Lipasa	<i>A. niger</i> , <i>Mucor spp.</i> <i>Rhizopus spp.</i>	Láctea	Comunica sabor al queso	
	Pectinasa	<i>A. niger</i> , <i>Penicillium spp.</i> <i>Rhizopus spp.</i>	Alimentaria	Clarificación de vinos y de zumos de frutas
		Proteasa (proteínasa)	<i>A. oryzae</i>	Fabricación de cerveza
<i>B. subtilis</i> ,	Panificación		Pan	
<i>Mucor spp.</i> <i>Rhizopus spp.</i>	Alimentaria		Ablanda las carnes	
Enzimas parecidos a la renina	<i>M. miehei</i> , <i>M. pusillus</i>	Alimentaria	Cuajado de la leche para la fabricación de queso	

Fuente: Resumido de Porter (1974) y Underkofler (1976).

Amilasas

Las amilasas, enzimas que hidrolizan los almidones, según su forma de actuar sobre las moléculas de almidón, se clasifican en varios tipos. El almidón está compuesto de dos glucanos: la amilosa de cadena lineal, que contiene unidades de D-glucosa unidas por enlaces α -1,4, y la amilopectina ramificada que, además, contiene enlaces 1,6 en los puntos de ramificación. Las amilasas incluyen la α -amilasa, que hidroliza al azar los enlaces glucosídicos α -1,4 de la amilosa o de la amilopectina, pero no los enlaces glucosídicos 1,6 de la amilopectina; la β -amilasa, que escinde únicamente el segundo enlace glucosídico α -1,4 del extremo no reductor de las cadenas, separando a la vez de las mismas una molécula de maltosa y dejando finalmente dextrinas terminales; y la amiloglucosidasa, que hidroliza tanto los enlaces glucosídicos 1,6 como los 1,4, produciendo glucosa sin producir dextrinas intermedias ni maltosa. La maltasa o α -glucosidasa (que no es una amilasa) hidroliza la maltosa a glucosa. La mayor parte de la amilasa que se utiliza en la industria la proporciona la malta de granos de cereales que contiene distintos porcentajes de amilasas. No obstante, cada vez se están produciendo mayores cantidades de amilasa a partir de hongos y de bacterias, microorganismos que pueden proporcionar principalmente un solo tipo de amilasa o una mezcla de las mismas.

De origen fúngico. Los mohos se utilizan como fuente de amilasas y de otros enzimas hidrolíticos, seleccionándose tanto la especie como la cepa apropiada para cada finalidad. En el procedimiento Amylo, en el que una masa de granos de cereales amiláceos es sacarificada por las amilasas que produce el moho que crece sobre la misma, se han utilizado *Rhizopus delemar*, *Mucor rouxii* y otras especies emparentadas. Este procedimiento se ha aplicado principalmente a la preparación de masas destinadas a la fermentación alcohólica por levaduras. En la producción de preparados ricos en amilasas, la especie más utilizada ha sido *Aspergillus oryzae*, si bien se ha recomendado *A. niger* en los procedimientos de producción mediante cultivo sumergido. En el Capítulo 22 se describió la preparación del koji, fermento de *A. oryzae* que es rico en amilasas y en otros enzimas hidrolíticos.

Para obtener las amilasas de *A. oryzae* mediante el procedimiento de las bandejas, en el cual se cultiva el moho en finas capas de medio dispuesto en bandejas, o mediante el procedimiento del tambor, en el cual se introduce salvado en un tambor en rotación dentro del cual es agitado sin obstáculo alguno, se utiliza salvado de trigo, o salvado de arroz, humedecido y tratado con vapor. El rendimiento máximo se consigue mediante el procedimiento de las bandejas en un tiempo de 40 a 48 horas a una temperatura en torno a los 30°C en una atmósfera con un elevado grado de humedad y una adecuada ventilación. Las amilasas se extraen del micelio y se pueden purificar mediante precipitación y lavado o bien pueden ser concentradas según se desee. En estos preparados también se encuentran otros enzimas.

De origen bacteriano. *Bacillus subtilis* ha sido la bacteria más importante de las utilizadas para producir amilasas, aunque se sabe que otras especies bacterianas producen estos enzimas. Casi todas las bacterias producen más α -amilasa que β -amilasa. Su producción se puede llevar a cabo mediante el procedimiento de cultivo en capas finas de masa dispuesta en bandejas o mediante el procedimiento de cultivo en inmersión.

Para producir amilasas mediante *B. subtilis* se ha aconsejado emplear varios medios o masas, desde un medio complejo como es el destilado diluido, un subproducto de la producción de alcohol a partir de granos de cereales, hasta un medio más sencillo integrado por almidón soluble o hidrolizado, sales amónicas y sustancias tampón. Otra masa utiliza turtó de soja hidrolizada, turtó de cacahuete, o caseína como fuente de nitrógeno, almidón hidrolizado como fuente energética, y varias sales minerales. En el procedimiento de las bandejas se han empleado temperaturas de incubación desde 25 a 37°C durante un tiempo de 2 a 6 días, mientras que en el procedimiento de cultivo sumergido se han empleado temperaturas de 30 a 40°C durante 24 a 48 horas.

La amilasa bacteriana puede ser purificada y concentrada mediante diálisis, condensación y precipitación fraccionada.

Aplicaciones de las amilasas. En las industrias alimentarias, las amilasas fúngicas se han empleado para eliminar el almidón de los extractos de frutas, por ejemplo en la producción de pectina a partir del bagazo de manzanas; para clarificar la turbiedad debida al almidón en los vinos, en la cerveza, y en los zumos de frutas; para convertir en jarabes dulces los almidones modificados mediante ácidos; en la fabricación del pan, para sustituir a la malta con el fin de reforzar el fermento y mejorar la consistencia de la masa y, por lo tanto, la retención de gas (también intervienen proteinasas); y también para sacarificar el almidón en las masas que se utilizan en la fermentación alcohólica. La amilasa bacteriana, principalmente la de tipo alfa, se ha utilizado en la industria cervecera para producir dextrinas de escasa fermentabilidad y también para clarificar la cerveza, así como en la fabricación de jarabe de maíz y de jarabe de chocolate con el fin de evitar su espesamiento mediante la transformación en dextrina del almidón que contienen.

Invertasa

La invertasa cataliza la hidrólisis de la sacarosa a glucosa y a fructosa. La invertasa de las levaduras es una fructosidasa porque ataca el extremo de fructosa de la molécula de sacarosa, en contraposición a la glucosidasa de los mohos, que ataca el extremo de glucosa. A escala industrial, la invertasa se produce principalmente mediante el cultivo de cepas especiales de *Saccharomyces cerevisiae* (levadura que crece en profundidad) en un medio que contiene sacarosa, una sal amónica, tampón de fosfato y otras sales minerales, que se ajusta a un pH 4,5. El medio sembrado se incuba durante unas 8 horas a una temperatura de 28 a 30°C.

Para obtener la invertasa, se separan por filtración las células de levadura, se prensan, se plasmolisan y se autolisan. La invertasa extraída de las células de levadura puede ser desecada con azúcar o mantenida en un jarabe de sacarosa, o bien se puede purificar el enzima mediante diálisis, ultrafiltración, adsorción, y elución. La mayoría de los preparados comerciales de invertasa no tienen una pureza elevada.

Aplicaciones. La invertasa se utiliza en la industria de pastelería para fabricar azúcar invertido con el fin de preparar licores y helados en los que se debe impedir la cristalización de los azúcares por encontrarse en concentraciones elevadas. En los bombones con relleno blando recubiertos de chocolate, por ejemplo en las cerezas al marrasquino, la incorporación de invertasa al relleno ablanda el fundante una vez se han recubierto con chocolate. Se añade invertasa a los jarabes de sacarosa para hidrolizar el azúcar y de esta forma evitar la cristalización cuando se dejan en reposo. También se ha utilizado en la fabricación de miel artificial.

Enzimas pectolíticas

La pectina, que es ácido poligalacturónico metilado, tiene importancia en las industrias alimentarias por su capacidad para formar geles con un azúcar y un ácido. Esta propiedad es deseable en las gelatinas, pero no lo es en los zumos de frutas. La mayoría de los autores coinciden en que en la hidrólisis de la pectina intervienen principalmente dos enzimas: la **pectinesterasa**, que hidroliza la pectina a metanol y el ácido poligalacturónico (ácido péctico), y la **poligalacturonasa**, que hidroliza el ácido poligalacturónico a ácido monogalacturónico. La ulterior hidrólisis produciría azúcares y otras sustancias.

A la mezcla de enzimas pectolíticas a veces se le denomina **pectinasa** (pectasa, pectinoles, o filtragoles), término que será utilizado en este texto para designar una mezcla de enzimas pectolíticas como la que producen los microorganismos. Producen pectinasa numerosos mohos y varias bacterias, entre las que se incluyen los clostridios que intervienen en el enriado*. En cierto modo, sólo se produce a escala industrial la pectinasa fúngica, obteniéndose de especies de mohos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y de otros géneros. El micelio se desarrolla en un medio que contiene pectina o una sustancia parecida a la misma; una fuente de nitrógeno, que puede ser un extracto vegetal, un extracto de levadura, o un extracto de malta, amoníaco, peptona, etc.; y sales minerales. Se recoge el micelio, se macera, y se somete a extracción, y la mezcla bruta de enzimas así obtenida se puede precipitar y concentrar.

Aplicaciones. Las pectinasas obtenidas de extractos vegetales o de mohos se utilizan en las industrias alimentarias para clarificar zumos de frutas, vinos,

* N. del T.: El enriado es un tratamiento que consiste en introducir en agua las plantas textiles (lino, cáñamo y esparto) para conseguir su maceración.

vinagres, jarabes y gelatinas que pueden contener sustancias pécticas en suspensión. El tratamiento de los zumos de frutas con pectinasa contribuye a evitar que se gelifiquen después de su concentración. La adición de pectinasa a las frutas aplastadas, a las uvas por ejemplo, contribuye a la extracción del zumo y da como resultado que los vinos clarifiquen fácilmente. En la fabricación de las gelatinas de los bombones con elevado contenido de azúcar, se emplea la desesterificación parcial mediante pectinesterasa para dar pectinas modificadas que sedimentan lentamente.

Enzimas proteolíticos

Los enzimas proteolíticos, o **proteasas**, incluyen las **proteinasas**, que catalizan la hidrólisis de la molécula de proteína en largos fragmentos, y las **peptidasas**, que hidrolizan estos fragmentos polipeptídicos hasta dejarlos convertidos en cadenas más cortas de aminoácidos. Los preparados de enzimas proteolíticos de origen microbiano son proteasas, es decir, mezcla de proteinasas y peptidasas. Las proteasas también se obtienen a partir de plantas o de animales. La papaína, por ejemplo, que se obtiene del fruto del papayo,* se inyecta a los animales de abasto antes de sacrificarlos, de forma que el enzima ablandará la carne durante la cocción.

De origen bacteriano. En general, la proteasa bacteriana se obtiene de cultivos de *Bacillus subtilis*, aunque existen algunas otras bacterias que producen proteasas. Se selecciona una cepa de gran rendimiento, se emplean medios de cultivo especiales, y se ajustan tanto la temperatura como el grado de aireación para que la producción de proteasa predomine sobre la de amilasa. El medio o masa tiene un contenido bastante elevado de hidratos de carbono (del 2 al 6 por cien), y también de proteínas, y contiene asimismo sales minerales. Una vez sembrado el medio, se incuba durante un tiempo de 3 a 5 días a una temperatura en torno a los 37°C con ventilación adecuada. Se concentra el filtrado del cultivo, y los enzimas se utilizan de esta forma, se purifican más, o se adsorben en una sustancia inerte, por ejemplo en serrín. La mezcla enzimática también contiene cantidades variables de amilasas.

De origen fúngico. Los preparados de proteasa fúngica también contienen otros enzimas. De acuerdo con ello, el koji que se utiliza para preparar la salsa de soja y la taka-diastrasa que se utiliza con fines farmacéuticos contienen varios

* N. del T.: El fruto del papayo, o papaya, es un fruto hueco y de forma oblongada con cuya pulpa se hace, cuando verde, una confitura muy estimada. El árbol (papayo), propio de zonas cálidas, tiene un tronco fibroso y poco consistente, coronado por hojas palmeadas de gran tamaño. Toda la planta contiene un jugo lechoso que, mezclado con agua, ablanda las carnes.

enzimas. No obstante, es posible seleccionar cepas de mohos que den un elevado rendimiento de proteasas y un rendimiento relativamente bajo de otros enzimas. También se puede seleccionar un determinado moho por su capacidad para producir proteasas que son activas en medios ácidos o en medios básicos. Los procedimientos que se utilizan para obtener las proteasas fúngicas son parecidos a los que se utilizan para obtener amilasas. *Aspergillus oryzae* es una buena fuente de proteasas, aunque también se ha aconsejado utilizar otros mohos. Se ha propuesto la utilización de varios medios diferentes, entre los que se incluyen el salvado de trigo, el turtó de soja, la harina de alfalfa, el acemite*, la levadura, y otros materiales. El enzima se recupera por extracción, precipitación y concentración, lo mismo que los demás enzimas hidrolíticos.

Aplicaciones. Las proteasas microbianas se utilizan principalmente por su actividad proteínásica. Las proteasas bacterianas se han utilizado en la digestión del hígado de los pescados para liberar el aceite de hígado de pescado, para ablandar la carne, y para clarificar y madurar las bebidas de malta. Las proteasas fúngicas se emplean en la elaboración de la salsa de soja y otros alimentos orientales fermentados y se pueden añadir a la masa de pan, en la que, junto con la amilasa contribuyen a darle consistencia. También se pueden utilizar en la elaboración de la cerveza y de la ale por eliminar la turbiedad debida a las proteínas (las tanasa fúngica que contienen estas proteasas también puede ser útil), para ablandar las carnes, para disminuir la viscosidad de la clara de huevo con el fin de que se pueda filtrar antes de desecarla, y para hidrolizar las proteínas gelatinosas de los residuos de pescado y en el agua a presión con el fin de facilitar su concentración y desecación.

Glucosaoxidasa

La glucosaoxidasa se produce mediante el cultivo sumergido de *Aspergillus niger* o de otro moho. Se utiliza para eliminar la glucosa de la clara de huevo o de los huevos completos con el fin de facilitar su desecación, para evitar que se alteren, y para mejorar las propiedades del batido (de las claras de huevo una vez reconstituidas). También se ha empleado para prolongar la vida útil de las bebidas no alcohólicas enlatadas por retardar la captación de hierro y la debilitación de su color. La oxidación de la glucosa por la glucosaoxidasa origina ácido glucónico y peróxido de hidrógeno, siendo descompuesta esta última por la catalasa del propio preparado. Para eliminar pequeños restos de oxígeno en los alimentos envasados se emplea una mezcla de glucosaoxidasa y de catalasa.

Otros enzimas

Se ha aconsejado el empleo de **celulasa**, enzima que cataliza la hidrólisis de la celulosa a celulodextrinas y glucosa, para producir más azúcar fermentescible

* N. del T.: Salvado menudo con alguna pequeña cantidad de harina.

en las masas de los fabricantes de cerveza, para clarificar los zumos y concentrados de naranja y de limón, y para ablandar las judías verdes. La **lipasa** microbiana elimina la grasa de los restos de yema de huevo de la clara desecada, coopera con las esporas de algunos mohos para producir el sabor del queso azul para extender, y contribuye a producir el sabor del chocolate con leche. La **dextrano-sacarasa** aumenta la viscosidad por producir dextrano en los alimentos que contienen sacarosa. Se está prestando especial atención a los enzimas que comunican sabor a los alimentos, tanto por lo que se refiere a los enzimas de los alimentos frescos como a los enzimas microbianos. La **lactasa** de *Saccharomyces fragilis* puede encontrar aplicación para hidrolizar la lactosa del suero lácteo a glucosa y galactosa, las cuales son azúcares menos laxantes. La **catalasa**, enzima que desdobra el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, se prepara comercialmente a partir de *Aspergillus niger*, de *Penicillium vitale*, y de *Micrococcus lysodelilaticus*. La catalasa tiene muchas aplicaciones, utilizándose en aquellos casos en los que se desee eliminar el oxígeno, como, por ejemplo, en la cocción de tortas, en los alimentos irradiados, y en la esterilización del peróxido de hidrógeno. La **glucosaisomerasa** convierte la glucosa en fructosa y se utiliza en la industria de molinería del maíz. Comercialmente, se utilizan especies del género *Streptomyces* o *Bacillus coagulans*. Ni que decir tiene, que a los enzimas citados se podrían añadir otros más.

BIBLIOGRAFIA

- Anderson, R. F., H. T. Huang, S. Singer, and M. H. Rogoff. 1966. The biochemistry of glutamic acid fermentation. Symp. Microb. Prod. Amino Acids. Dev. Ind. Microbiol. 7:7-15.
- Anonymous. 1964. What you can do with enzymes. Food Eng. 36(5):80-81.
- Anonymous. 1966. Symp. Microb. Prod. Amino Acids. Dev. Ind. Microbiol. 7:7-58.
- Barton, R. R., and C. E. Land, Jr. 1961. How latest enzymes sharpen your process control. Food Eng. 33(9):85-88.
- Cooney, C. L., C. Rha, and S. R. Tannenbaum. 1980. Single-cell protein: engineering, economics, and utilization in foods. Adv. Food Res. 26:1-52.
- Davis, P. 1974. Single cell protein. Academic Press, Inc., New York.
- Hankin, L., and D. C. Sands. 1974. Selecting lysine-excreting mutants of lactobacilli for use in food and feed enrichment. Appl. Microbiol. 28:523-524.
- Humphrey, A. E. 1974. Current developments in fermentation. Chem. Eng. December. 89-112.
- Jeanes, A. 1974. Extracellular microbial polysaccharides. Food Technol. 28:34, 36, 38, 40.
- Jones, J. G. W. (ed.). 1973. The biological efficiency of protein production. Cambridge University Press, New York.
- Joslyn, M. A. 1962. The chemistry of protopectin: a critical review of historical data and recent developments. Adv. Food Res. 11:1-107.
- Lipinsky, E. S., and J. H. Litchfield. 1974. Single-cell protein in perspective. Food Technol. 28:16, 18, 20, 22, 24, 40.

- Litchfield, J. H. 1977. Single-cell proteins. *Food Technol.* 31:175-179.
- Mateles, R. I., and S. R. Tannenbaum (eds.). 1968. Single-cell protein. The M.I.T. Press, Cambridge, Mass.
- Miller, B. M., and W. Litsky. 1976. *Industrial microbiology*. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Perlman, D. 1970. Some prospects for the fermentation industries. *Wallerstein Lab. Commun.* 33:165-175.
- Porter, J. R. 1974. Microbiology and the food and energy crisis. *Am. Soc. Microbiol. News.* 40:813-825.
- Prescott, S. C., and C. G. Dunn. 1959. *Industrial microbiology*. 3d ed. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Reed, G. (ed). 1982. Prescott and Dunn's industrial microbiology. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Rose, A. H. 1961. *Industrial microbiology*. Butterworth & Co. (Publishers), Ltd., London.
- Sardinas, J. L. 1972. Microbial rennets. *Adv. Appl. Microbiol.* 11:39-66.
- Schultz, H. W. 1960. Food enzymes. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Shacklady, C. A. 1972. Yeasts grown on hydrocarbons as new sources of protein. *World Rev. Nutr. Diet.* 14:154-179.
- Tannenbaum, S. R., and D. I. C. Wang (eds.). 1975. Single-cell protein. Volume 2. M.I.T. Press, Cambridge, Mass.
- Umbarger, H. E., and B. D. Davis. 1962. Pathways of amino acid biosynthesis. *In* I. C. Gunsalus and R. Y. Stanier (eds.), *The Bacteria*. Volume III. Academic Press, Inc., New York.
- Underkofler, L. A. 1976. Microbial enzymes. *In* B. M. Miller and W. Litsky, *Industrial microbiology*, chap. 7. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Waslien, C. I. 1976. Unusual sources of proteins for man. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 6:77-151.
- Zaborsky, O. R. 1973. *Immobilized enzymes*. CRC Press, Cleveland, Ohio.

Quinta parte

Los alimentos en relación con las enfermedades

Todos los microbiólogos de alimentos deben conocer de qué forma las enfermedades pueden ser diseminadas por alimentos y de qué forma se puede evitar esta transmisión. Tienen especial interés los agentes que en la actualidad originan enfermedades alimentarias, incluso su hábitat, su origen en los alimentos, los alimentos implicados con mayor frecuencia, el mecanismo de patogenicidad y los medios de control.

00243

Enfermedades alimentarias de etiología bacteriana

Los trastornos gastrointestinales debidos a la ingestión de alimentos pueden obedecer a distintas causas, por ejemplo a la ingestión de una cantidad de alimentos excesiva; a alergias; a carencias nutritivas; a verdaderos envenenamientos por agentes químicos, por plantas tóxicas o por animales tóxicos; a toxinas bacterianas; a infestaciones por parásitos animales; y a infecciones por microorganismos. Estas enfermedades se suelen incluir en el mismo grupo porque en algunas ocasiones sus síntomas son bastante parecidos y otras veces se confunden entre sí. En este capítulo se estudiarán las enfermedades alimentarias cuyos agentes etiológicos son bacterias.

ENFERMEDADES ALIMENTARIAS

Normalmente, el término «intoxicación alimentaria», aplicado a enfermedades producidas por microorganismos, se utiliza en un sentido muy amplio para designar tanto a las enfermedades producidas por la ingestión de toxinas elaboradas por los microorganismos, como para designar a aquellas otras debidas a la infección del hospedador a través del tracto intestinal. En la Figura 24.1 se ofrece otra clasificación de las enfermedades alimentarias. En ella, el conjunto de las enfermedades alimentarias se subdivide en intoxicaciones e infecciones. Las intoxicaciones alimentarias pueden ser consecuencia de un envenenamiento químico o de la ingestión de una toxina (intoxicación). La toxina se puede encontrar

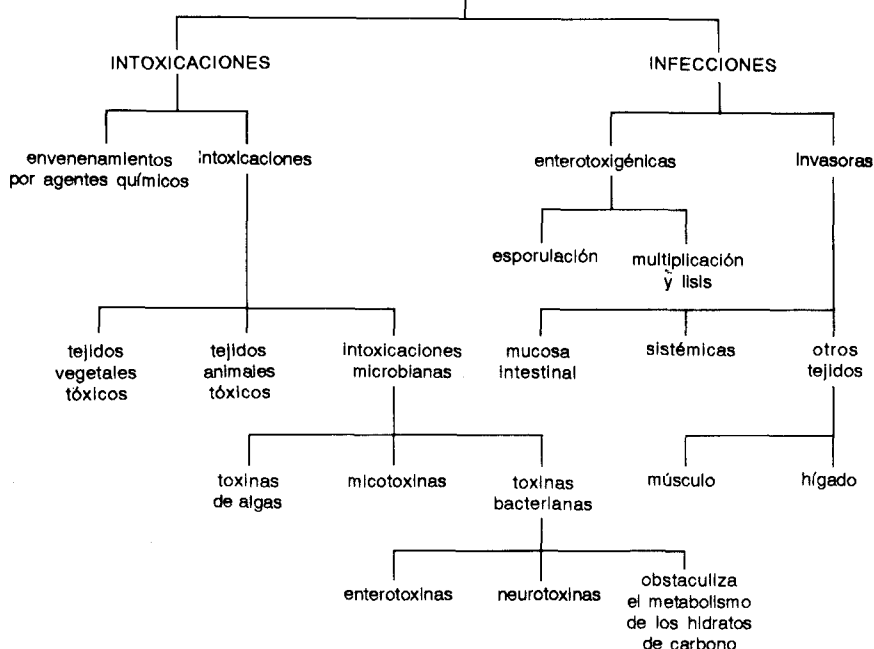


Figura 24.1. Clasificación de las enfermedades alimentarias. (Adaptada de Bryan, F. L. 1976. *Diseases transmitted by foods*. DHEW Pub. No. (CDC) 76-8237, Center for Disease Control, Atlanta, Ga.)

de forma natural en determinadas plantas o animales (véase el Capítulo 25) o ser un producto metabólico de naturaleza tóxica excretado por un microorganismo. Cuando se habla de una determinada **intoxicación alimentaria bacteriana** se alude a las enfermedades alimentarias causadas por la presencia de una toxina bacteriana que se ha originado en el alimento. La expresión **infección alimentaria bacteriana** se refiere a las enfermedades alimentarias originadas por la entrada de bacterias en el organismo por ingestión de alimentos contaminados y a la reacción del organismo provocada por su presencia o por sus metabolitos. Según esta clasificación, existen dos tipos principales de intoxicaciones alimentarias producidas por bacterias (véase la Figura 24.2): (1) el botulismo, originado por la presencia en los alimentos de la toxina producida por *Clostridium botulinum*, y (2) la intoxicación estafilocócica, originada por una toxina existente en los alimentos producida por *Staphylococcus aureus*.

Las infecciones alimentarias señaladas en la Figura 24.2 se pueden dividir en dos tipos: (1) aquéllas en las que los microorganismos patógenos no necesariamente se multiplican en el alimento, sino que el alimento sólo actúa como vehiculador, siendo éste el caso de microorganismos patógenos como los que producen la tuberculosis, la difteria, las disenterías, la fiebre tifoidea, el cólera, la hepatitis infecciosa, la fiebre Q, etc., y (2) aquéllas en las que el alimento puede

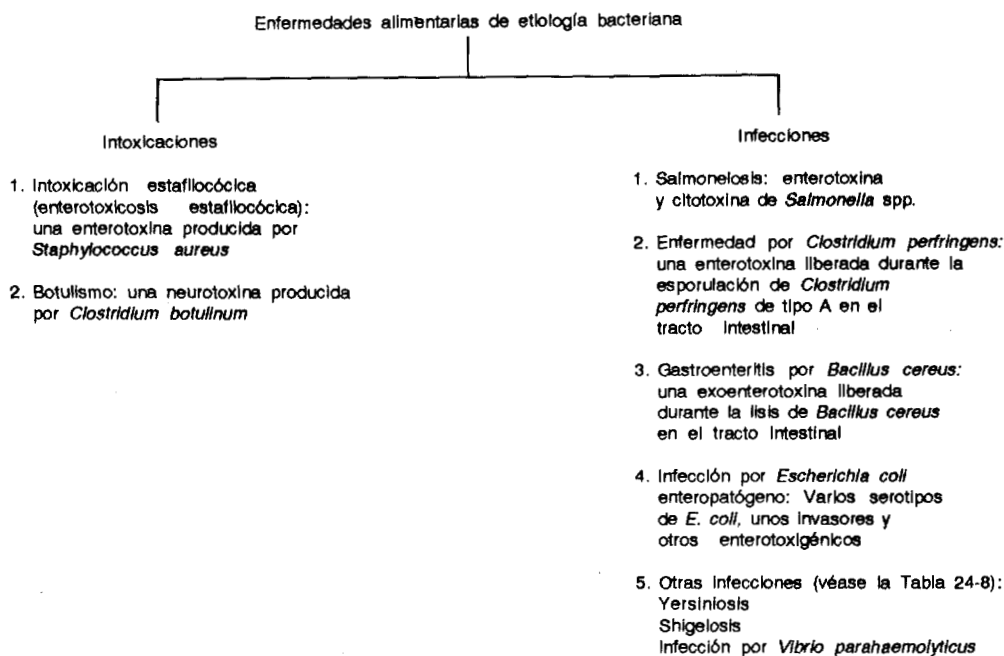


Figura 24.2. Ejemplos de bacterias responsables de la producción de intoxicaciones e infecciones alimentarias.

servir de medio de cultivo para que los microorganismos patógenos se multipliquen en él y alcancen cifras que aumentarán la posibilidad de que el consumidor del alimento se infecte; en este tipo de enfermedades se incluyen las producidas por las especies de *Salmonella*, por *Vibrio parahaemolyticus*, y por *Escherichia coli* enteropatógeno. Es probable que los brotes de infecciones alimentarias del segundo tipo sean más explosivos que los brotes originados por otros patógenos intestinales.

Algunos autores señalan que la enfermedad alimentaria producida por *Clostridium perfringens* y la gastroenteritis por *Bacillus cereus*, más que infecciones alimentarias, se deben considerar intoxicaciones alimentarias ya que la toxina tal vez sea liberada por *B. cereus* como consecuencia de la autólisis de las células de esta bacteria en el alimento o por *C. perfringens* durante su esporulación en el mismo. Si las toxinas se liberasen en el alimento, las citadas enfermedades se podrían incluir con más propiedad en el grupo de las intoxicaciones alimentarias. No obstante, según se señala en epígrafes posteriores, en ambos casos es preciso ingerir un elevado número de células viables, lo cual supone la liberación de la toxina en el organismo más que en el alimento. En la actualidad se admite que la patogenia de estas dos enfermedades alimentarias se presta a debate. Además,

Tabla 24.1. Algunas enfermedades transmitidas por alimentos registradas en los Estados Unidos entre los años 1978 y 1982.

Enfermedad	1978	1979	1980	1981	1982
Intoxicación estafilocócica	-	2.391(34)	944(27)	2.934(44)	669(28)
Gastroenteritis por <i>Clostridium perfringens</i>	617(9)*	1.110(2)	1.463(25)	1.162(28)	1.189(22)
Salmonelosis	1.921(45)	2.794(44)	2.38(39)	2.456(66)	2.056(55)
Botulismo	58(12)	9(7)	18(14)	22(11)	30(21)
Gastroenteritis por <i>Bacillus cereus</i>	248(6)	-	187(9)	74(8)	200(8)
Shigelosis	159(4)	356(7)	1.184(11)	351(9)	116(4)
Gastroenteritis por <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	86(2)	14(2)	12(4)	13(2)	39(3)
Gastroenteritis por <i>Escherichia coli</i>	35(1)	-	500(1)	-	47(2)

* Número de casos seguido, entre paréntesis, del número de brotes.

Fuente: Center for Disease Control, U.S. Department of Health, Education and Welfare, Foodborne Outbreak Annual Summaries.

la clasificación global en infecciones alimentarias e intoxicaciones alimentarias no es tan estricta como lo fue en otro tiempo. *S. aureus* elabora una toxina en el alimento y de aquí que la enfermedad alimentaria producida por esta especie con frecuencia sea considerada la intoxicación alimentaria clásica. No obstante, varias bacterias grampositivas, entre las que se incluyen las especies *S. aureus*, *C. perfringens*, y *B. cereus*, son capaces de colonizar la mucosa intestinal y producir diarrea crónica. Asimismo, se cree que la patogenicidad de las especies del género *Salmonella* es debida a una enterotoxina y tal vez a una citotoxina. Por consiguiente, estos términos se deben utilizar con cautela.

La Tabla 24.1 muestra el número de brotes y casos de enfermedades alimentarias producidos por varios agentes bacterianos registrados en los Estados Unidos durante un período de 4 años. Las cifras que figuran en dicha Tabla probablemente representen solamente una parte de los brotes y casos que realmente se presentaron en el citado período de tiempo. Como quiera que muchas personas no consultan a un médico cuando están aquejadas de algún episodio diarreico, los organismos sanitarios y los cauces normales de vigilancia sanitaria desconocerían su existencia y, por ello, no serían denunciados ni figurarían en las estadísticas. La mayoría de los brotes y de los casos se achacaron a intoxicaciones estafilocócicas, a salmonelosis, y a gastroenteritis por *Clostridium perfringens*.

A pesar de los esfuerzos de muchas organizaciones, industrias y personas, los brotes de enfermedades alimentarias continúan presentándose. La Tabla 24.2 resume los datos relativos a la localidad o sitio donde los alimentos se utilizaron mal o se manipularon incorrectamente, motivos por los cuales se presentaron los

Tabla 24.2. Lugares en los que los alimentos fueron manipulados incorrectamente entre los años 1968 y 1976.

<i>Lugar</i>	<i>Número</i>	<i>Porcentaje</i>
Establecimientos expendedores de alimentos	1.283	39
Hogares	504	15
Industrias elaboradoras de alimentos	163	5
Desconocidos o no especificados	1.354	41
Total	3.304	100

Fuente: Center for Disease Control, U.S. Department of Health, Education and Welfare, Foodborne Outbreak Annual Summaries.

brotos de enfermedades alimentarias registrados durante el período comprendido entre los años 1968 y 1976. Las plantas de tratamiento de alimentos fueron responsables del 5 por cien de los brotes, aunque en la mayoría de los brotes no se pudo especificar el sitio donde tuvo lugar la manipulación incorrecta. Durante el período comprendido entre los años 1968 a 1976, los establecimientos expendedores de alimentos fueron responsables de más de la tercera parte de los brotes de enfermedades alimentarias.

Botulismo

El botulismo es una enfermedad originada por la ingestión de alimentos que contienen la neurotoxina producida por *Clostridium botulinum*.

El microorganismo. Esta bacteria del suelo, de forma bacilar, es saprofítica, esporógena, anaeróbica, y produce gas. De acuerdo con la especificidad serológica de sus toxinas se distinguen siete tipos; la toxina predominante (o única) se designa con la misma letra mayúscula que el tipo de bacilo que la elabora.

El **tipo A** es el único tipo que suele producir el botulismo humano en la zona occidental de los Estados Unidos. Es más tóxico que el tipo B.

El **tipo B** se encuentra con mayor frecuencia que el tipo A en la mayoría de los suelos de todo el mundo y es menos tóxico para el hombre.

El **tipo C** produce el botulismo de las aves, del ganado vacuno, del visón, y de otras especies animales, pero hasta ahora no se conocen casos en la especie humana.

El **tipo D** se relaciona con la intoxicación por forraje del ganado vacuno en la Unión Surafricana.

El **tipo E**, que es tóxico para el hombre, se ha aislado principalmente en el pescado y en los productos derivados del mismo.

El **tipo F**, que excepto por lo que se refiere a su toxina es parecido a los tipos A y B, se ha aislado en Dinamarca y produce el botulismo humano.

El **tipo G**, ha sido aislado del suelo en Argentina, pero no se ha relacionado con el botulismo humano.

No todos los tipos elaboran una sola toxina. Por ejemplo, algunas cepas del tipo C elaboran preferentemente toxina C_1 y cantidades menores de las toxinas D y C_2 , o solamente toxina C_2 . Las cepas del tipo D elaboran preferentemente toxina D y menores cantidades de las toxinas C_1 y C_2 .

Las cepas del tipo A y la mayoría de los cultivos del tipo B son lo suficientemente proteolíticas y putrefactivas para comunicar un olor repugnante a los alimentos proteicos, aunque algunas cepas del tipo B y las del tipo E carecen de las citadas propiedades. Incluso los dos primeros tipos, a pesar de que producen toxina, no dan signos evidentes de originar putrefacción en alimentos de bajo contenido proteico, como son las judías verdes y el maíz, a pesar de que producen toxina. Este microorganismo fermenta los hidratos de carbono con producción de gas, aunque a veces ni siquiera es observable.

La diferenciación de las distintas cepas de *C. botulinum*, basada únicamente en los tipos de toxina, da como resultado grupos muy heterogéneos. Por esta razón, de acuerdo con los caracteres de sus cultivos y sus propiedades fisiológicas, las cepas de *C. botulinum* se suelen dividir en los tres grandes grupos siguientes:

El **grupo I** incluye a todas las cepas de tipo A (proteolíticas) y las cepas proteolíticas de los tipos B y F.

El **grupo II** incluye a todas las cepas de tipo E (no proteolíticas) y las cepas no proteolíticas de los tipos B y F.

El **grupo III** incluye los tipos C y D; son cepas no proteolíticas y comparten un patrón metabólico común.

Crecimiento y producción de toxinas. La producción de toxinas por *C. botulinum* depende de la capacidad de las células de este microorganismo para multiplicarse en un determinado alimento y de autolisarse en el mismo ya que, al parecer, las toxinas de los tipos A, B, E, y F son sintetizadas como proteínas con una molécula de gran tamaño, relativamente inactivas, que adquieren toda su toxicidad después de experimentar cierto grado de hidrólisis. De aquí que tengan un especial interés los factores que influyen en la germinación de las esporas, en la multiplicación y, por consiguiente, en la producción de toxina. Estos factores incluyen la composición del alimento o del medio, sobre todo por lo que se refiere a sus propiedades nutritivas (así por ejemplo se sabe que la presencia de glucosa

o de maltosa es indispensable para la producción de toxina), el grado de humedad, el pH, el potencial de óxido-reducción, y el contenido de sal, así como también la temperatura y el tiempo de almacenamiento del alimento. La combinación de estos factores es la que determina tanto la posibilidad de multiplicación del microorganismo como la rapidez y la cuantía de dicha multiplicación. De acuerdo con ello, es probable que las propiedades nutritivas del alimento determinen el pH y la temperatura mínimos y la concentración máxima de cloruro sódico para que el microorganismo pueda multiplicarse y producir la toxina. Los resultados serán distintos según el tipo serológico y la cepa de microorganismo de que se trate.

Si bien se sabe que los alimentos son distintos como medios de cultivo para *C. botulinum*, gran parte de este conocimiento es empírico. Casi todas las investigaciones han girado en torno a la producción de toxina en distintos alimentos. Se ha demostrado que en las carnes, en los pescados y en los alimentos enlatados de acidez media o baja se puede producir toxina y que se diferencian en cuanto a la potencia de la toxina que se produce en los mismos. Incluso los medios de cultivo apropiados pueden diferenciarse en cuanto a la potencia de la toxina producida en ellos. Se ha señalado, por ejemplo, que los medios que contienen leche o caseína, glucosa o maltosa, y el agua de maceración del maíz producen una toxina de tipo A más potente que la que se produce en los demás medios y que la potencia de las toxinas de los siguientes alimentos enlatados, en orden de más a menos, es: maíz>guisantes>judías verdes>espinacas. Se ha demostrado que el estaño disuelto de las latas inhibe la multiplicación del microorganismo y la producción de toxina en las hortalizas enlatadas. Las experiencias realizadas en carne deshidratada han puesto de manifiesto que la toxina se producía más lentamente cuando el porcentaje de humedad era del 40 por cien que cuando era del 60 por cien y que la reducción del porcentaje de humedad al 30 por cien impedía la producción de toxina.

Las concentraciones de cloruro sódico necesarias para inhibir la multiplicación del microorganismo y la producción de toxina en los alimentos dependen de la composición de cada uno de ellos y de la temperatura a que se encuentren. La presencia de nitrato sódico en los embutidos o de fosfato disódico en el queso en porciones reducen la concentración de cloruro sódico necesaria para que se produzca la toxina. A temperaturas más elevadas, por ejemplo a 37°C, se necesita más sal que a una temperatura más baja, por ejemplo a una temperatura de 15°C. Para inhibir la multiplicación de *C. botulinum* en un medio que reúna condiciones apropiadas para ello, es necesaria una concentración de sal del 8 por cien o más. Un pH próximo a la neutralidad estimula la multiplicación de *C. botulinum*. El pH mínimo al cual tendrán lugar la multiplicación y la producción de toxina dependen del tipo de alimento y de la temperatura. Un pH de 4,5 o de valores más bajos impedirá la producción de la toxina en la mayoría de los alimentos, si bien el pH mínimo para que tenga lugar la germinación de las esporas tiene valores más elevados. Los valores de pH mínimos señalados son 4,87 para las células vegetativas y 5,01 para la germinación de las esporas en el caldo infusión de ternera, 4,8 y 5,0 en el pan, y 4,8 en el budín de arroz y piña. El valor máximo de pH al cual se

encontró crecimiento vegetativo fue de 8,89. No obstante, se ha encontrado *C. botulinum* multiplicándose y produciendo toxina en alimentos que normalmente son excesivamente ácidos para este microorganismo, cosa que sucedía cuando en el alimento existían otros microorganismos que también se estaban multiplicando y posiblemente elevando el pH en alguna porción del alimento o en todo él. Se han presentado brotes de botulismo en alimentos enlatados de elevada acidez (de pH inferior a 4,5) sometidos a tratamiento térmico de intensidad insuficiente entre los cuales se incluyen los tomates, el zumo de tomate y las zarcas. Entre las posibles explicaciones de que se hayan presentado estos brotes se han dado las siguientes: (1) multiplicación de otros microorganismos que podrían elevar el pH del alimento, con lo cual *C. botulinum* se podría multiplicar, (2) multiplicación de *C. botulinum* seguida de multiplicación de otros microorganismos que disminuirían el pH del alimento que inicialmente tenía un valor superior a 4,5, y (3) variación o estratificación del pH en un alimento acidulado que permitiría la multiplicación de *C. botulinum*. Tanaka (1982) ha indicado que se produce toxina en medios cuyo pH tiene valores inferiores a 4,6.

La temperatura es un factor importante para determinar si tendrá lugar la producción de toxina y cuál será la velocidad con que se producirá. El crecimiento vegetativo tendrá lugar a una temperatura más baja que la temperatura mínima de germinación de las esporas. Las distintas cepas de *C. botulinum* de los tipos A y B difieren en cuanto a la exigencia de temperatura. Se ha señalado que unas pocas cepas son capaces de multiplicarse a temperaturas comprendidas entre los 10 y los 11°C, si bien se ha pretendido que la temperatura mínima a la cual germinan las esporas es de aproximadamente 15°C. Para los citados tipos, la temperatura máxima de crecimiento es de unos 48°C, mientras que para el tipo E es de unos 45°C. Los microorganismos de tipo E producen gas y toxina entre los 31 y los 45 días a temperaturas tan bajas como la de 3,3°C.

La temperatura óptima para la producción de toxina y para la multiplicación de las cepas proteolíticas es de unos 35°C, mientras que para las cepas no proteolíticas se suelen dar valores correspondientes a las temperaturas óptimas comprendidos entre 26 y 28°C. Naturalmente que cuanto más lenta sea la producción de la toxina, tanto más se tardará en obtener cantidades estimables. Una interesante investigación (Lund y otros, 1985) ha empezado a describir las interacciones entre el pH, el potencial de óxido-reducción y la temperatura en relación con la multiplicación y la producción de toxina.

La toxina. La toxina de *C. botulinum*, una proteína que ha sido purificada y que se ha obtenido cristalizada, es tan potente, que sólo una insignificante cantidad basta para producir la muerte. Se absorbe principalmente en el intestino delgado y paraliza los músculos involuntarios del organismo. Una propiedad importante es su relativa termolabilidad. El tratamiento térmico necesario para destruirla depende del tipo de microorganismo que produce la toxina y del medio en el cual se somete a calentamiento. En el laboratorio, los tratamientos térmicos de 5 a 6 minutos a 80°C inactivarán la toxina de tipo A, mientras que para inactivar la toxina

de tipo B se necesitará un tratamiento térmico de 15 minutos de duración a una temperatura de 90°C. Esto no significa que la cocción total de un alimento altamente sospechoso elimine totalmente el riesgo de la toxina. Según se ha indicado anteriormente, la multiplicación de *C. botulinum* en algunos alimentos origina un olor tan pestilente y rancio, que por ello serían rechazados. Las carnes y las hortalizas proteicas de acidez baja desprenden un olor especialmente repugnante. No obstante, precisamente los alimentos más ácidos y aquéllos cuyo porcentaje de proteínas es bajo, pueden llegar a ser igualmente tóxicos sin que en ellos sea muy manifiesta la putrefacción. Además, las cepas no proteolíticas de *C. botulinum* producen menos signos de alteración en los alimentos que las cepas proteolíticas. Asimismo, la producción de ácido no siempre es manifiesta, y de aquí que no constituya un signo fiable de que la alteración del alimento se debe a este microorganismo. Sin duda que es aconsejable rechazar todos aquellos alimentos, tanto si son frescos como enlatados, que presenten señales de alteración y rechazar aquellos alimentos enlatados que presenten cualquier grado de presión en el interior del envase.

La toxina puede ser destruida por una dosis de rayos gamma de 7,3 Mrad en el queso y por una dosis de 4,9 Mrad en el caldo. Se ha sabido que la toxina persiste en los alimentos durante mucho tiempo, sobre todo cuando los alimentos se han tenido almacenados a baja temperatura. Es inestable a valores de pH por encima de 6,8.

Las cepas no proteolíticas producen toxinas que no están totalmente activadas, y la adición de tripsina dará como resultado un incremento de su potencial máximo de toxicidad.

Según se ha indicado, las siete toxinas (desde la toxina A a la toxina G) son antigénicas, suscitando la producción de antitoxinas específicas para cada uno de los tipos de toxina inyectada. Se han preparado toxoides de algunos de los tipos para inmunizar de forma activa a los investigadores que podrían estar expuestos a la intoxicación accidental por la toxina botulínica.

Toxicidad y bacteriófagos. No es raro aislar colonias que no producen toxina de una cepa de *C. botulinum* de la que se sabe que es toxigénica. Investigaciones recientes sobre la relación existente entre la toxigenicidad (capacidad para producir la toxina) y los bacteriófagos atenuados* (ácido nucleico fágico

* N. del T.: Los bacteriófagos (o virus bacterianos) atenuados son virus avirulentos. Todos los virus atenuados contienen DNA y hasta ahora sólo se han encontrado en las bacterias. Los virus atenuados son, generalmente, agentes de herencia en vez de agentes de enfermedad, ya que su material genético, que habitualmente se duplica junto con el material genético del hospedador (bacteria) en el momento de la división celular, pasa de una generación de bacterias a la siguiente. Muchas bacterias que parecen normales producen espontáneamente pequeñas cantidades de virus (bacteriófagos) capaces de infectar cepas bacterianas muy parecidas. Estas bacterias que son potencialmente productoras espontáneas de virus atenuados, se denominan bacterias lisógenas (productoras de lisis).

intracelular integrado*) han indicado que es posible que el genoma bacteriano no sea el responsable de la producción de la toxina, aunque su producción está codificada por el genoma de un bacteriófago atenuado incorporado.

Esto explicaría la pérdida accidental de la capacidad para producir toxina de algunas cepas. Experimentalmente, los tipos C y D pueden ser «curados» de su bacteriófago atenuado y convertirse en no toxigénicos. Los tipos A, B, y F también han sido «curados» de sus bacteriófagos, pero han seguido siendo toxigénicos. Al parecer también existen bacteriófagos de *C. botulinum* que confieren la capacidad para producir toxina. Asimismo, una determinada cepa puede albergar más de un bacteriófago atenuado (infección múltiple) y, según se ha señalado anteriormente, esto puede explicar el hecho de que algunas cepas produzcan más de un tipo de toxina.

Termorresistencia de las esporas. Comparadas con las esporas de la mayoría de las demás especies de *Clostridium*, las de los anaerobios de la putrefacción, entre los que se incluye *C. botulinum*, están dotadas de una termorresistencia relativamente elevada. La intensidad del tratamiento térmico necesaria para destruir todas las esporas en un determinado alimento depende de la clase de alimento, del tipo y de la cepa de *C. botulinum*, del medio en el cual se originaron las esporas, de la temperatura a la cual se originaron, de la edad de las mismas, y del número de esporas existentes. Para el estudio de los factores que influyen en la termorresistencia de las esporas, el lector se debe dirigir al Capítulo 6. Esty y Meyer (1922) han recomendado los siguientes tratamientos térmicos para destruir la totalidad de las esporas de *C. botulinum* en un alimento:

Temperatura °C	Tiempo minutos
100	360
105	120
110	36
115	12
120	4

En general, las esporas de los microorganismos de los tipos C, D, y E son menos termorresistentes que las esporas de los tipos A, B, y E que son inactivadas en 15 minutos a 80°C.

Las esporas de los tipos A y B tienen valores $D_{121^{\circ}\text{C}}$ de 0,21 minutos, mientras que para el tipo E se ha señalado que el valor $D_{100^{\circ}\text{C}}$ es de 0,003 a 0,017 minutos. La comprobación de la termorresistencia de las esporas de tipo C ha puesto de manifiesto que las cepas de origen marino son más termorresistentes que las de origen terrestre (para las primeras, el valor $D_{104^{\circ}\text{C}}$ es de 0,4 a 0,9 minutos y de 0,02 a 0,08 minutos para las últimas).

* N. del T.: Integrado en el genoma bacteriano.

Distribución de las esporas. Se cree que el hábitat de *C. botulinum* es el suelo, ya que se han encontrado tanto en suelos cultivados como en suelos vírgenes de todo el mundo. Los análisis de muestras de suelo han puesto de manifiesto que las esporas de tipo A predominan en los suelos del oeste de este país, mientras que en las demás zonas predominan las de tipo B. Las plantas cultivadas se pueden contaminar a partir del suelo y a partir del contenido intestinal de los animales tras haber ingerido tales plantas y, por lo tanto, a partir del estiércol. Las esporas de tipo E se encuentran en el suelo, en el lodo del mar y de los lagos, y en el pescado, principalmente en su tracto intestinal.

Incidencia del botulismo. Afortunadamente, el botulismo sólo se presenta rara vez, aunque siempre se le presta atención por su elevada mortalidad. Por ejemplo, entre los años 1970 y 1973 la tasa de mortalidad fue de aproximadamente el 23 por cien, pero durante la época comprendida entre los años 1899 y 1949 dicha tasa fue superior al 60 por cien. El estudio de los 688 brotes de botulismo registrados desde el año 1899 al año 1973 reveló que el 23,1 por cien de los mismos fue producido por el tipo A, el 6,3 por cien por el tipo B, y el 3,2 por cien por el tipo E. En la mayoría de los brotes, en el 67,3 por cien, no se determinó el tipo de *C. botulinum* que los produjo. En los últimos años ha disminuido el número de brotes en los cuales no se ha determinado el tipo que los produjo; por ejemplo, entre los años 1970 y 1973 solamente quedó sin tipificar el 19,0 por cien de los brotes.

Alimentos implicados. En los Estados Unidos, la causa más frecuente de botulismo son los alimentos que se enlatan en casa y que se someten a un tratamiento térmico insuficiente (Tabla 24.3); en Europa, las causas principales de

Tabla 24.3. Brotes de botulismo transmitido por alimentos atribuidos a alimentos elaborados en industrias o en casas particulares entre 1889 y 1973.

Año	Procedencia del alimento			Total
	Elaborados en casas particulares	Elaborados en industrias	Desconocida	
1889	1	0	0	1
1900-1909	1	1	0	2
1910-1919	48	14	8	70
1920-1929	77	26	13	116
1930-1939	135	6	13	154
1940-1949	120	1	13	134
1950-1959	50	2	51	103
1960-1969	42	10	26	78
1970-1973	21*	2	7	30
Total	495	62	131	688

*Incluye un solo brote en el que el alimento que produjo el botulismo fue enlatado por el propietario de un restaurante y vendido a sus clientes.

Fuente: Center for Disease Control (1974).

Tabla 24.4. Alimentos enlatados en casa que produjeron seis o más brotes de botulismo entre los años 1899 y 1947 (Estados Unidos).

<i>Alimento</i>	<i>Número de brotes</i>	<i>Alimento</i>	<i>Número de brotes</i>
Judías verdes	94	Hortalizas de remolacha	9
Maíz	46	Pimientos picantes	9
Remolacha	22	Judías	7
Espárragos	21	Tomates	7
Espinacas y acelgas	12	Champiñones	6
Guisantes	10	Embutidos	9
Higos	10	Pescado	10

botulismo son las carnes y los pescados conservados. A los alimentos sometidos a tratamientos industriales se les ha atribuido menos del 10 por cien de los brotes (Tabla 24.3), mientras que los alimentos elaborados en casa fueron responsables del 72 por cien de los brotes.

De los alimentos enlatados en casa, los que con mayor frecuencia han producido botulismo han sido las judías verdes, el maíz dulce, la remolacha de mesa, los espárragos, las espinacas y el cardo, si bien cualquiera de los demás numerosos tipos de alimentos existentes ha sido responsable de uno o varios brotes (entre los años 1899 y 1947 han sido implicados cincuenta tipos de frutas y hortalizas enlatadas). En la Tabla 24.4 se relacionan los alimentos enlatados en casa que en los Estados Unidos han sido responsables de seis o más brotes de botulismo desde el año 1899 al año 1947. En general, los alimentos a los cuales se les ha atribuido la producción de brotes de botulismo son alimentos enlatados de acidez baja y media, aunque ha habido casos excepcionales de intoxicación por consumo de alimentos ácidos, como son los tomates, los albaricoques, las peras y los melocotones. Estos alimentos ácidos han sido sometidos a un tratamiento térmico muy inferior al necesario y este tratamiento térmico insuficiente ha permitido la multiplicación de otros microorganismos que ha facilitado la multiplicación y la producción de toxina por *C. botulinum*.

La Tabla 24.5 resume los distintos alimentos implicados en todos los brotes registrados (1899-1973), tanto por lo que se refiere a alimentos procedentes del comercio como a alimentos elaborados en casa, y los tipos de toxina involucrados. A las hortalizas se les atribuyó el 56 por cien de estos brotes.

Los científicos han comprobado que las esporas de *C. botulinum* sobreviven durante mucho tiempo tanto en los alimentos frescos como en los alimentos precocinados congelados y que son capaces de multiplicarse y de producir toxina si estos alimentos se mantienen el suficiente tiempo a una temperatura suficientemente elevada una vez descongelados. De igual modo, se debe evitar el uso de temperaturas incorrectas en aquellos alimentos en los cuales se puede multiplicar *C. botulinum* y que es posible que estén contaminados.

Tabla 24.5. Alimentos causantes de brotes de botulismo,* entre 1899 y 1973.

Alimento	Tipo de toxina botulínica					Total
	A	B	E	F	AyB	
Hortalizas	115	31	1	—	2	149
Pescado y alimentos derivados	11	4	25	—	—	40
Frutas	22	7	—	—	—	29
Condimentos ^a	17	5	—	—	—	22
Carne de vaca ^b	6	1	—	1	—	8
Leche y productos lácteos	3	2	—	—	—	5
Carne de cerdo	2	1	—	—	—	3
Carne de ave	2	2	—	—	—	4
Otros ^c	8	3	3	—	—	14
Total	186	56	29	1	2	274

*Incluye únicamente aquellos brotes en los cuales se identificó el tipo de toxina causante.

^aIncluye brotes atribuidos a condimento de tomate, a pimientos picantes, a salsas picantes, y a salsas para ensaladas.

^bIncluye un brote debido a la presencia de la toxina de tipo F en carne de venado y otro debido a la presencia de la toxina de tipo A en carne de carnero.

^cIncluye brotes atribuidos a «vichyssoise», (puré que se prepara con patatas, puerro, y otras varias hortalizas, que se suele servir frío) a salsa para «spaghetti», y a un amasijo a base de maíz y pollo.

Fuente: Center for Disease Control (1974).

La enfermedad. Las personas son tan sensibles al botulismo que si en un alimento existen cantidades estimables de toxina, todas aquéllas que lo coman enferman y la ingestión de pequeñas porciones del alimento, una sola vaina de judías verdes, unos pocos guisantes, puede producir la enfermedad y la muerte. Los síntomas típicos del botulismo suelen aparecer entre las 12 y las 36 horas, aunque es posible que se necesite un tiempo mayor o menor. Los síntomas más precoces suelen consistir en un trastorno intestinal agudo seguido de náuseas y vómitos y posiblemente de diarrea, junto con cansancio, vértigo y cefalalgia. Más tarde hay estreñimiento. Es posible que al principio exista visión doble, pudiéndose observar dificultad para deglutir y para hablar. Es posible que los enfermos se quejen de sequedad de boca y de constricción de la garganta, y es posible que la lengua aumente de grosor y se vuelva saburral. La temperatura corporal del enfermo es normal o inferior a la normal. Los músculos de contracción involuntaria se paralizan, la parálisis se extiende a los músculos del aparato respiratorio y al músculo cardíaco, y la muerte suele sobrevenir como consecuencia de parada respiratoria. En las intoxicaciones producidas por las toxinas de los tipos A, B, y E, los síntomas son parecidos, aunque las náuseas, los vómitos, y la retención de orina suelen ser más graves en los casos de intoxicación por toxina de tipo E. En los casos mortales, la muerte suele sobrevenir transcurridos de 3 a 6 días después

de haber sido ingerido el alimento que contenía la toxina, aunque este tiempo puede ser más corto o más largo.

El único procedimiento que se conoce para tratar con buenos resultados el botulismo es la administración de antitoxina. Por desgracia, la administración de antitoxina no suele dar buenos resultados si se inyecta después de haber aparecido los síntomas de botulismo, aunque siempre se debe utilizar lo más pronto posible ya que entonces puede resultar eficaz. Otros tratamientos que se utilizan en el botulismo son: la respiración artificial, mantener sedado al enfermo, mantener el equilibrio de líquidos del organismo y, tal vez, los tratamientos de eliminación.

Condiciones necesarias para la presentación de un brote. Para que se pueda presentar un brote de botulismo son necesarias las siguientes condiciones: (1) existencia de esporas de *C. botulinum* de los tipos A, B, o E en el alimento que se enlata o que se somete a cualquier otro tipo de tratamiento, (2) un alimento en el que las esporas sean capaces de germinar y en el que los clostridios sean capaces de multiplicarse y de producir toxina, (3) supervivencia de las esporas del microorganismo, por ejemplo como consecuencia de un tratamiento térmico insuficiente en el enlatado, o como consecuencia de cualquier otro tratamiento incorrecto, (4) después del tratamiento, condiciones del medio que permitan la germinación de las esporas, la multiplicación del microorganismo y la producción de toxina por el mismo, (5) cocción del alimento insuficiente para inactivar la toxina, y (6) ingestión del alimento que contiene la toxina.

Prevención de los brotes. Los procedimientos y precauciones para la prevención del botulismo que se han citado en el estudio que antecede, comprenden: (1) el empleo de tratamientos térmicos autorizados para los alimentos enlatados, (2) el rechazo de todos los botes con gas (hinchados) o de los alimentos enlatados que presenten cualquier otro tipo de alteración, (3) la negativa a ni siquiera probar un alimento dudoso, (4) evitar el consumo de alimentos que han sido cocidos, guardados, y que después no han sido suficientemente calentados, (5) la ebullición de todo alimento sospechoso durante 15 minutos como mínimo. A esta lista de precauciones se podría añadir la de no consumir alimentos crudos ni precocinados que hayan sido congelados, descongelados, y mantenidos a temperatura ambiente. Para prevenir el botulismo debido al consumo de pescado ahumado se ha recomendado (1) mantener unas condiciones higiénicas apropiadas durante todo el tiempo que se están elaborando y manipulando los alimentos, (2) durante el ahumado o después del mismo, el pescado debe alcanzar una temperatura de por lo menos 82°C durante 30 minutos en la parte más fría, (3) el pescado debe ser congelado inmediatamente después de su envasado y se debe mantener congelado, y (4) todos los envases que contienen pescado congelado deben ser rotulados con la siguiente advertencia: «Perecedero»-«Manténgase congelado».

Botulismo infantil

A finales de la década de los años 1970 se admitió el botulismo infantil como una enfermedad con entidad propia. Desde entonces se han diagnosticado cientos de

casos. La enfermedad se diferencia del botulismo de origen alimentario en que parece ser que la toxina se libera in vivo tras la multiplicación del microorganismo en el intestino. Muchos de los niños implicados habían padecido estreñimiento predisponente. Los síntomas clínicos comprenden: debilidad, falta del reflejo de succión, pérdida del control de la posición de la cabeza*, y disminución del reflejo de prensión. La infección de los ratones lactantes con esporas de *C. botulinum* da como resultado la producción de toxina en el intestino de aproximadamente el 50 por cien de los ratones. Parece ser que los ratones adultos no pueden ser infectados de esta forma. No obstante, en ratones adultos exentos de microorganismos se puede instaurar la infección. Estas observaciones y el hecho de que muchos niños presentan estreñimiento antes de padecer la infección, indican la importancia que tiene la existencia de una flora intestinal normal.

Desde principios de la década de los años 1970, el número de casos registrados anualmente ha aumentado de forma importante y en la actualidad normalmente es más elevado que el número de casos de botulismo de origen alimentario (Fig. 24.3).

Intoxicación alimentaria por *Staphylococcus*

Una de las intoxicaciones alimentarias que se presentan con mayor frecuencia es la originada por la ingestión de la enterotoxina que se forma en los alimentos cuando en los mismos se multiplican ciertas cepas de *Staphylococcus aureus*. La toxina recibe la denominación de **enterotoxina** porque produce gastroenteritis o inflamación de la mucosa que reviste el tracto gastrointestinal.

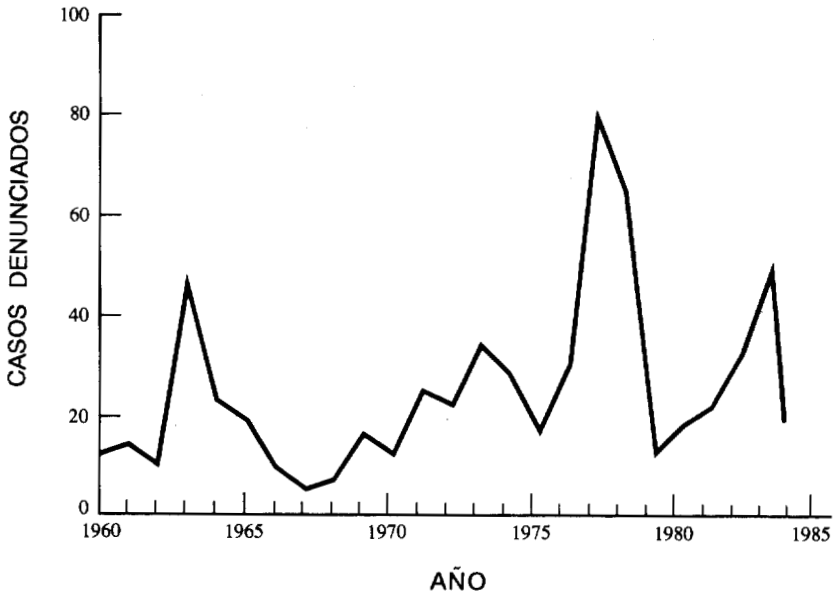
El microorganismo. Se trata de un estafilococo típico, que se presenta en acúmulos parecidos a los racimos de uvas, en parejas o en forma de cadenas cortas (Fig. 24.4). Sobre medios sólidos crece dando colonias que suelen ser de color dorado o amarillo, aunque es posible que algunas carezcan de pigmento. La mayoría de los cultivos que producen enterotoxina son coagulasa-positivos (coagulan el plasma sanguíneo), producen una termonucleasa estable, son facultativos en cuanto a su exigencia de oxígeno en un medio glucosado complejo, aunque en aerobiosis crecen mejor que en anaerobiosis. No obstante, no todos los estafilococos coagulasa-positivos son necesariamente enterotoxigénicos. Algunos cocos productores de toxina son muy halotolerantes (toleran concentraciones de NaCl del 10 al 20 por cien), y también toleran bastante bien los nitritos y de aquí que, si las demás condiciones del medio son favorables, sean capaces de crecer en las soluciones de adobado y en la superficie de las carnes en adobo o adobadas. También toleran bastante bien los azúcares disueltos (de un 50 a un 60 por cien de sacarosa). Son fermentativos y proteolíticos aunque en la mayoría de los alimen-

* N. del T.: Pérdida del reflejo tónico del cuello.

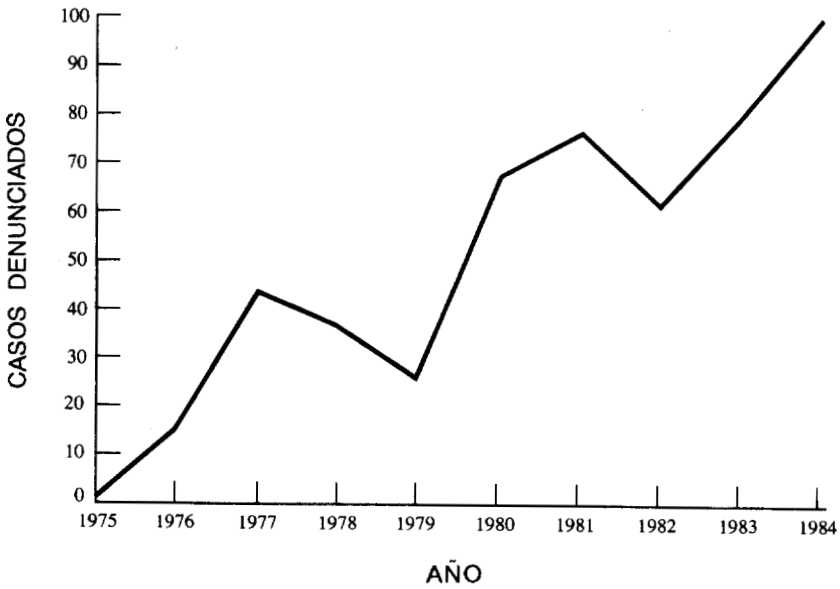
tos no suelen producir olores repugnantes ni los convierte en alimentos de aspecto desagradable. *S. aureus* produce seis enterotoxinas (A, B, C₁, C₂, D, y E) serológicamente diferentes que se diferencian en cuanto a su toxicidad; la mayoría de las intoxicaciones alimentarias por toxina estafilocócica son producidas por la toxina de tipo A. Las cepas de *S. aureus* productoras de enterotoxina, producen, además, otras toxinas. El intervalo de las condiciones que permiten el crecimiento del estafilococo y, por consiguiente, la producción de enterotoxina, depende del alimento implicado. En general, cuanto mejor es el alimento como medio para que se multipliquen los cocos, tanto más amplios son los intervalos correspondientes a la temperatura, al pH o a la a_w dentro de los cuales puede tener lugar su multiplicación.

El intervalo de temperaturas dentro del cual tienen lugar la multiplicación y la producción de toxina está comprendido entre los 4 y los 46°C aproximadamente, según el alimento de que se trate. En la Figura 24.5 se representan los tiempos medios de generación en varios alimentos. *S. aureus* se multiplica con mayor rapidez a temperaturas comprendidas entre 20 y 45°C; no obstante, la multiplicación a 45°C es cuatro veces más rápida que a 20°C (Figura 24.5). La temperatura mínima en las natillas, en la leche condensada y en el pollo a la king se encuentra en torno a los 6,7 a 7,8°C, aunque en la infusión de corazón de buey es de unos 10°C y es más elevada en la ensalada de jamón. No cabe duda que a estas temperaturas mínimas la multiplicación es muy lenta, y de que el tiempo necesario para que se obtenga un número suficiente de microorganismos para que produzcan concentraciones detectables de toxina, es mayor que el tiempo durante el cual permanecen almacenados la mayoría de los alimentos refrigerados. El pH mínimo de crecimiento en aerobiosis es menor que en anaerobiosis; en la carne, por ejemplo, el pH mínimo de crecimiento es de 4,8 en aerobiosis y de 5,5 en anaerobiosis, mientras que el pH máximo de crecimiento es de aproximadamente 8,0. La a_w mínima de crecimiento tiene un valor de 0,86 en aerobiosis y de aproximadamente 0,90 en anaerobiosis. Un tratamiento térmico subletal reduce la tolerancia a la sal. Otros tipos de bacterias de los alimentos que compiten con el estafilococo, pueden reprimir su multiplicación lo suficiente como para retardar o impedir la producción de toxina, o bien las bacterias que lo alteran pueden convertirlo en no

Figura 24.3. Casos de botulismo registrados anualmente en los Estados Unidos. (a) Botulismo transmitido por alimentos. En el año 1984 se denunciaron dieciséis brotes (19 casos) de botulismo transmitido por alimentos. Dos de estos brotes afectaron a cuatro personas y se relacionaron con la ingestión de alimentos fermentados. Fueron producidos por la toxina de tipo E. La toxina de tipo A se relacionó con trece de los casos restantes. La toxina de tipo B se relacionó con un solo caso, mientras que por lo que se refiere a otro caso no se determinó el tipo de toxina responsable. (b) Botulismo infantil. De los noventa y nueve casos de botulismo denunciados en niños durante el año 1984, algo más de la mitad (sesenta y seis casos) se presentaron en niñas. La edad del conjunto de los enfermos osciló entre las 3 y las 37 semanas. La toxina de tipo A se encontró en cuarenta y dos casos (42 por cien), la toxina de tipo B en cincuenta y seis (57 por cien), y en uno de ellos se encontraron al mismo tiempo las toxinas de los tipos A y B. (*Center for Disease Control, Annual Summaries for 1984, 1986.*)



(a)



(b)

comestible antes de que sea peligroso. La eficacia de esta represión depende del tipo y del número de microorganismos que compiten con el estafilococo, del tipo de alimento, de la temperatura y del tiempo. Normalmente, los estafilococos penetran en los alimentos en escasa cantidad y son superados en número por las bacterias que compiten con ellos en los alimentos frescos. No obstante, es posible que en los alimentos que han sido sometidos a tratamiento térmico esta competición no exista, razón por la cual es posible que tenga lugar la multiplicación sin restricción de los estafilococos.

Un millón de estafilococos por mililitro o por gramo de alimento perecedero será inactivado por una temperatura de 66°C mantenida durante 12 minutos como mínimo, o por una temperatura de 60°C mantenida durante un tiempo de 78 a 83 minutos. La termoresistencia varía algo según de qué alimento y de qué cepa de estafilococo se trate. Los valores de *D* en la natillas son de unos 7,7 a 7,8 minutos, y en el pollo a la king de unos 5,2 a 5,4 minutos. En los alimentos húmedos, una dosis de rayos gamma de unos 0,37 a 0,48 Mrad destruirá la mayoría de los estafilococos.

Las fuentes a partir de las cuales los estafilococos que producen intoxicaciones alimentarias penetran en los alimentos son casi siempre el hombre y los animales. Las vías nasales de muchas personas están cargadas de estos microorganismos, los cuales son una causa corriente de infecciones de los senos nasales. Al parecer, la piel del hombre es una fuente de estas bacterias solamente en el caso de que procedan de las vías nasales o de infecciones locales. Los estafilococos cada vez adquieren mayor importancia como agentes de mastitis en las vacas, y algunos de estos cocos son capaces de producir enterotoxina en la leche o en los productos lácteos. Normalmente, el aire es una fuente de cocos relativamente sin importancia, excepto en el caso de que sean aportados al mismo a partir de fuentes humanas.

La enterotoxina. Las enterotoxinas estafilocócicas son proteínas puras con pesos moleculares comprendidos entre 26.000 y 30.000. Las cadenas sencillas de polipéptidos están unidas entre sí por puentes disulfuro para formar el característico **bucle de cistina**. Como quiera que muchos de los aminoácidos de este bucle son parecidos en cada uno de los tipos de enterotoxina, se cree que constituyen la fracción tóxica de la molécula. De los distintos tipos de enterotoxina, los tipos A y D son los que con mayor frecuencia se relacionan con brotes de intoxicaciones alimentarias. Las concentraciones elevadas de enterotoxina sólo se producen después de una abundante multiplicación del estafilococo; para que se produzca enterotoxina se debe obtener una población de por lo menos varios millones de microorganismos por mililitro o por gramo. Por consiguiente, las condiciones que favorecen la producción de toxina son las mejores para que tenga lugar la multiplicación del estafilococo. La toxina se produce con una rapidez notable a temperaturas comprendidas entre 15,6 y 46,1°C y la producción es óptima a 40°C. En condiciones óptimas, la enterotoxina se puede poner de manifiesto entre las 4 y las 6 horas. Cuanto más baja sea la temperatura durante

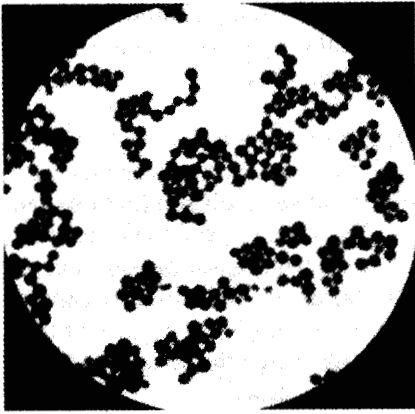


Figura 24.4. Microfotografía de *Staphylococcus aureus*. (Tomada de J. Nowack).

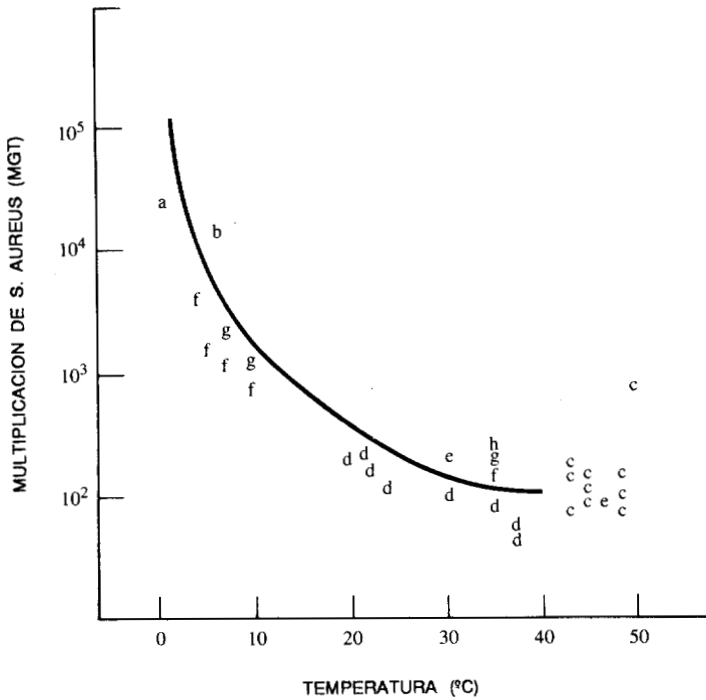


Figura 24.5. Tiempos medios de generación (MG) de *Staphylococcus aureus* en: (a) carne picada cruda de vaca, (b) huevos frescos crudos, (c) carne de vaca asada (rosbif), (d) leche desnatada, leche entera y leche cruda, (e) pollo asado, (f) flan de huevo, (g) pollo a la king, (h) ensalada de jamón. Coeficiente de regresión, $r = 0,89$. (Tomado de Rivituso y Synder, 1980).

la multiplicación, tanto más tiempo tardará en producirse la suficiente cantidad de enterotoxina que origine la intoxicación. En un medio de cultivo apropiado se ha podido demostrar la presencia de enterotoxina en un plazo de 3 días a 18°C y en un plazo de 12 horas a 37°C, aunque no se ha podido demostrar su presencia en el medio en un plazo de 3 días a 15°C, de 7 días a 9°C, o de 4 semanas a una temperatura comprendida entre 4 y 6,7°C. Existe mayor probabilidad de que los estafilococos produzcan enterotoxina cuando no existen microorganismos competitivos, cuando estos son pocos, o cuando por alguna razón están inhibidos. Por consiguiente, un alimento que ha sido contaminado con estafilococos después de haber sido sometido a tratamiento térmico sería un alimento apropiado para que en él se produjese toxina. Se ha comprobado que los estafilococos que crecen en el tracto intestinal de los enfermos producen la toxina cuando el tratamiento con antibióticos ha destruido o inactivado otras bacterias competitivas allí existentes. Evidentemente, el tipo de alimento influye en la cantidad de enterotoxina producida; en el salmón, por ejemplo, se produce poca cantidad, mientras que en las carnes y en los pasteles rellenos de crema se produce mucha cantidad. Se supone que la existencia de grandes cantidades de almidón y proteína en los alimentos acrecienta la producción de toxina estafilocócica.

Una propiedad importante de las enterotoxinas es su termoestabilidad. La interpretación de los datos relativos a la inactivación de la enterotoxina debe incluir una ponderación del procedimiento utilizado para realizar la prueba. El estudio de la termoestabilidad de las enterotoxinas se complica más como consecuencia (1) de la variación de la concentración de cada uno de los tipos de enterotoxinas en los alimentos, (2) del medio en el cual se somete a calentamiento, y (3) de la temperatura de calentamiento; algunas experiencias indican que a temperaturas más bajas, la inactivación de las enterotoxinas por el calor es mayor que a temperaturas más elevadas. Esto se ha explicado por un fenómeno de agregación que se produce cuando se emplean temperaturas bajas. Además, la enterotoxina que ha sido inactivada por el calor utilizando una temperatura baja, en algunos alimentos se puede reactivar. En general, ni los tratamientos de pasteurización (72°C durante 15 segundos) ni el calentamiento a temperaturas muy elevadas (143,3°C durante 9 segundos) no serían suficientes para inactivar las enterotoxinas. En la Tabla 24-6 se ofrecen algunas características de la inactivación de las enterotoxinas estafilocócicas por el calor. Es evidente la influencia que tienen la concentración de enterotoxina y la naturaleza del medio en el que se encuentra en suspensión. La enterotoxina de tipo B es la más termorresistente, según indica su valor z más elevado (Tabla 24-6). El cocinado normal de los alimentos no destruye la toxina formada en su interior antes de someterlos a calentamiento. Tales alimentos podrían producir intoxicaciones, si bien no se podría demostrar que contuviesen estafilococos vivos.

Incidencia de la enfermedad. En la Tabla 24.1 se ofrecen los casos registrados en los Estados Unidos. Ni en los Estados Unidos ni en ninguno de sus estados, probablemente no existan datos fiables relativos al número de casos de

Tabla 24.6. Características de la inactivación por el calor de las enterotoxinas estafilocócicas.

Tipo de enterotoxina	Prueba experimental utilizada	Sensibilidad o dosis inyectada o administrada por vía oral	Concentración inicial de toxina µg/ml	Medio de calentamiento*	Temp. de calentamiento °F	F ₂₅₀ minutos	valor z, °F
A	Administración oral al mono	47,25 µg	7	Agua destilada	212-250	8	46
A	Gato; inyección intravenosa	2,3 µg	7	Agua destilada	212-250	11	48
B	Serológica; doble difusión en tubo	0,7 µg/ml	30	Tampón de veronal 0,04 M de pH 7,2	204-259	19-16,4	55-58
	Gato; inyección intravenosa	2,0 µg	30	Tampón de veronal 0,04 M de pH 7,2	240	32,5	
A	Serológica; difusión simple en tubo	1 µg/ml	21	Tampón de veronal 0,04 M de pH 7,2	212-250	22	50
B	Serológica; difusión simple en tubo	1 µg/ml	10-100	Tampón de veronal 0,04 M de pH 7,2	250-320 320	62 2,8	52

* Dializado del medio en el que han crecido los estafilococos disueltos en el disolvente que para cada caso se indica.
Fuente: Resumen de varios autores por Tatini (1976).

intoxicación estafilocócica que hagan referencia a un determinado período de tiempo. Las intoxicaciones no se suelen denunciar ni publicar a menos que se trate de brotes de grandes proporciones, como por ejemplo con ocasión de romerías, banquetes o asambleas. Se sabe, no obstante, que en un elevado porcentaje de la totalidad de los casos registrados como intoxicaciones o como infecciones alimentarias, se trata en realidad de intoxicaciones estafilocócicas y que muchos de nosotros padecemos esta enfermedad a lo largo de nuestra existencia.

Alimentos implicados. De los muchos tipos de alimentos que han sido implicados como causantes de intoxicaciones alimentarias estafilocócicas, los productos de pastelería rellenos de crema o de nata, el jamón y la carne de ave han originado la mayoría de los brotes. Alrededor del 75 por cien de la totalidad de los brotes de intoxicaciones alimentarias estafilocócicas se presenta como consecuencia de la insuficiente refrigeración de los alimentos. Entre los alimentos implicados como causantes de intoxicaciones alimentarias se incluyen otras carnes y productos cárnicos, el pescado y los productos derivados del mismo, la leche y los productos lácteos, las salsas en las que entra como ingrediente la nata, las ensaladas, los budines, las natillas, las empanadas, y los aderezos de las ensaladas. Los rellenos de los productos de pastelería suelen ser medios de cultivo apropiados en los cuales los estafilococos son capaces de multiplicarse durante el tiempo que estos alimentos se mantienen a temperatura ambiente. Se ha señalado que se ha producido toxina incluso en un relleno a base de un sucedáneo de la nata. La lengua y los jamones medio curados, los curados rápidamente, los ablandados, o los precocinados, a pesar de ser alimentos perecederos, con frecuencia se conservan sin la conveniente refrigeración, pues han sido elaborados sin dificultad alguna utilizando el antiguo procedimiento de curar jamones al estilo campestre. Si el pavo contaminado que no se puede vender, o cualquier otra carne de ave, junto con el jugo y el condimento, se deja fuera de la nevera, puede producir una intoxicación. Aquellos alimentos que son excesivamente ácidos para que en los mismos se puedan multiplicar los estafilococos, es posible que tengan disminuida su acidez como consecuencia de los ingredientes que se les añaden, como por ejemplo huevos y nata, y en tal caso se convierten en peligrosos. En las bandejas de las cafeterías y restaurantes en las que se mantienen calientes los alimentos cocinados mediante vapor y en las máquinas expendedoras de alimentos que conservan calientes los alimentos durante tiempos prolongados, los estafilococos se pueden multiplicar y producir toxina si no se controlan convenientemente los tiempos y las temperaturas.

La enfermedad. Los distintos individuos tienen una diferente sensibilidad a la intoxicación estafilocócica, de forma que en un grupo de personas que consuman un alimento que contenga toxina es posible que algunas enfermen gravemente mientras que unas pocas afortunadas resulten poco afectadas o no resulten afectadas en absoluto. En este tipo de intoxicación, el período de incubación (tiempo transcurrido entre la ingestión del alimento y la aparición de los primeros

síntomas) suele ser corto, pues suele tener una duración de 2 a 4 horas (oscilando desde 1 a 7 horas), diferenciándose a este respecto de las demás intoxicaciones e infecciones alimentarias corrientes, las cuales suelen tener un período de incubación de mayor duración.

Los síntomas más corrientes en el hombre son: salivación, a continuación náuseas, vómitos, arcadas, retortijones abdominales de intensidad variable, y diarrea. En los casos de intoxicación grave, en las heces y en los vómitos se pueden encontrar sangre y mucosidad. Es posible que se presenten cefalalgia, calambres musculares, sudoración, escalofríos, abatimiento, pulso débil, shock, y respiración superficial. Por lo general, en lugar de fiebre, se registra una temperatura corporal inferior a la normal. Su curso es corto, generalmente de un día o dos, y normalmente la curación es total y sin complicaciones. La mortalidad es extraordinariamente baja. Por lo general, no se administra tratamiento alguno, a no ser que se trate de casos graves, en cuyo caso se puede administrar solución salina por vía parenteral con el fin de restablecer el balance salino y combatir la deshidratación. Los brotes de intoxicaciones alimentarias se atribuyen con frecuencia a los estafilococos teniendo en cuenta el tipo de alimento implicado, el corto período de incubación, y tal vez la demostración de la existencia de estafilococos en el alimento. El verdadero diagnóstico de la intoxicación dependería, no obstante, del aislamiento de los estafilococos y de la comprobación de que éstos producen enterotoxina, o del aislamiento y detección de la enterotoxina.

Condiciones necesarias para la presentación de un brote. Para que se presente un brote de intoxicación alimentaria estafilocócica son necesarias las condiciones siguientes: (1) El alimento debe contener estafilococos que elaboren enterotoxina, (2) el alimento debe ser un medio de cultivo apropiado para que los estafilococos se multipliquen y elaboren la toxina, (3) la temperatura debe ser favorable para que se multipliquen los cocos, y debe transcurrir el suficiente tiempo para que se produzca la enterotoxina, y (4) el alimento que contiene la toxina debe ser ingerido.

Prevención de los brotes. Las medidas para evitar la presentación de brotes de intoxicación alimentaria por estafilococos incluyen: (1) evitar la contaminación de los alimentos con estafilococos, (2) impedir la multiplicación de los estafilococos, y (3) la destrucción de los estafilococos en los alimentos. La contaminación de los alimentos se puede reducir observando las normas generales de higiene, utilizando ingredientes exentos de estafilococos, por ejemplo, utilizando leche esterilizada en lugar de leche fresca, y manteniendo a los empleados alejados de los alimentos en el caso de que estos trabajadores padezcan infecciones estafilocócicas bajo la forma de resfriados, diviesos, forúnculos, etc. La multiplicación de los cocos se puede impedir mediante la apropiada refrigeración de los alimentos y, en algunos casos, ajustando su pH a un valor más bajo. También se ha propuesto añadirles un agente bacteriostático, como por ejemplo serina o un antibiótico. Algunos alimentos se pueden pasteurizar con el fin de

destruir los estafilococos antes de exponerlos a las temperaturas ordinarias; con esta finalidad se pasteurizan al horno los buñuelos y las ensaimadas rellenas de crema a una temperatura comprendida entre 190,6 y 218,3°C.

Salmonelosis

La salmonelosis puede ser consecuencia de la ingestión de células viables pertenecientes a una especie del género *Salmonella*. Se trata de la infección bacteriana de origen alimentario que se presenta con mayor frecuencia y desde hace algunos años es la enfermedad bacteriana transmitida por alimentos que se presenta con mayor frecuencia (Tabla 24.1). Además del síndrome típico de las intoxicaciones salmonelósicas de origen alimentario, tras la ingestión de salmonelas se pueden presentar otros dos síndromes de enfermedad, y de aquí que en la Tabla 24.7 se comparen entre sí. La clasificación del género *Salmonella* es confusa, y la denominación de los microorganismos no sigue las reglas usuales de nomenclatura. Desde el punto de vista histórico, las denominaciones asignadas a las salmonelas primeramente aisladas se relacionaron con su patogenicidad en las personas o en los animales- por ejemplo *S. typhimurium*, agente de la salmonelosis del ratón, y *S. typhi*, agente de la fiebre tifoidea del hombre. Por lo que se refiere a las infecciones humanas, este procedimiento para designar las salmonelas dió paso a la denominación basada en el sitio o localidad del primer aislamiento, por ejemplo, *S. london*, *S. panama* y *S. stanleyville*. En la actualidad, los aislamientos de microorganismos del género *Salmonella* se identifican utilizando el esquema de Kauffman-White, método serológico en el que los microorganismos se pueden representar mediante cifras y letras correspondientes a los diferentes sitios antigénicos: O (somáticos), Vi (capsulares), y H (flagelares). Este método sólo identifica los antígenos de importancia diagnóstica y no proporciona un registro completo de los antígenos de un determinado aislamiento. El término **serovar**¹ se utiliza para diferenciar cepas con distintos complementos antigénicos. Se puede establecer otra subdivisión en **biovares**², esto es, distintas pautas de fermentación de los azúcares presentadas por microorganismos pertenecientes a la misma serovar. Este detalle es útil en las investigaciones epidemiológicas porque tanto las serovares como las biovares se pueden utilizar como «marcadores» para trazar la vía de difusión que realmente ha seguido un brote hasta llegar a su origen. En la actualidad se conocen más de mil serovares.

Las infecciones por *Salmonella* a las que se les califica de intoxicaciones alimentarias pueden ser producidas por gran número de serovares (Tabla 24.7). Por lo general, la bacteria infectante se ha multiplicado en el alimento hasta alcanzar

¹ N. del T.: Serovariedad o variedad serológica.

² N. del T.: Biovariedades o variedades biológicas.

Tabla 24.7. Síndromes salmonelósicos en las personas.

Enfermedad	Agente causal	Constitución del microorganismo	Período de incubación, signos y síntomas	Origen, reservorio y epidemiología
Salmonelosis	<i>Salmonella choleraesuis</i> , <i>enteritidis</i> , <i>typhimurium</i> , <i>heidelberg</i> , <i>derby</i> , <i>java</i> , <i>infantis</i> , <i>montevideo</i> , etc.	Posee antígeno O (somático) y antígeno H (flagelar) de dos fases, más de 2.000 serovariedades conocidas, aunque las <i>infantis</i> , que se presentan corrientemente sólo son 50 aprox.	De 5 a 72 horas, normalmente de 12 a 36 horas; diarrea, dolor abdominal, escalofríos, fiebre, vómitos, hidratación abatimiento, anorexia cefalalgia, malestar; varios días de duración; también puede haber enteritis o infección local	Heces infectadas de los animales, domésticos o salvajes, y de las personas; son más sensibles los niños, los ancianos, las personas mal alimentadas y aquéllas con enfermedades concomitantes; el estado de portador suele durar desde algunos días a algunas semanas, aunque a veces puede persistir durante meses
Fiebre tifoidea (fiebre entérica)	<i>Salmonella typhi</i>	Parecida a la de las demás salmonelas, pero adaptada al hombre; posee antígeno Vi (capsular) así como también a antígenos O y H	De 7 a 28 días, con una media de 14 días; en los brotes de origen alimentario el período de incubación puede ser más corto; hay septicemia y está afectado el tejido linfoide; malestar, cefalalgia, fiebre alta y persistente, tos, anorexia, vómitos, estreñimiento, pulso lento, abdomen sensible y distendido, esplenomegalia, hemorragias nasales, manchas rosadas en el tórax y en el abdomen, sudoración, escalofríos, delirio, obnubilación del sensorio, diarrea, hemorragias intestinales; tienen lugar recidivas; convalecencia larga, de 1 a 8 semanas	Heces y orina de las personas infectadas; en la transmisión, son importantes los portadores; algunas personas son portadoras durante mucho tiempo; el agua también interviene en la transmisión

(Continúa)

Tabla 24.7. (Continuación).

Enfermedad	Agente causal	Constitución del microorganismo	Período de incubación, signos y síntomas	Origen, reservorio y epidemiología
Fiebre paratifoidea (fiebre entérica)	<i>Salmonella enteritidis</i> , <i>paratyphi</i> A, <i>paratyphi</i> B, <i>paratyphi</i> C, <i>sendai</i>	Parecida a la de otras salmonelas pero más o menos adaptada al hospedador humano	De 1 a 15 días; infección de la sangre; cefalalgia, fiebre persistente, sudoración abundante, náuseas, vómitos, dolor abdominal, esplenomegalia, diarrea, a veces manchas rosadas; más benigna y de menor duración (1 a 3 semanas) que la fiebre tifoidea	Heces y orina de las personas infectadas; los portadores son importantes en la transmisión

Fuente: Adaptada de Bryan, F. L. 1982. Diseases transmitted by foods. DHEW No. (CDC) 76-8237. Center for Disease Control, Atlanta, Ga.

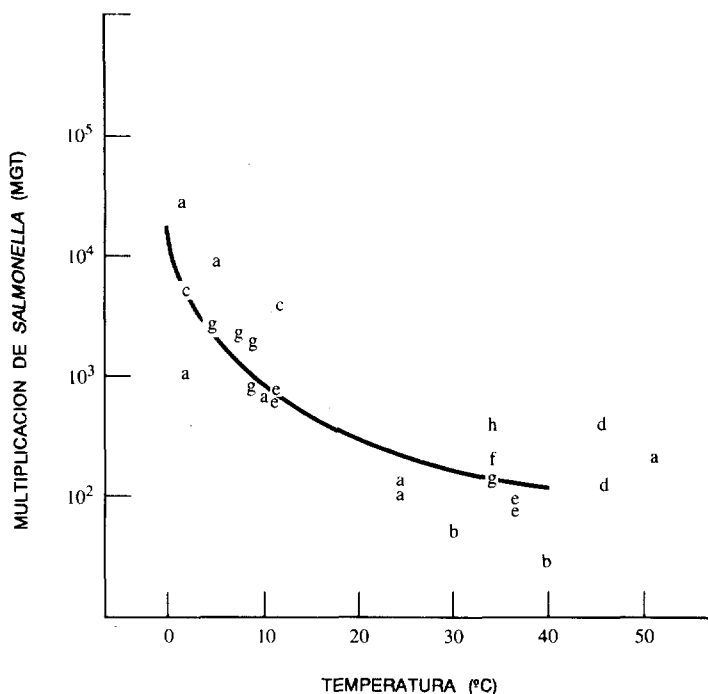


Figura 24.6. Tiempos medios de generación (MGT) de *Salmonella* en: (a) carne picada de vaca cruda, (b) pollo asado, (c) tocino entreverado (bacon), (d) carne de vaca soasada (rosbif), (e) leche, (f) flan de huevo, (g) pollo a la king, y (h) ensalada de jamón. Coeficiente de regresión $r = 0,66$. (Tomado de Rivituso y Synder, 1981.)

cifras elevadas, aumentando de esta forma la posibilidad de que se produzca la infección, y con frecuencia originando brotes de enfermedad en familias o en otros grupos de mayor número de personas. En contraposición, otros patógenos intestinales, tales como los microorganismos que producen las disenterías y las fiebres tifoidea y paratifoidea, antes de la aparición de los síntomas, suelen tener un período de incubación de mayor duración y, excepto cuando se trata de epidemias, sólo se presentan en forma de casos aislados.

El microorganismo. Las salmonelas son bacilos gramnegativos asporógenos que fermentan la glucosa, generalmente con producción de gas, pero normalmente no fermentan ni la lactosa ni la sacarosa. Lo mismo que sucede en otras bacterias, cuando el medio de cultivo es apropiado, crecen dentro de intervalos de temperaturas, de pH, y de a_w más amplios que cuando se trata de un medio de cultivo con escasez de nutrientes. Por ejemplo, las temperaturas mínimas de crecimiento en los alimentos oscilan desde 6,7 a 7,8°C en el pollo a la king hasta más de 10°C en la crema de pastelería y en la ensalada de jamón. Su temperatura

máxima de crecimiento es de unos 45,6°C. Las salmonelas crecen bien a temperatura ambiente, si bien su temperatura óptima de crecimiento es de aproximadamente 37°C. En la Figura 24.6 se representan los tiempos medios de generación en varios alimentos. El intervalo de pH de crecimiento se halla comprendido entre los valores 4,1 y 9,0, multiplicándose, por lo tanto, en alimentos de baja acidez; se ha comprobado que el pH de 5,5 a 5,7 de la ensalada no es apropiado para su multiplicación. Su a_w mínima de crecimiento varía para cada alimento aunque es de aproximadamente 0,93 a 0,95. Además, las especies y cepas de *Salmonella* se diferencian por su termorresistencia y por la influencia que los factores ambientales ejercen en el crecimiento. En función del alimento y del serotipo de salmonela, los valores $D_{60^\circ\text{C}}$ varían desde 0,06 a 11,3 minutos. Los tratamientos térmicos que se aconsejan para destruir las salmonelas en los alimentos perecederos son parecidos a los que se aconsejan para destruir los estafilococos, es decir, calentamiento de los alimentos a una temperatura de 66°C y mantenimiento de esta temperatura en todas las partes del alimento por lo menos durante 12 minutos (o a 60°C durante 78 a 83 minutos). Los valores de F_{140} (minutos necesarios para reducir un inóculo a una concentración no detectable a una temperatura de 140°F) calculados para dos especies de salmonelas fueron de 78 y 19 minutos, respectivamente, en la crema de pastelería, y de 81,5 y 3,1 minutos en el pollo a la king. Estos resultados ponen de manifiesto cómo el tratamiento térmico necesario para destruir las salmonelas depende de la especie de *Salmonella* y del alimento que se somete a calentamiento.

La probabilidad de infección por ingestión de un alimento que contiene salmonelas depende de la resistencia del consumidor, de la infecciosidad de la cepa de *Salmonella* en cuestión, y del número de microorganismos ingeridos. Para que las especies menos infecciosas, como por ejemplo *S. pullorum*, provoquen infección, se debe ingerir un número de microorganismos del orden de cientos de millones o de billones, aunque cuando se trata de especies más infecciosas, por ejemplo *S. enteritidis*, generalmente sería suficiente la ingestión de un número de microorganismos bastante menor (un millón aproximadamente). Parece ser que las salmonelas alcanzan cifras importantes en los alimentos sin producir alteraciones detectables de su aspecto, de su olor, e incluso de su sabor. No cabe duda que cuanto mayor sea el número de cualquiera de estos microorganismos patógenos que contiene el alimento, tanto mayor es la probabilidad de que provoquen infección en la persona que lo ingiere y tanto más corto es el período de incubación.

Fuentes de *Salmonella*. Las personas y los animales son directa o indirectamente la fuente de contaminación de los alimentos con salmonelas. Los microorganismos pueden proceder de enfermos clínicos o de portadores. Las serovares aisladas con mayor frecuencia, como *S. typhimurium* y otras (véase la Tabla 24.7), producen la gastroenteritis humana, aunque puede producirla cualquiera de las muchas más serovares existentes. Las salmonelas también pueden proceder de los gatos, de los perros, de los cerdos, y de los bóvidos, aunque las fuentes más

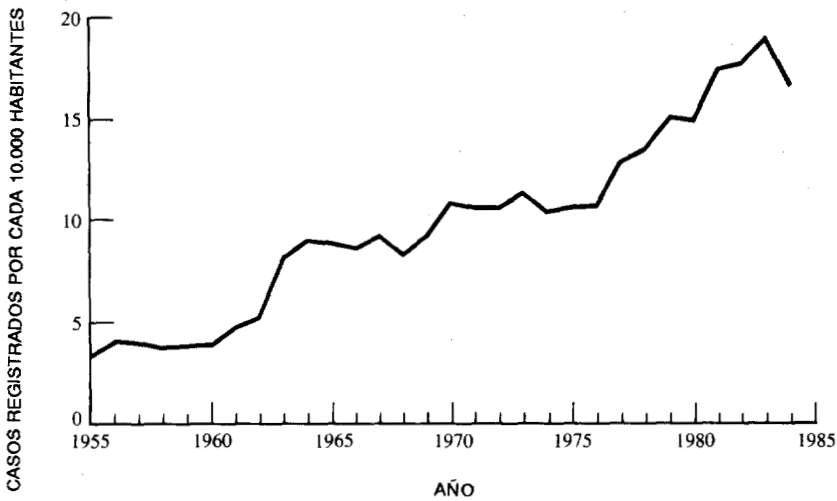


Figura 24.7. Casos de salmonelosis registrados anualmente en los Estados Unidos de 1955 a 1984. En 1984 se observó una ligera disminución del número de casos registrados de salmonelosis humana. En los Estados Unidos, esta disminución muy probablemente represente una variación anual más que una inversión de la secular tendencia a un aumento del número de casos. Se cree que este aumento constante del número de casos registrados refleja una incidencia creciente de la enfermedad más que un registro más eficaz de los mismos. (*Centers for Disease Control, Annual Summaries for 1984, 1986.*)

importantes de las salmonelas de los alimentos son las aves y sus huevos y los roedores. Los pollos, los pavos, los patos, y los gansos pueden resultar infectados con cualquiera de los numerosos tipos de *Salmonella*, los cuales, en caso de infección de estas aves, se encuentran en las heces, en los huevos de gallina, y en la carne de las canales. Aproximadamente la tercera parte de los alimentos implicados en los brotes de salmonelosis son carnes y productos derivados de las aves. Se ha prestado gran atención, como fuentes de *Salmonella*, tanto a los huevos provistos de cáscara como a los huevos líquidos, congelados, y desecados. Los roedores infectados, las ratas y los ratones, pueden contaminar con sus heces los alimentos no protegidos y, de esta forma, diseminar las salmonelas. Las moscas desempeñan un importante papel en la diseminación de las salmonelas, sobre todo por vehicularlas desde heces contaminadas a los alimentos. Parece ser que las cucarachas también son capaces de difundir la enfermedad.

Las modificaciones introducidas en los últimos años en el tratamiento, en el envasado y en la elaboración, tanto por lo que se refiere a los alimentos de consumo humano como por lo que se refiere a los piensos, han dado como resultado un claro aumento de las salmonelosis de origen alimentario. Las salmonelas han sido aportadas a los alimentos como consecuencia de utilizarse huevos rotos y huevos desecados en los productos de panadería, en los dulces, en los

helados, y en artículos alimenticios como son las tortas y las mezclas de las tortas para té. La elaboración de nuevos productos alimenticios puede hacer posible la multiplicación de las salmonelas o de otros microorganismos causantes de intoxicaciones alimentarias, aportados por un ingrediente en el cual han sido incapaces de multiplicarse, o bien estos microorganismos se pueden encontrar en el alimento en el momento de ser vendido y ser capaces de multiplicarse en él cuando se modifica para utilizarlo. La manipulación de alimentos en gran escala, como la que se realiza en almacenes y establecimientos, tiende a aumentar la difusión de la enfermedad, aumentando el riesgo de difusión las máquinas expendedoras de alimentos, lo mismo que los alimentos precocinados.

Los piensos, sobre todo los elaborados con subproductos de la carne o del pescado, pueden transmitir salmonelas a las aves de corral o a los animales de abasto. Incluso se ha sabido que los alimentos para los animales de compañía transmiten salmonelas a los animales domésticos, a partir de los cuales se han infectado niños.

Incidencia de la enfermedad. En la Tabla 24.1 y en la Figura 24.7 se indican el número de casos de salmonelosis humana (excluidos los correspondientes a las fiebres tifoidea y paratifoidea) registrados en los Estados Unidos durante los últimos años. Lo mismo que sucede en la mayoría de los síndromes de intoxicación alimentaria, el número de casos registrados probablemente represente sólo un pequeño porcentaje del número total de casos que realmente se presentan.

Alimentos implicados. En la producción de los brotes de infecciones por *Salmonella* se hallan implicados un gran número de alimentos distintos. Los alimentos implicados con mayor frecuencia son los distintos tipos de carnes, la carne de aves y los productos derivados de la misma, sobre todo si se mantienen sin refrigerar durante mucho tiempo. Las carnes frescas pueden contener bacterias del género *Salmonella* que produjeron la enfermedad en los animales sacrificados o pueden haber sido contaminadas por manipuladores. Los productos cárnicos, como las empanadas de carne, el picadillo, los embutidos, las carnes curadas (el jamón, el tocino entreverado, y la lengua), los sandwiches, y la salsa de ají¹, con frecuencia se dejan expuestos a temperaturas ambientales que permiten la multiplicación de las salmonelas. La carne de ave, su salsa y su jugo no deben ocasionar problemas si se manipulan y se cocinan convenientemente, si bien, lo mismo que el pescado y demás alimentos marinos y los productos derivados de los mismos, con frecuencia se manipulan de forma incorrecta. La leche y los productos lácteos, incluso la leche fresca, las leches fermentadas, los helados, y el queso, han producido infecciones salmonelósicas. Como quiera que los huevos pueden vehicular salmonelas, aquellos alimentos elaborados con

¹ N. del T.: La salsa de ají (o ajíaco) es una salsa espesa hecha con carne picada y ají (especie de pimiento); muy usada en América.

huevos, y que no han sido suficientemente cocidos o pasteurizados, por ejemplo, los pasteles rellenos de nata o de crema, los pasteles de nata, el postre conocido como «baked Alaska»¹, y la bebida denominada «eggnog»², pueden contener salmonelas vivas.

La enfermedad. Lo mismo que sucede en otras enfermedades infecciosas, las personas tienen distinta sensibilidad a las infecciones por *Salmonella*, aunque, en general, la morbilidad es elevada en todos los brotes. Según se ha indicado anteriormente, la sensibilidad de las personas depende de la especie y de la cepa de salmonela y del número total de bacterias ingeridas.

La salmonelosis se suele diferenciar de la intoxicación estafilocócica por su período de incubación más largo: suele ser de 12 a 36 horas para la primera y de unas 2 a 4 horas para la última. En algunas infecciones por *Salmonella* el período de incubación puede ser más corto (del orden de unas 5 horas) o más largo (de hasta 72 horas).

Los principales síntomas de toda infección gastrointestinal por *Salmonella* son: náuseas, vómitos, dolor abdominal, y diarrea que suele aparecer súbitamente. La diarrea a veces va precedida de cefalalgia y escalofríos. Otros síntomas de la enfermedad son: heces líquidas, verdosas y malolientes, abatimiento, debilidad muscular, lasitud, generalmente fiebre moderada, desasosiego, contracciones nerviosas, y somnolencia. La mortalidad es baja, siendo inferior al 1 por cien. La gravedad y duración de la enfermedad no sólo dependen de la cantidad de alimento ingerido, y por consiguiente del número de salmonelas ingeridas, sino también de la sensibilidad individual. La intensidad de los síntomas puede oscilar desde un ligero malestar y la existencia de diarrea hasta la presentación de la muerte en un plazo de 2 a 6 días. Los síntomas suelen persistir durante 2 a 3 días, transcurridos los cuales, la enfermedad cura sin complicaciones, aunque a veces se puede prolongar durante semanas e incluso meses. Entre un 0,2 y un 5 por cien de los enfermos pueden ser portadores de salmonelas.

El diagnóstico de laboratorio de esta enfermedad resulta difícil a no ser que se pueda aislar *Salmonella* tanto en el alimento sospechoso como en las heces de los enfermos. No obstante, muchas veces ya no se dispone de los alimentos implicados, y los microorganismos desaparecen del tracto intestinal.

Condiciones necesarias para la presentación de un brote. Para que pueda presentarse un brote de una infección gastrointestinal de origen alimenta-

¹N. del T.: Se trata de un «soufflé» de helado. El bloque (barra) de helado se coloca sobre una base de bizcocho; a continuación se cubre con merengue y se lleva al horno para que la parte superficial del merengue adquiera color tostado.

²N. del T.: Se trata de una bebida que se prepara batiendo huevos con azúcar, leche o nata, a la que muchas veces se le añade ron, coñac o cualquier otro licor, o vino, que se suele servir fría y se le da sabor con nuez moscada rallada.

rio por *Salmonella*, son necesarias las siguientes condiciones: (1) El alimento debe contener, o se debe contaminar con, bacterias del género *Salmonella*, (2) estas bacterias se deben encontrar en el alimento en número elevado, bien como consecuencia de que el alimento está muy contaminado, bien porque se han multiplicado en él; la presencia de un elevado número de estas bacterias en el alimento supone que éste debe ser un buen medio de cultivo, que la temperatura debe ser apropiada, y que ha debido transcurrir el tiempo suficiente para que haya tenido lugar una abundante multiplicación, y (3) los microorganismos viables deben ser ingeridos.

Prevención de los brotes. En la prevención de los brotes de infecciones alimentarias por *Salmonella* se hallan involucrados tres principios fundamentales: (1) evitar la contaminación de los alimentos con salmonelas procedentes de fuentes tales como las personas y los animales, tanto si se trata de enfermos como de portadores, y de los ingredientes, por ejemplo, huevos contaminados, (2) destrucción, siempre que sea posible, de los microorganismos de los alimentos mediante el calor (o mediante otros procedimientos), como por ejemplo mediante cocción o pasteurización de los mismos, prestando especial atención a aquellos alimentos que se tienen conservados aun después de haber expirado el plazo de validez legal para ser consumidos, y (3) impedir la multiplicación de *Salmonella* en los alimentos mediante una refrigeración adecuada o mediante otros procedimientos. Para evitar la contaminación son importantes el cuidado y la limpieza en la manipulación y preparación de los alimentos. Los manipuladores de alimentos deben estar sanos (y no ser portadores) e ir aseados. Se deben mantener alejados de los alimentos a las ratas y demás animales nocivos y a los insectos. A ser posible, los ingredientes que se utilizan en la elaboración de alimentos deben estar exentos de salmonelas. Naturalmente que los alimentos no se deben dejar a temperatura ambiente ni un momento, pero si esto sucede, su cocción total destruirá las salmonelas (pero no la toxina estafilocócica). En las sobras de comida recalentadas que se han conservado sin refrigeración, muchas veces se multiplican las salmonelas, lo mismo que ocurre en los alimentos enlatados que se han contaminado y que se guardan una vez abierta la lata. La inspección de los animales in vivo y la inspección de las carnes en los establecimientos donde se envasan conservas, puede eliminar algunas carnes infectadas con salmonelas, aunque no es en sí un procedimiento eficaz para prevenir la salmonelosis humana.

Gastroenteritis por *Clostridium perfringens*

La gastroenteritis por *Clostridium perfringens*, diagnosticada por primera vez en los Estados Unidos en el año 1945, se está detectando y diagnosticando con mayor frecuencia que antaño, aunque no es probable que en la actualidad sea más predominante (Tabla 24.1).

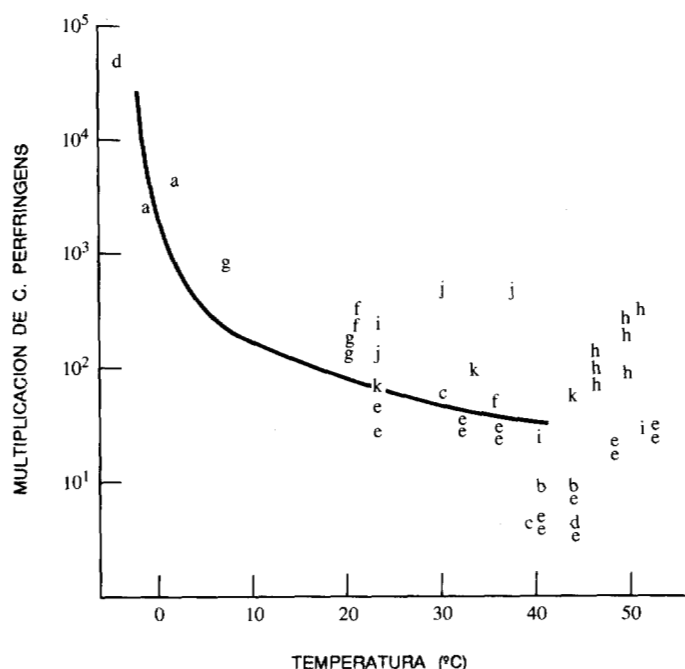


Figura 24.8. Tiempos medios de generación (MGT) de *Clostridium perfringens* en: (a) pollo fresco, (b) tiras enrolladas de carne de vaca, (c) pollo asado, (d) carne picada de vaca cruda, (e) carne picada de vaca cocida, (f) rollos de pavo, (g) cacerolas de carne picada de vaca, (h) carne de vaca soasada (rosbif), (i) carne cocida, (j) sopa de arroz con pavo, y (k) puré de patatas espeso. Coeficiente de regresión, $r = 0,71$. (De Rivituso y Synder, 1981.)

El microorganismo. La bacteria que produce esta enfermedad es *C. perfringens (welchii)* tipo A, bacilo grampositivo, inmóvil, anaerobio, y esporógeno. Su temperatura máxima de crecimiento es de unos 55°C y la temperatura óptima es de 43 a 47°C. A una temperatura de 15 a 20°C su crecimiento es limitado. En la Figura 24.8 se representan sus tiempos medios de generación en varios alimentos. Este microorganismo no crece a valores de pH por debajo de 5,0 o por encima de 9,0. Es inhibido por una concentración de NaCl del 5 por cien ($a_w = 0,97$) y algunas cepas son inhibidas por una concentración de nitrato sódico del 2,5 por cien.

Las esporas de las cepas que producen intoxicaciones alimentarias difieren considerablemente en cuanto a su termorresistencia; el valor $D_{90C} = 0,015$ a 8,71 minutos.

Alimentos implicados. Se han encontrado esporas de este microorganismo en parte de las muestras de la mayoría de los alimentos crudos analizados, así como en el suelo, en las aguas residuales, y en las heces de los animales. Los alimentos más corrientemente implicados son las carnes que han sido cocinadas,

que se han dejado enfriar lentamente, y que después de ello se conservan durante algún tiempo antes de consumirlas. La carne y los productos derivados de la carne de ave explican aproximadamente las tres cuartas partes de los brotes atribuidos a *C. perfringens*. También han sido implicados la pasta de pescado y el pollo frío. Como quiera que es bastante corriente encontrar esporas de este microorganismo en los alimentos crudos y son termorresistentes, es posible que su presencia en muchos alimentos sea inevitable. La cocción de los alimentos destruirá las células vegetativas y las esporas de algunas cepas; no obstante, tanto la germinación de las esporas como la ulterior multiplicación de los clostridios son posibles en aquellos alimentos cocinados que no han sido refrigerados convenientemente. Un brote típico podría implicar a una carne asada en grandes trozos. La cocción al horno no destruiría todas las esporas, aunque es posible que disminuyese las condiciones favorables para su germinación. Si una vez cocida la carne, a continuación no se enfría convenientemente, las esporas de *C. perfringens* germinan y el número de microorganismos aumenta. La existencia de una elevada cantidad de microorganismos de la especie *C. perfringens* en un alimento cocinado indica una manipulación incorrecta del mismo.

La enfermedad. Los síntomas, que suelen aparecer en el plazo de las 8 a 24 horas (promedio de 12 horas) siguientes a la ingestión del alimento causante, comprenden dolor abdominal agudo, diarrea y gases; la fiebre, las náuseas y los vómitos son raros. La mayoría de los brotes de esta enfermedad indican que para que aparezcan los síntomas es preciso ingerir millones de células viables de *C. perfringens* por gramo de alimento. Durante la esporulación de las células, en el intestino se libera una toxina (enterotoxina) que da lugar a una gran acumulación de líquidos en la luz intestinal. La enterotoxina es relativamente termosensible, inactivándose a 60°C en un tiempo de 10 minutos.

Condiciones necesarias para la presentación de un brote. Para que se presente un brote de infección gastrointestinal por *C. perfringens* son necesarias las siguientes condiciones: (1) que el alimento contenga *C. perfringens* o esté contaminado con este microorganismo, (2) por lo general, que se trate de un alimento cocido y que en él existan condiciones limitadas para que las bacterias se multipliquen, (3) que se trate de un alimento que no haya sido refrigerado convenientemente, de forma que el microorganismo se haya multiplicado abundantemente por existir en el alimento una temperatura favorable para ello y haber dejado transcurrir el suficiente tiempo para que se multiplique, (4) que el alimento se consuma sin someterlo de nuevo a calentamiento, de forma que se ingiera un elevado número de células bacterianas viables, y (5) que las células bacterianas esporulen *in vivo* y elaboren la enterotoxina.

Prevención de los brotes. Los recursos para prevenir los brotes de infección por *C. perfringens* comprenden: (1) el apropiado y rápido enfriamiento de las carnes cocinadas y de los demás alimentos, (2) el mantenimiento de los alimentos

a temperaturas superiores a los 60°C, (3) el sometimiento de los alimentos sobrantes a nuevo calentamiento, y (4) la apropiada higiene del personal.

Infección por *Vibrio parahaemolyticus* y por otras especies del genero *Vibrio*

A los brotes de gastroenteritis por *V. parahaemolyticus* se les ha prestado una gran atención en el Japón, país en el que constituye uno de los síndromes de intoxicación alimentaria que se presenta con mayor frecuencia. En los últimos años, en los Estados Unidos, este microorganismo ha sido el causante de varios brotes de intoxicación transmitidos por alimentos (Tabla 24.1).

V. parahaemolyticus es un bacilo móvil, gramnegativo, recto o curvado. Es halófilo (necesita una concentración de NaCl del 1 al 3 por cien) y crece en medios con un 7,0 por cien de NaCl. Su temperatura óptima de crecimiento está comprendida entre los 35 y los 37°C, aunque crece dentro del intervalo de temperaturas comprendidas entre los 10 y los 44°C. Su crecimiento es inhibido por los valores de pH inferiores a 5,0 y por los superiores a 11,0. *V. parahaemolyticus* se ha aislado en muchos alimentos marinos, entre los que se incluyen las ostras, los camarones y los cangrejos azules. Este microorganismo se puede destruir fácilmente mediante la apropiada cocción de los alimentos marinos. La mayoría de los brotes de enfermedad de este país se presentan porque se dejan contaminar los alimentos marinos crudos o no cocinados y éstos, a su vez, contaminan de nuevo los alimentos marinos cocidos. La conservación a temperaturas excesivamente elevadas de los alimentos marinos permite la rápida multiplicación de *V. parahaemolyticus* y la obtención de una elevada población de microorganismos de esta especie. Si el alimento no se somete a un nuevo tratamiento térmico, aparecerán los signos y síntomas de la enfermedad. En la Tabla 24.8 se ofrecen algunos caracteres de la infección por *V. parahaemolyticus*.

La serovar O del grupo 1 de *V. cholerae* es el agente causal del cólera epidémico o asiático. El cólera es una enfermedad de difusión mundial extraordinariamente grave, generalmente transmitida por el agua. Unos cuantos brotes de esta enfermedad que se han presentado en el territorio continental de los Estados Unidos, se han identificado como transmitidos por alimentos marinos. Otras serovares distintas a la serovar O 1 no representan la misma amenaza para la salud que la que representa la serovar O 1 de *Vibrio cholerae*, aunque pueden producir casos de infección intestinal o de gastroenteritis. A estas cepas de *Vibrio cholerae*, que son muy parecidas a la cepa O 1 se les califica de vibrios no aglutinables (NAG) porque no reaccionan ni aglutinan con el suero anti-O 1. Varias investigaciones realizadas en la bahía de Chesapeake y a lo largo de los estados del golfo*

* N. del T.: Golfo de Méjico.

Tabla 24.8. Caracteres de algunas enfermedades transmitidas por alimentos.

Enfermedad	Agente causal	Período de incubación, signos, y síntomas	Alimentos implicados	Medidas de control
Infección por <i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	De 2 a 48 horas, normalmente 12 horas; dolor abdominal, diarrea (deposiciones acuosas con sangre y moco), generalmente náuseas y vómitos, fiebre moderada, escalofríos, cefalalgia, abatimiento; curación en un plazo de 2 a 5 días	Alimentos crudos de origen marino, pescado de agua salada, mariscos, crustáceos, y alimentos derivados del pescado	Cocer los alimentos totalmente; enfriar rápidamente los alimentos en pequeñas cantidades; evitar la contaminación cruzada con pescado de agua salada; desinfectar el equipo; no emplear agua de mar para aclarar ni para lavar alimentos que se van a consumir crudos
Infección por <i>Escherichia coli</i> entero patógeno	<i>E. coli</i> ; producen la enfermedad tanto las cepas enterotoxigénicas como las invasoras	De 8 a 24 horas, con una media de 11 h (cepas invasoras); de 8 a 44 horas, con una media de 26 h (cepas enterotoxigénicas); enfermedad invasora; fiebre, escalofríos, cefalalgia, mialgia, retortijones abdominales, abundante diarrea acuosa; parecida a la shigelosis; enfermedad enterotoxigénica; diarrea (deposiciones que parecen agua de arroz) vómitos, deshidratación; parecida al cólera	Sucedáneos del café, salmón (?), queso	Enfriar rápidamente los alimentos en pequeñas cantidades; cocer totalmente los alimentos; practicar la higiene personal; preparar los alimentos de forma higiénica; proteger y tratar el agua; eliminar las aguas residuales de forma higiénica
Gastroenteritis por <i>Bacillus cereus</i>	Toxina causante de diarrea del síndrome diarréico	De 8 a 16 horas o de 1,5 a 5 horas; náuseas, retortijones abdominales, diarrea acuosa, algunos vómitos	Natillas, alimentos a base de cereales, budines, salsas, pastel de carne	Enfriar rápidamente los alimentos en pequeñas cantidades; mantener calientes los alimentos a 65°C o a temperaturas superiores; practicar la higiene personal; tratar y preparar los alimentos de forma higiénica; recalentar los alimentos sobrantes a 71,1°C
Toxina emética del síndrome emético	Toxina emética del síndrome emético	Período de incubación más corrientemente de 2 a 5 horas, con náuseas y vómitos como síntomas predominantes, parecida a la intoxicación estafilocócica; de curso corto: 1 día o menos	Arroz frito, purés de patata, tallos de hortalizas	

Shigelosis (disenteria bacilar)	<i>Shigella sonnei</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. dysenteriae</i> , <i>S. boydii</i>	De 1 a 7 días, gralm. menos de 4 días; extraordinariam. variable, síntomas de benignos a graves: retortijones abdominales, fiebre, escalofríos, diarrea, deposiciones acuosas (que con frecuencia contienen sangre, moco o pus), tenesmo, cefalalgia, cansancio, abatimiento, náuseas, y deshidratación	Alimentos mixtos húmedos; leche, judías verdes; patatas, atún, camarones, pavo, y salsas para macarrones; sidra y poi	Practicar la higiene personal; enfriar rápidamente los alimentos en pequeñas cantidades; preparar los alimentos de forma higiénica; cocer los alimentos totalmente; proteger y tratar el agua; eliminar las aguas residuales de forma higiénica; lucha contra las moscas
Yersiniosis	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> , <i>Y. enterocolitica</i>	De 24 a 36 horas o mayor duración; dolor abdominal que hace pensar en una apendicitis aguda, fiebre, cefalalgia, malestar, anorexia, diarrea, vómitos, náuseas, escalofríos faringitis, leucocitosis, y eritema nodoso	Carne de cerdo y otras carnes, leche fresca, o cualquier alimento crudo o sobrante contaminado	Cocer los alimentos totalmente; evitar que los alimentos se contaminen; lucha contra los roedores
Infección por <i>Arizona hinshawii</i>	<i>Arizona hinshawii</i>	De 2 a 46 horas, generalmente 24 horas; dolor abdominal, diarrea, náuseas, escalofríos cefalalgia, debilidad, fiebre, y curso de pocos días de duración	Pavo, pollo, pasteles rellenos de nata, helados, natillas de huevo	Enfriar los alimentos rápidamente en pequeñas cantidades; cocer los alimentos totalmente; evitar la contaminación fecal; evitar que los alimentos crudos contaminen a los cocidos; desinfectar el equipo; recalentar convenientemente los alimentos sobrantes
Infecciones por estreptococos beta-hemolíticos (escarlatina, faringitis séptica)	<i>Streptococcus pyogenes</i>	De 1 a 3 días; faringe hiperémica y con úlceras, dolor al deglutir, tonsilitis, fiebre alta, cefalalgia, náuseas, vómitos, malestar, destilación nasal; a veces se presenta una erupción cutánea	Leche, helados, huevos, langosta cocida al vapor, ensalada de patatas, ensalada de huevo, natillas, y budines; alimentos que normalmente contienen huevos o leche	Enfriar los alimentos rápidamente en pequeñas cantidades; practicar la higiene personal; cocer los alimentos totalmente; pasteurizar la leche, excluir a los manipuladores de alimentos que padecen enfermedades respiratorias o presentan lesiones cutáneas

Fuente: Adaptada de Bryan, F. L. 1982. Diseases transmitted by foods. DHEW No. (CDC) 76-8237. Center for Disease Control, Atlanta, Ga.

Vibrio cholerae son bastante corrientes en el agua de los estuarios. Tanto los brotes de enfermedad de origen alimentario producidos por *Vibrio cholerae* como los producidos por las cepas que no pertenecen a la serovar O 1 se han relacionado con el consumo de ostras.

En los alimentos marinos y en el agua de mar también se puede aislar la especie *Vibrio vulnificus*. Se trata de un microorganismo muy invasor que libera una hemolisina y una citotoxina, y que es capaz de producir una septicemia primaria en las personas.

***Escherichia coli* enteropatógeno**

La especie *E. coli* es considerada generalmente como integrante de la flora normal del tracto intestinal del hombre y de los animales. Varias epidemias infantiles en la década de los años 1940 implicaron a *E. coli* en la enfermedad diarreica de los niños. Los serotipos de *E. coli* a los cuales se les ha relacionado con enfermedades diarreicas del hombre o con brotes de intoxicaciones alimentarias han sido denominados *E. coli* enteropatógeno (EEC). En el hombre, los síndromes de enfermedad como consecuencia de la ingestión de EEC se han dividido en dos grupos principales. El primer grupo está integrado por cepas que elaboran una enterotoxina y que producen una enfermedad parecida al cólera o enfermedad enterotoxigénica en las personas (véase la Tabla 24.8). Estas cepas enterotoxigénicas suelen producir dos enterotoxinas, una toxina termoestable (ST) y otra toxina termolábil (LT), creyéndose que son las causantes de las enfermedades diarreicas de los niños y de la diarrea del viajero. Para que se desencadenen las enfermedades enterotoxigénicas, se precisa la ingestión de serotipos de EEC capaces de elaborar las enterotoxinas, seguida de la colonización de los microorganismos en el tramo superior del intestino delgado y de la producción de las enterotoxinas. Parece ser que las enterotoxinas intervienen en el paso de agua a la luz intestinal. Esta acumulación de líquido tiene lugar sin que se produzca ninguna modificación macroscópica importante en el epitelio intestinal y sin que exista ni penetración ni invasión de las bacterias.

El otro gran grupo está integrado por cepas invasoras que elaboran una citotoxina y originan una enfermedad invasora, colitis, o un síndrome disenteriforme. Estos serotipos no elaboran enterotoxina, se multiplican en el colon, e invaden o penetran en las células epiteliales de su mucosa, produciendo los signos y síntomas que se describen en la Tabla 24.8.

Para que se presenten tanto la enfermedad enterotoxigénica como la enfermedad invasora, se necesita una elevada dosis de EEC. Por consiguiente, para que tenga lugar una abundante multiplicación, los alimentos deben estar contaminados masivamente o deben estar incorrectamente conservados o refrigerados. La temperatura óptima de crecimiento del microorganismo es de 37°C, con un intervalo de crecimiento de 10 a 40°C. Su pH óptimo de crecimiento es de 7,0 a 7,5, con un pH mínimo de crecimiento de valor 4,0 y un pH máximo de crecimiento de

valor 8,5. Este microorganismo es relativamente termosensible y puede ser destruido con facilidad a temperaturas de pasteurización y también mediante la apropiada cocción de los alimentos. En la Tabla 24.8 se relacionan algunos alimentos implicados en los brotes de enfermedad producidos por EEC y algunos métodos que se emplean en su prevención. Además de las cepas de *E. coli* citadas anteriormente, existe un grupo a las cuales se las conoce como cepas hemorrágicas. Estas cepas pueden producir en las personas una enfermedad que se caracteriza por la aparición de diarrea hemorrágica y dolor abdominal intenso.

Bacillus cereus

Las comunicaciones de brotes de gastroenteritis alimentaria por *B. cereus* son bastante raras en los Estados Unidos; sin embargo, muchos países europeos informan con frecuencia acerca de la implicación de este microorganismo en enfermedades de origen alimentario. *B. cereus* es un bacilo grampositivo, aerobio y esporógeno. Su temperatura óptima de crecimiento es de 30°C, con una temperatura mínima de crecimiento de 10°C y una temperatura máxima de 49°C. El intervalo de pH dentro del cual crece se halla comprendido entre los valores 4,9 y 9,3. Para las esporas de *B. cereus* se han señalado los siguientes valores de *D* (termorresistencia): $D_{100^{\circ}\text{C}}$ de 2,7 a 3,1 minutos en la leche desnatada y $D_{100^{\circ}\text{C}}$ de 8 minutos en el tampón de fosfato (pH=7). Las numerosas determinaciones realizadas tanto en alimentos como en ingredientes, han revelado la existencia de un elevado porcentaje de muestras que contienen *B. cereus*. Se trata sin duda de un microorganismo muy difundido tanto en la naturaleza como en los alimentos que consumimos.

Para que aparezcan las lesiones y los signos de los síndromes debidos a *B. cereus* (Tabla 24.8), es preciso ingerir un elevado número (10^8 por gramo) de células viables de esta especie bacteriana. Se admiten dos síndromes: el síndrome diarreico y el síndrome emético. En la Tabla 24.8 se indican algunas características de la gastroenteritis por *B. cereus*.

Shigelosis

En los Estados Unidos se han registrado brotes de shigelosis de origen alimentario, aunque la mayoría de los episodios de esta enfermedad se relacionan con el agua contaminada.

La temperatura óptima de crecimiento de los agentes causales* es de 37°C, creciendo dentro de un intervalo de temperaturas comprendido entre 10 y 40°C. Estos microorganismos toleran concentraciones de sal del 5 al 6 por cien y son re-

* N. del T.: *Shigella sonnei*, *S. flexneri*, *S. dysenteriae* y *S. boydii* (véase la Tabla 24.8).

lativamente termosensibles. Su patogenicidad supone la liberación de una endotoxina de naturaleza polisacáridica que ataca la mucosa intestinal. En la Tabla 24.8 se indican algunas características de esta enfermedad transmitida por alimentos, y en la Figura 24.9 se representa gráficamente el número de casos registrados.

Yersinia enterocolitica

Yersinia enterocolitica es una bacteria pequeña de forma bacilar capaz de producir trastornos gastrointestinales en las personas. Se ha aislado en el tracto intestinal y en las heces de muchos animales, entre los que se incluyen gatos, cerdos, perros, ciervos, mapaches y caballos. Parece ser que el cerdo es el principal reservorio de las cepas que producen la infección en las personas. *Y. enterocolitica* ha sido aislada en muchos alimentos, entre los que se incluyen la carne de vaca, la carne de cerdo, los huevos líquidos, la leche fresca, la leche pasteurizada, el pescado, las ostras crudas, los camarones, los cangrejos, el chocolate con leche, la carne de pavo, la leche en polvo y el tofu*.

Se conocen algunas cepas de tipo ambiental o no invasoras, desconociéndose que produzcan trastornos en las personas. Las cepas invasoras o cepas virulentas de *Y. enterocolitica* producen gastroenteritis en las personas.

Los síntomas habituales, que incluyen dolor abdominal intenso, fiebre, y diarrea, se presentan en un plazo de 24 a 36 horas tras la ingestión del alimento contaminado. A veces, el período de incubación puede ser bastante más largo. Las molestias abdominales son muy típicas y generalmente se suelen manifestar en forma de un dolor agudo en la parte inferior derecha del abdomen. Por esta razón muchas veces se ha descrito como una pseudoapendicitis. En un solo brote de enfermedad debido a *Y. enterocolitica* fueron intervenidos quirúrgicamente de apendectomía dieciséis niños.

A pesar de haberse aislado microorganismos de esta especie en muchos alimentos, han sido pocos los brotes de enfermedad de origen alimentario que se han atribuido a *Y. enterocolitica*. Su aislamiento en leche pasteurizada probablemente se debe a que se ha contaminado después de haber sido pasteurizada, ya que se ha señalado que la pasteurización destruye incluso las cepas más termoresistentes. Una propiedad típica de este microorganismo es su capacidad para

* N. del T.: En China y en otros países asiáticos, el tofu es la fuente más importante de proteína alimentaria. Para preparar el tofu se calienta leche de sojaa 65°C, se le añade sulfato cálcico (3 g de esta sal por cada kg de leche de soja); tras la adición del sulfato de calcio (en lugar de sulfato cálcico se puede emplear cloruro magnésico o ácidos diluidos) se forma un gel («cuajada de soja») que precipita lentamente. La cuajada se separa del exceso de líquido prensándola en una caja especial de madera que hace de filtro. A continuación se lava la cuajada. El tofu contiene un porcentaje de agua del orden del 88%; su materia seca contiene un 55% de proteína y un 28% de grasa. El tofu se consume fresco o seco, frito con grasa y sazonado con salsa de soja (shoyu).

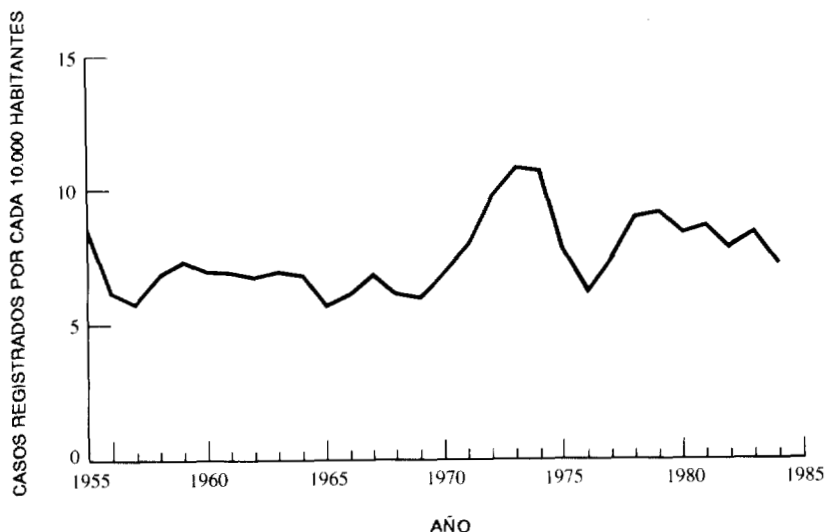


Figura 24.9. Casos anuales de shigelosis registrados en los Estados Unidos de 1955 a 1984. Durante el año 1984, se registraron en los Estados Unidos 17.371 casos. Aproximadamente el 70 por cien de los aislamientos denunciados anualmente al CDC son *Shigella sonnei*, explicando *Shigella flexneri* un elevado porcentaje del resto de los casos (*Centers for Disease Control, Annual Summaries for 1984, 1986.*)

multiplicarse a las temperaturas de refrigeración que se utilizan en el comercio, es decir, a temperaturas inferiores a 5°C.

Un microorganismo muy emparentado con el anterior, *Y. pseudotuberculosis*, también ha sido implicado como agente etiológico en la enfermedad humana. En la actualidad, tanto *Y. enterocolitica* como *Y. pseudotuberculosis* se clasifican como representantes de la familia Enterobacteriaceae.

Campylobacter

Las especies termotolerantes del género *Campylobacter*, es decir, *C. jejuni* y *C. coli*, son las que con mayor frecuencia se relacionan con la gastroenteritis aguda de las personas. El calificativo «termotolerante» es erróneo, ya hace alusión al hecho de que se trata de especies que crecen a 42°C y no se refiere a ningún grado ni de tolerancia al calor ni de termorresistencia; en realidad, estas especies se inactivan a temperaturas superiores a los 45 a 50°C. Sus caracteres más peculiares son: la ausencia de crecimiento a temperaturas inferiores a 25°C, su sensibilidad al aire (correspondiente a un porcentaje de O₂ del 21 por cien), su resistencia a la cefalotina, un tiempo de generación o duplicación de aproximadamente una hora a la temperatura óptima de crecimiento (42 °C), su sensibilidad a la desecación, su sensibilidad a la acidez, y el hecho de ser unos malos competidores en poblaciones

mixtas como consecuencia de ser incapaces de utilizar los hidratos de carbono. Por consiguiente, no es muy probable que sean capaces de multiplicarse hasta alcanzar poblaciones numerosas en alimentos que se mantienen a temperatura ambiente o a temperaturas inferiores a la temperatura ambiental.

C. jejuni se relaciona con los animales de sangre caliente, y de aquí que muchos animales y muchos subproductos animales que se utilizan como alimentos para las personas o como piensos para los animales, estén contaminados con este microorganismo. Se han aislado varias cepas en las canales y en las heces de los pollos, en las canales y en las heces de los cerdos, en las canales y en las heces de los óvidos, en los pavos, en los embutidos de cerdo, en varias carnes rojas y en la carne picada de vaca.

Algunos investigadores han señalado que tanto *C. jejuni* como *C. coli* son la causa principal de un elevado número de casos de enteritis bacteriana en todo el mundo. Se ha informado de brotes típicos de poca importancia; los alimentos implicados comprenden la leche fresca, las almejas crudas, la carne de pollo insuficientemente cocida, la leche pasteurizada contaminada, las tartas heladas, las hamburguesas crudas, y el pollo asado entero. Sin embargo, los campylobacters se aíslan en las heces de los enfermos afectados de gastroenteritis en un porcentaje de casos mayor que las salmonelas. Por esta razón, se sospecha que el número real de casos de gastroenteritis producidos por esta especie es mayor que el número de los registrados.

Poco se sabe acerca del verdadero mecanismo de patogenicidad en las personas; no obstante, por lo menos algunas cepas, producen una enterotoxina termolábil. Este microorganismo también es invasor. Además, se cree que se trata de un microorganismo muy virulento, ya que su número real en los alimentos es muy bajo.

Los síntomas comprenden dolor abdominal, retortijones, diarrea, cefalalgia, fiebre, y a veces heces hemorrágicas. El período de incubación suele tener una duración de 2 a 3 días, aunque puede tener una duración de 7 a 10 días.

La pasteurización de la leche o la apropiada cocción de los alimentos antes de consumirlos eliminaría muchos brotes. Puesto que *Campylobacter* está muy difundido en los alimentos de origen animal, se debe tener cuidado en evitar la contaminación cruzada desde las carnes crudas a las carnes que ya han sido cocinadas.

Plesiomonas shigelloides

Plesiomonas shigelloides es un bacilo gramnegativo anaerobio facultativo. La mayoría de sus cepas son móviles gracias a sus flagelos polares y son capaces de crecer en medios con una mínima cantidad de nutrientes que contengan sales amónicas como fuente de nitrógeno y glucosa como fuente de carbono. Este microorganismo puede comportarse como patógeno en las personas, produciendo trastornos en el tracto intestinal. El principal síntoma es una diarrea con

distintos grados de intensidad. El microorganismo se ha aislado en el medio acuático, en el pescado, en las ostras, y en los cangrejos, y también en animales mamíferos tales como gatos, perros, animales de zoológicos, cápridos, óvidos, y monos.

P. shigelloides ha sido implicada en varios brotes de enfermedades alimentarias relacionados con el consumo de ostras, cangrejos, y pescado. El microorganismo se puede aislar en las heces de individuos que no presentan síntomas visibles de enfermedad. No obstante, se cree que *P. shigelloides* es un patógeno oportunista y no un representante normal de la flora intestinal del hombre. Miller y Koburger (1986) estudiaron cuarenta aislamientos de *P. shigelloides* del ambiente y observaron que todas las cepas crecieron a valores de pH comprendidos entre 4,5 y 8,5. El cincuenta y ocho por cien de los aislamientos creció a un pH de valor 4,0, el 22 por cien creció a 8°C, y el 25 por cien creció a 45°C. Todos los aislamientos fueron inactivados sometiéndolos a 60°C durante 30 minutos. Además, todos los aislamientos crecieron en un medio con una concentración de cloruro sódico del 3%, y algunas cepas incluso crecieron en un medio con una concentración de cloruro sódico del 5%.

Listeria monocytogenes

Listeria monocytogenes es un bacilo corto, grampositivo, dotado de movilidad, capaz de crecer a 4°C. En los bóvidos, puede producir mastitis y abortos, y los animales infectados eliminan el microorganismo en la leche. Otros animales infectados, entre los que se incluyen los óvidos y las gallinas, pueden actuar como fuentes del microorganismo en los alimentos. *L. monocytogenes* se ha aislado del agua, de la leche, del ensilado, de las aguas residuales, de las heces de muchos animales, e incluso de las heces de las personas.

Los primeros casos de listeriosis humana se registraron en el año 1929. Las infecciones humanas se suelen presentar en forma de una infección en la mujer gestante, en el feto, o en el niño recién nacido. En los adultos, la enfermedad se presenta con mayor frecuencia en individuos inmunocomprometidos y se caracteriza por síntomas de septicemia, de meningitis, o de meningoencefalitis. En varios países se han registrado importantes brotes de listeriosis de origen alimentario. Los datos de la Tabla 24.9 se refieren a tres brotes presentados en los Estados Unidos. La ensalada de coles contaminada había sido preparada con col procedente de un cultivo que había sido abonado con estiércol de oveja. Varios animales del rebaño del cual procedía el estiércol habían padecido listeriosis ovina. Tras su recolección, la col se había mantenido almacenada bajo refrigeración; la prolongada conservación de la col a baja temperatura probablemente la enriqueció en *Listeria monocytogenes*.

Del mismo modo que muchos microorganismos grampositivos, este microorganismo es capaz de sobrevivir en el suelo, y de aquí que el empleo de estiércol que contenga listerias pueda tener una gran importancia cuando se aplica a una

Tabla 24.9. Tres brotes de listeriosis por *Listeria monocytogenes* habidos en los Estados Unidos.

Año	Lugar	Alimento transmisor	Casos	Porcentaje de mortalidad
1981	Nueva Escocia	Ensalada de col	34P*	44
			7A	
1983	Massachussetts	Leche ^a	7P	29
			42A ^b	
1985	Condado de Los Angeles	Queso blando ^c	93P	33
			49A	

*A = personas adultas; P = niños de corta edad.

^aPasteurizada.

^bLa mayoría eran personas inmunocomprometidas.

^cAl estilo de México.

tierra de cultivo, sobre todo cuando la cosecha que se obtiene de los cultivos son frutas u hortalizas que es posible que no se sometan a tratamiento térmico.

La presencia de *L. monocytogenes* en la leche pasteurizada originó una gran preocupación relativa a la eficacia de los tratamientos de pasteurización de la leche. Al menos dos informes (Bradshaw y otros, 1985; Donnelly y Briggs, 1986) han indicado que la apropiada pasteurización de la leche destruye este microorganismo. Se cree que la contaminación de la leche es un problema posterior a su pasteurización. En el año 1986 la FDA centró la vigilancia relativa a este microorganismo tanto en el ambiente de las plantas en las que se somete a tratamiento térmico la leche como en los productos lácteos acabados. En el ambiente de muchas plantas de tratamiento y en algunos productos acabados se aislaron *L. monocytogenes* y *L. innocua*. Hasta ahora, no se han publicado investigaciones de importancia acerca de la termorresistencia de las listerias en vacas infectadas de forma natural, aunque se ha señalado que es posible que este microorganismo resista a los tiempos y temperaturas mínimos fijados para la pasteurización de la leche mediante el procedimiento HTST, es decir, 161°F durante 15 segundos. Las características de crecimiento psicrotrofo de este microorganismo sugieren que la contaminación de los alimentos refrigerados podría representar un importante peligro para la salud.

Aeromonas hydrophila

A. hydrophila es un bacilo gramnegativo dotado de movilidad, cuya temperatura óptima de crecimiento es de 28°C. Puede comportarse como patógeno para la rana, para los peces, y para los mamíferos, entre los cuales de incluyen las personas (Krieg, 1984). En los Estados Unidos, a este microorganismo rara vez se le ha atribuido la producción de brotes de enfermedades de origen alimentario; no

obstante, se trata de un microorganismo cuya patogenicidad se ha admitido recientemente, que puede ocasionar diarreas de origen alimentario. Es ubicuitario en el agua y se ha señalado que es el agente causal de brotes de enfermedad en otros países.

Otras infecciones bacterianas transmitidas por alimentos

A *Streptococcus faecalis* y a otras especies muy afines a ella se les ha atribuido la producción de enfermedades de origen alimentario, y como quiera que no se ha podido demostrar que contengan endotoxina, se supuso, aunque no se pudo demostrar, que eran los microorganismos los que producían la infección. Se ha señalado que los alimentos implicados en un número limitado de brotes eran la carne de vaca procedente de canales asadas enteras, las croquetas de carne de vaca, las salchichas de Viena, la boloñesa de jamón, la salsa de pavo, el pavo a la king, el queso albanés y otros tipos de queso, la carlotita rusa*, y la leche evaporada. En la mayoría de estos alimentos se aislaron enterococos. El período de incubación tiene una duración de 2 a 18 horas, y los síntomas consisten en náuseas, vómitos y diarrea. Antaño se creía que sólo producían intoxicaciones ciertas cepas, pero en la actualidad la mayoría de los científicos sostienen que todos los microorganismos inculcados son inocuos. A personas que se han prestado voluntariamente para ello, se les ha administrado dosis masivas de microorganismos, incluyendo algunos supuestamente implicados en brotes de intoxicaciones alimentarias, y también sus productos metabólicos, sin haberles provocado enteritis en ningún caso.

Por lo que se refiere a otros microorganismos, como es el caso de las especies *Arizona hinshawii* y *Streptococcus pyogenes*, la demostración de su intervención en brotes de enfermedades transmitidas por alimentos es más concluyente. En la Tabla 24.8 se resumen los síndromes de enfermedad debidos a la ingestión de estas dos especies bacterianas.

Las infecciones alimentarias que se acaban de revisar, han sido las que implican a bacterias capaces de multiplicarse en los alimentos y, por tanto, capaces de incrementar la dosis del microorganismo patógeno ingerida por la persona que consume el alimento contaminado. Los microorganismos patógenos incapaces de multiplicarse en los alimentos cuando se manipulan normalmente, pueden ser vehiculados por ellos, en cuyo caso el alimento simplemente actúa como vehiculador pasivo de estos microorganismos, poco más o menos del mismo modo que intervendrían en su transmisión un picaporte, un pañuelo, un pasamanos de autobús, una copa, u otros objetos. La mayoría de las enfermedades que se transmiten de este modo son enfermedades intestinales o respiratorias. Algunas de las enfermedades intestinales vehiculadas de este modo son las

* N. del T.: Nata batida o crema de pastelería incluidas en panetelas o en bizcochos.

fiebres tifoidea y paratifoidea, las disenterías bacilar y amebiana, y el cólera. Los microorganismos patógenos procedentes de la garganta y de las vías respiratorias son los que producen la tuberculosis, la escarlatina, la difteria, y otras enfermedades. También son enfermedades manifiestamente transmitidas por los alimentos la brucelosis, la tularemia, la fiebre Q, la escarlatina, la faringitis séptica, y la hepatitis infecciosa.

Los alimentos se pueden contaminar con microorganismos patógenos procedentes de los manipuladores, de los utensilios que contactan con los alimentos (los que se emplean para comer, para beber, y para cocinar), del aire, del suelo, del agua (p. ej., las ostras), del animal a partir del cual se obtuvo la carne o la leche, y de animales dañinos tales como las moscas, las cucarachas, y los roedores. Es probable que tengan especial importancia las personas que manipulan los alimentos después de su pasteurización, de su cocción, o después de cualquier otro tratamiento, por ejemplo, los cocineros y sus ayudantes en la cocina; los camareeros en los restaurantes; las personas que elaboran y venden alimentos sin envolver tales como los bombones a granel, helados de corte y de cucurucho, artículos de *bollería*, perritos calientes, y hamburguesas; y los vendedores de postres congelados procedentes de congeladores de mostrador o de otras procedencias a granel.

No cabe duda que los alimentos que se consumen crudos son posibles fuentes de microorganismos patógenos. De acuerdo con ello, las frutas y hortalizas frescas pueden vehicular microorganismos patógenos desde un manipulador enfermo a un consumidor sano, aunque esta forma de transmisión pocas veces se ha podido comprobar. En aquellos lugares en los que se utiliza como abono el contenido de las letrinas, existe un gran riesgo de que existan microorganismos patógenos en la superficie de las verduras frescas que se consumen como ensalada. En función del tratamiento térmico al cual hayan sido sometidos los alimentos, su cocción puede destruir, o no destruir, todos los microorganismos patógenos existentes en los mismos. Generalmente serán destruidos la totalidad de los existentes en su superficie, pero no siempre los existentes en su interior. Se han citado casos en los que incluso microorganismos patógenos relativamente no termorresistentes han resistido a la cocción y han originado un brote de enfermedad.

El principio que es preciso aplicar en la profilaxis de las infecciones transmitidas por alimentos consiste en impedir el paso de los microorganismos patógenos desde su fuente a los alimentos, preferentemente mediante la eliminación de esa fuente, aunque este objetivo no siempre se consigue con facilidad. La contaminación por animales dañinos se puede evitar eliminándolos; se puede prohibir el empleo del contenido de las letrinas para abonar el terreno destinado al cultivo de alimentos vegetales que se han de consumir crudos; las frutas y las hortalizas que se tienen que comer crudas se pueden lavar con agua abundante o con soluciones cloradas; se puede rechazar el marisco procedente de aguas contaminadas; y se puede desechar la leche de vacas enfermas. No obstante, no siempre resulta fácil descubrir aquellos animales de abasto o aquellos manipuladores de alimentos que

están enfermos o son portadores. La mayoría de los procedimientos que se emplean para diagnosticar las enfermedades o para aislar los microorganismos que las producen, son costosos, difíciles, y no siempre son fiables; en la planta donde se preparan los alimentos no suele ser posible aplicar a los animales de abasto las pruebas correspondientes ni tampoco es posible aplicarlas a los manipuladores con la frecuencia que sería de desear. Naturalmente que a los manipuladores de alimentos no se les debería permitir trabajar mientras estuviesen enfermos o convalecientes, ya que es posible que sólo padezcan una enfermedad benigna o sean portadores y por consiguiente es posible que se les permita trabajar mientras están eliminando microorganismos patógenos.

Muchos municipios cuentan con ordenanzas que establecen que toda persona que esté afectada por cualquier enfermedad transmisible o que sea portadora de microorganismos patógenos, no deberá trabajar en ningún establecimiento donde se sirvan comidas o bebidas ni podrá ser contratada en los mismos, aunque la dificultad reside en el cumplimiento de estas ordenanzas. No obstante, en la actualidad, en casi todas las factorías en las que se manipulan y se someten a tratamiento alimentos, cualquier chequeo de la salud de los operarios es responsabilidad del patrón.

BIBLIOGRAFIA

- Alouf, F. E., F. J. Fehrenbach, J. H. Freer, and J. Jeljaszemicz. 1984. Bacterial protein toxins. Academic Press, Inc., New York.
- Angelotti, R., M. J. Foter, and K. H. Lewis. 1960. Time-temperature effects on salmonellae and staphylococci in foods. II. Behavior at warm holding temperatures; thermal-death-time studies. U.S. Dept. of Health, Education, and Welfare, Robert A. Taft Sanit. Eng. Cent. Tech. Rep. F60-5.
- Angelotti, R., E. Wilson, M. J. Foter, and K. H. Lewis. 1959. Time-temperature effects on salmonellae and staphylococci in foods. I. Behavior in broth cultures and refrigerated foods. U.S. Dept. of Health, Education, and Welfare, Robert A. Taft Sanit. Eng. Cent. Tech. Rep. F59-2.
- Anonymous. 1965. Government agencies step up surveillance of *Salmonella* in foods. Food Proc. 26(3):21-23.
- Bergdoll, M. S., and R. N. Robbins. 1973. Characterization of types of staphylococcal enterotoxins. J. Milk Food Technol. 36:610-615.
- Bowmer, E. J. 1965. Salmonellae in food: a review. J. Milk Food Technol. 28:74-86.
- Bradshaw, J. G., J. T. Peeler, J. J. Corwin, J. M. Hunt, J. T. Tierney, E. P. Larkin, and R. M. Twedt. 1985. Thermal resistance of *Listeria monocytogenes* in milk. J. Food Prot. 48:743-745.
- Bryan, F. L. 1968. What the sanitarian should know about staphylococci and salmonellae in non-dairy products. I. Staphylococci. J. Milk Food Technol. 31:110-116.
- Bryan, F. L. 1968. What the sanitarian should know about staphylococci and salmonellae in non-dairy products. II. Salmonellae. J. Milk Food Technol. 31:131-140.

- Bryan, F. L. 1969. What the sanitarian should know about *Clostridium perfringens* food-borne illness. *J. Milk Food Technol.* 32:383-389.
- Bryan, F. L. 1972a. Emerging foodborne diseases. I. Their surveillance and epidemiology. *J. Milk Food Technol.* 35:618-625.
- Bryan, F. L. 1972b. Emerging foodborne diseases. II. Factors that contribute to outbreaks and their control. *J. Milk Food Technol.* 35:632-638.
- Bryan, F. L. 1974. Microbiological food hazards today: based on epidemiological information. *Food Technol.* 28:52-66.
- Bryan, F. L. 1982. Diseases transmitted by foods: a classification and summary. 2d ed. Center for Disease Control, Atlanta, Ga.
- Buchanan, R. E., and N. E. Gibbons (eds.). 1974. *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 8th ed. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- Center for Disease Control. 1974. *Botulism in the United States, 1899-1973: handbook for epidemiologists, clinicians, and laboratory workers*. Atlanta, Ga., June 1974.
- Center for Disease Control. 1976. Diseases transmitted by foods: a classification and summary. U.S. Dept. Health, Education, and Welfare Publ. (CDC) 76-8237, Atlanta, Ga.
- Chordash, R. A., and N. N. Potter. 1976. Stability of staphylococcal enterotoxin A to selected conditions encountered in foods. *J. Food Sci.* 41:906-910.
- Committee on Salmonella. 1969. An evaluation of the salmonella problem. *Natl. Acad. Sci. Publ.* 1683. Washington.
- Deibel, R. H., and J. H. Silliker. 1963. Food-poisoning potential of the enterococci. *J. Bacteriol.* 85:827-832.
- Donnelly, C. W., and E. H. Briggs. 1986. Psychrotrophic growth and thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* as a function of milk composition. *J. Food Prot.* 49:994-998, 1002.
- Edwards, P. R., M. A. Fife, and C. H. Ramsey. 1959. Studies on the *Arizona* group of *Enterobacteriaceae*. *Bacteriol. Rev.* 23:155-174.
- Esty, J. R., and K. F. Meyer. 1922. The heat resistance of spores of *Bacillus botulinus* and allied anaerobes. *J. Infect. Dis.* 31:650-659.
- Foster, E. M. 1965. Food-borne illnesses: minor problem or hidden epidemic? *Food Proc.* 26(2):56-58, 108.
- Fujino, T., G. Sakaguchi, R. Sakazaki, and Y. Takeda. (eds). 1974. International symposium on *Vibrio parahaemolyticus*. Saiko Publishing Co., Ltd., Tokyo.
- Georgala, D. L., and A. Hurst. 1963. The survival of food poisoning bacteria in frozen foods. *J. Appl. Bacteriol.* 26:346-358.
- Goepfert, J. M., W. M. Spira, and H. U. Kim. 1972. *Bacillus cereus*: Food poisoning organism: a review. *J. Milk Food Technol.* 35:213-227.
- Greenwood, M. H., and W. L. Hooper. 1985. *Yersinia* spp. in foods and related environments. *Food Microbiol.* 2:263-269.
- Hall, H. E., and R. Angelotti. 1965. *Clostridium perfringens* in meat and meat products. *Appl. Microbiol.* 13:352-357.
- Hariharan, H., and W. R. Mitchell. 1976. Observations on bacteriophages of *Clostridium botulinum* type C isolates from different sources and the role of certain phages in toxigenicity. *Appl. Envir. Microbiol.* 32:145-158.
- Hauge, S. 1955. Food poisoning caused by aerobic spore-forming bacilli. *J. Appl. Bacteriol.* 18:591-595.

- Hauschild, A. H. W. 1971. *Clostridium perfringens* enterotoxin. J. Milk Food Technol. 34:596-599.
- Hobbs, B. C. 1965. *Clostridium welchii* as a food poisoning organism. J. Appl. Bacteriol. 28:74-82.
- Krieg, N. R. (ed.). 1984. Bergey's Manual of systematic bacteriology. Volume 1. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- Lewis, K. H., and K. Cassel, Jr. (eds.). 1964. Botulism. U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Serv. Pub. 999-FP-1.
- Lund, B. M., G. W. Wyatt, and A. F. Graham. 1985. The combined effect of low temperature and low pH on survival of, and growth and toxin formation from, spores of *Clostridium botulinum*. Food Microbiol. 2:135-145.
- Miller, M. L., and J. A. Koburger. 1986. Tolerance of *Pleisiomonas shigelloides* to pH, sodium chloride and temperature. J. Food Prot. 49:877-879.
- Minor, T., and E. H. Marth. 1976. Staphylococci and their significance in foods. American Elsevier Publishing Company, New York.
- Miwatani, T., and Y. Takeda. 1976. *Vibrio parahaemolyticus*: a causative bacterium of food poisoning. Saikon Publishing Co., Ltd., Tokyo.
- Rechcigel, M. J. 1983. Handbook of foodborne diseases of biological origin. CRC Press, Boca Raton, Fla.
- Reichert, C. A., and D. Y. C. Fung. 1976. Thermal inactivation and subsequent reactivation of staphylococcal enterotoxin B in selected liquid foods. J. Milk Food Technol. 39:516-520.
- Riemann, H. (ed.). 1969. Food-borne infections and intoxications. Academic Press, Inc., New York.
- Riemann, H. 1973. Botulinum food poisoning. J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment. 6: 111-125.
- Rivituso, C. P., and O. P. Synder. 1981. Bacterial growth at food service operating temperatures. J. Food Prot. 44:770-775.
- Roberts, T. A., and M. Ingram. 1965. The resistance of spores of *Clostridium botulinum* type E to heat and radiation. J. Appl. Bacteriol. 28:125-138.
- Sack, R. B. 1975. Human diarrheal disease caused by enterotoxigenic *Escherichia coli*. Annu. Rev. Microbiol. 29:333-353.
- Sadler, W. W., and R. E. Corstvet. 1965. Second survey of market poultry for *Salmonella* infection. Appl. Microbiol. 13:348-351.
- Segner, W. P., and C. F. Schmidt. 1971. Heat resistance of marine and terrestrial strains of *Clostridium botulinum* type C. Appl. Microbiol. 22:1030-1034.
- Slanetz, L. W., C. O. Chichester, A. R. Gaufin, and Z. J. Ordal (eds.). 1963. Microbiological quality of foods. Academic Press, Inc., New York.
- Sojka, W. J. 1973. Enteropathogenic *Escherichia coli* in man and farm animals. Can. Inst. Food Sci. Technol. 6:52-63.
- Smith, L. D. S. 1972. Factors involved in the isolation of *Clostridium perfringens*. J. Milk Food Technol. 35:71-76.
- Strong, D. H., E. M. Foster, and C. L. Duncan. 1970. Influence of water activity on the growth of *Clostridium perfringens*. Appl. Microbiol. 19:980-987.

**Envenenamientos, infecciones
e intoxicaciones
de origen alimentario,
de etiología no bacteriana**

Algunos brotes de enfermedades transmitidas por alimentos no son producidos ni por bacterias ni por sus toxinas, sino que son producidos por micotoxinas, por virus, por rickettsias, por helmintos parásitos, o por protozoos, o bien son debidos al consumo de alimentos contaminados con sustancias tóxicas. Por lo que se refiere a las micotoxinas y a muchos virus, no se sabe exactamente el papel que desempeñan en la salud del hombre, aunque su incidencia y la naturaleza de su actividad en los animales justifican su estudio.

MICOTOXINAS

Las micotoxinas son metabolitos fúngicos. Algunas son altamente tóxicas para los animales y potencialmente tóxicas para el hombre. La importancia que se les concede en la actualidad está relacionada con sus propiedades cancerígenas y con la naturaleza de su actividad en los animales.

Los hongos y los seres humanos

Los hongos comprenden los mohos, las levaduras, los mildews, los tizones, las royas, y las setas. Muchos hongos son beneficiosos. Algunos son comestibles,

como es el caso de las setas y de la proteína unicelular de las levaduras. Otros son muy utilizados tanto en fermentaciones industriales como en fermentaciones de alimentos; la especie *Aspergillus oryzae*, por ejemplo, se utiliza en la elaboración de la salsa de soja, del miso, y del sake, y en la maduración de algunos quesos intervienen mohos. La penicilina, metabolito de *Penicillium chrysogenum*, ha contribuido muchísimo al bienestar de la humanidad. Algunas setas son nocivas o venenosas para el hombre, mientras que los mohos, por el contrario, generalmente han sido considerados inocuos. De las plantas se pueden aislar muchos hongos, entre los cuales se encuentran especies de los géneros *Alternaria*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Helminthosporium* y *Chaetomium*. Los dos géneros de hongos que predominan en los alimentos almacenados probablemente sean *Penicillium* y *Aspergillus*, dentro de los cuales se encuentran especies que producen micotoxinas.

El síndrome resultante de la ingestión de toxinas contenidas en un alimento contaminado con mohos se denomina **micotoxicosis**. Desde el punto de vista histórico, el primer caso documentado de micotoxicosis atribuido a un alimento que contenía hongos fue el del cornezuelo del centeno. La especie fúngica *Claviceps purpurea* parasita el centeno y otros granos de cereales y elabora varios derivados del ácido lisérgico que son los causantes del síndrome. El consumo de centeno cuyos granos están parasitados por la citada especie fúngica, o de harina fabricada con dichos granos, durante cierto tiempo, puede producir el ergotismo gangrenoso. Los brotes de ergotismo fueron muy corrientes durante la Edad Media. Los brotes de ergotismo más recientes se han registrado en la Unión Soviética (1926–1927), en Inglaterra (1928), y en Francia (1951); en los Estados Unidos, sin embargo, no se ha registrado ningún brote importante desde el año 1925 (Gray, 1970).

Aflatoxinas

En el año 1960, murieron en Inglaterra 100.000 pollos de aves de corral. A este brote le siguió otro en el que se registró la muerte de 14.000 patipollos y nueve brotes de enfermedad en terneros (Gray, 1970). El factor común de todos estos episodios fue el empleo de harina de cacahuets brasileños como parte integrante del pienso que se administraba a los animales. De la harina de cacahuete se aisló *Aspergillus flavus*, y posteriormente fue aislado e identificado un metabolito, o toxina. A la toxina elaborada por *Aspergillus flavus* se le denominó **aflatoxina**. La atención y la investigación relacionadas con estos brotes han avivado en gran manera el interés y la preocupación respecto de la presencia de aflatoxinas y otras micotoxinas en los alimentos destinados al consumo humano.

Las aflatoxinas son elaboradas por ciertas cepas de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* y por otras especies fúngicas (Tabla 25.1). El simple hecho de identificar un hongo como *A. flavus* o como *A. parasiticus* no significa que elabore aflatoxina. En realidad, en la bibliografía existe cierta confusión respecto a *A.*

Tabla 25.1. Micotoxinas que pueden ser importantes en los alimentos.

Micotoxina	Animales afectados		
	Alimentos o piensos en los cuales se ha aislado	Tóxica para	Cancerígena para
Aflatoxinas	Algunos mohos que elaboran la toxina <i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , algunos <i>Penicillium</i>	Cebada, maíz, semillas de algodón mijo, avena, cacahuete, harina de cacahuete, manteca de cacahuete, arroz, soja, trigo, spaghetti, mandioca, harina de semillas de algodón, garbanzos, sorgo, guisantes, sésamo, harina de soja, batatas	(B ₁) codorniz, gato, pollo, faisán, salmón conejo, mono, perro, hámster, pavo, visón, bóvidos, cobaya
Patulina	<i>Penicillium expansum</i> , <i>P. claviforme</i> , <i>P. patulum</i> , <i>P. melinii</i> , <i>P. leucopus</i> , <i>P. urticae</i> , <i>P. equinum</i> , <i>P. cyclopium</i> , <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>A. giganteus</i> , <i>A. terreus</i>	Zumo de manzana, sidra	Ratón, rata, gato, conejo, codorniz, semillas de algodón, camarones en salmuera
Ocratoxina A	<i>Aspergillus ostenus</i> , <i>A. petrakii</i> , <i>A. alliaceus</i> , <i>A. sclerotiorum</i> , <i>A. sulphureus</i> , <i>A. melleus</i> , <i>Penicillium cyclopium</i> , <i>P. purpureocens</i> , <i>P. commune</i> , <i>P. viridicatum</i>	Maíz, trigo, cebada, judías blancas, cacahuete, masa de harina, pollos, trucha, huevos de gallina	Rata, polticos, patillos
Luteoesquinina	<i>Penicillium islatravum</i>	Mohos, harina de arroz	Ratón
Esterigmatocistina	<i>Aspergillus regulosus</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>Penicillium lateum</i>	Trigo, avena	Ratón, mono, rata
Acido penicífico	<i>Penicillium puberulum</i> , <i>P. cyclopium</i> , <i>P. marneuii</i> , <i>P. thomii</i> , <i>P. suavisolens</i> , <i>P. madriti</i> , <i>Aspergillus quercinus</i> , <i>A. sulphureus</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. melleus</i>	Judías secas, tabaco	Rata
Aleukia toxica alimentaria (ATA)	Especies de <i>Cladosporium</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Mucor</i> , <i>Alternaria</i>	Granos de cereales	Hombre
Roquefortina	<i>Penicillium roqueforti</i>	Queso azul, queso de Roquefort, queso de Stilton	Ratón

flavus. El género *Aspergillus* se divide en dos grupos que se pueden diferenciar por sus caracteres morfológicos, uno de los cuales es el grupo de *A. flavus*, que contiene las especies *A. flavus* y *A. parasiticus*. Tanto el número como el tipo de aflatoxinas son distintos según la cepa de que se trate. Por ejemplo, las cepas Link de *A. flavus* elaboran aflatoxina de tipo B₁ y sus metabolitos afines, mientras que la cepa Speare de *A. parasiticus* elabora aflatoxinas de los tipos B₁ y G₁ y los metabolitos afines a las mismas. Ambas especies fúngicas crecen en una gran variedad de sustratos dentro de un intervalo de temperaturas mesófilas. Las condiciones óptimas para que tenga lugar la producción de aflatoxinas serían una a_w de valor 0,85 y una temperatura comprendida entre 25 y 40°C.

Propiedades químicas. Los dos principales metabolitos, o aflatoxinas, han sido denominados B₁ y G₁ por su fluorescencia azul (B₁) y verde (G₁) cuando se exponen a la luz ultravioleta de longitud de onda larga. Las aflatoxinas B₂ y G₂ son, respectivamente, los dihidroderivados de las aflatoxinas B₁ y G₁ (Figura 25.1). Otras aflatoxinas muy afines a las anteriores son las aflatoxinas B_{2a}, G_{2a}, y GM₁. Las aflatoxinas M₁, M₂, y P₁ son los derivados hidroxilados de las aflatoxinas B₁ y B₂, los cuales son excretados en la orina, en las heces, y en la leche como productos resultantes del metabolismo de las aflatoxinas B₁ y B₂ después de haberlas ingerido los mamíferos. Todos ellos son compuestos heterocíclicos muy oxigenados.

Toxicidad. Según se indica en la Tabla 25.1, la aflatoxina B₁, la más tóxica de las aflatoxinas, es tóxica para varias especies animales. Se ha comprobado que otras muchas aflatoxinas son tóxicas o cancerígenas para distintas especies de peces, de mamíferos y de aves de corral.

Cuando las vacas consumen un pienso que contiene aflatoxinas, en la leche excretan las aflatoxinas M₁ y M₂. Si bien las aflatoxinas M₁ y M₂ son menos tóxicas que los compuestos B₁ y B₂ de los cuales proceden, en muchas especies animales la aflatoxina M₁ conserva sus propiedades tóxica y cancerígena. La aflatoxina M₁ también ha sido detectada en la orina de mujeres filipinas que habían consumido mantequilla elaborada con cacahuets que contenían aflatoxina.

Significación en los alimentos. A partir del descubrimiento (o por lo menos a partir de la identificación) de las aflatoxinas a principios de la década de los años 1960, se han realizado numerosas determinaciones para detectar las aflatoxinas en los alimentos. En caso de que se siembren, muchas cepas productoras de aflatoxinas son capaces de crecer en muchos alimentos, entre los cuales se incluyen varios productos lácteos, los productos de panadería, los zumos de frutas, los cereales y los forrajes.

En la mayoría de los casos, el crecimiento de una cepa toxigénica y la elaboración de aflatoxina tiene lugar una vez recolectado o acondicionado el alimento. Sin embargo, los cacahuets, las semillas de algodón, y el maíz, presentan una diferencia importante, de forma que estos alimentos, antes de ser recolecta-

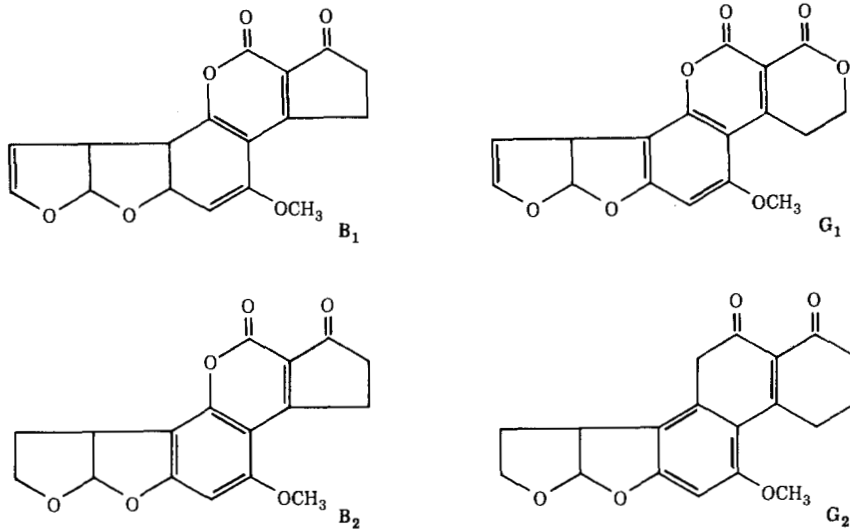


Figura 25.1. Estructura química de cuatro aflatoxinas. (De W. D. Gray, *The Use of Fungi as Food and in Food Processing*, The Chemical Rubber Co., 1970. Figura utilizada con licencia de The Chemical Rubber Co.)

dos, pueden ser invadidos por hongos, los cuales son capaces de crecer en ellos y elaborar micotoxinas. Tanto la contaminación como la posible producción de aflatoxinas en estos cultivos están relacionadas con los daños producidos por insectos, con la humedad, con las condiciones atmosféricas, y con los sistemas de explotación agrícola. Por lo que se refiere a los cacahuetes, por ejemplo, es muy conveniente recolectarlos y desecarlos tan pronto como alcanzan la madurez.

En el año 1963, la FDA inició la actividad de vigilar la contaminación de los alimentos y de los piensos con aflatoxinas. En un principio se adoptó la norma de rechazar todo alimento que contuviese una concentración de 20 ppb de aflatoxina. El perfeccionamiento de los métodos que en la actualidad se emplean para detectar las aflatoxinas hace posible determinar concentraciones menores. El Ministerio de Agricultura y Alimentación de los Estados Unidos, en colaboración con la FDA y con las industrias alimentarias que utilizan cacahuetes, puso en marcha un programa de certificación para los cacahuetes crudos exentos de aflatoxinas. Los resultados obtenidos en un estudio realizado por la FDA en el año 1973, revelaron que el 25 por cien de las muestras de manteca de cacahuete contenían concentraciones detectables de aflatoxinas. En el 4 por cien de las muestras de manteca de cacahuete y en el 2 por cien de los cacahuetes crudos de los que se tomaron muestras, se encontraron concentraciones de aflatoxinas superiores a la concentración patrón adoptada de 20 ppb. También en el año

1973, se realizó un estudio en varios productos lácteos entre los cuales se encontraban el requesón, la leche desnatada en polvo, y la leche evaporada. La aflatoxina M_1 se encontró en menos del 1 por cien de las muestras en concentraciones que oscilaron entre las 0,05 y las 0,4 ppb, cifras muy por debajo de la correspondiente a la concentración patrón. Sin embargo, se ha señalado que si una vaca ingiere un pienso que contenga aflatoxina B_1 a una concentración de 100 μg por kilogramo de pienso, la leche contendrá una concentración de aflatoxina M_1 de 1 μg por litro. Por consiguiente, solamente un 1 por cien de la cantidad de aflatoxina ingerida se elimina por la leche. En realidad, la supresión de las aflatoxinas en los productos lácteos es un problema de evitar la presencia de las mismas en los piensos que consumen los animales.

Los esfuerzos internacionales encaminados a detectar y regular las concentraciones de aflatoxinas en los alimentos dio como resultado la fijación de un patrón de 30 ppb (Junta Consultiva para las Proteínas FAO/OMS/UNICEF). Se fijó este patrón teniendo en cuenta la dosis que no producía efectos nocivos en el mono, con un factor de seguridad de 50 ppb (Van Walbeek, 1973). Son muchos los países que importan cacahuets y semillas de algodón, y se admite el valor nutritivo de la harina de cacahuete como una fuente adecuada de proteínas para poblaciones desnutridas. No obstante, si se tienen en cuenta todos los datos disponibles relativos a las aflatoxinas, en la actualidad se cree que la harina de cacahuete no es una fuente apropiada de proteínas para los niños desnutridos.

Patulina

Aislada y descrita primeramente como antibiótico, la patulina es un análogo estructural de la expansina, de la penicidina, de la claviformina, de la clavatina, de la clavacina, de la micoína C, y del ácido gígántico. Según se indica en la Tabla 25.1, se ha señalado que son varios los mohos que producen patulina.

Propiedades químicas. La patulina en estado puro es una sustancia cristalina de color blanco con un punto de fusión de 110,5°C y un peso molecular de 154. Es una lactona no saturada (Figura 25.2) cuyo nombre químico es 4-hidroxi-4H-furo[3, 2c]piran-2(6H)-ona. Es sensible al SO_2 e inestable en medio básico, pero estable en medio ácido.

Toxicidad. Aislada primeramente como antibiótico, es eficaz frente a muchas especies bacterianas. Concentraciones tan insignificantes como son las del orden de un 0,1 por cien inhiben totalmente a *E. coli* y a *S. aureus*. También presenta una potente acción fungistática y es tóxica tanto para las semillas como para las plántulas de especies vegetales superiores tales como la remolacha azucarera, el maíz, el trigo, el guisante, el tomate, el pepino, y el lino.

La administración de patulina a ratas y a ratones por las vías oral e intravenosa en concentraciones de 0,3 a 2,5 mg por gramo de peso corporal ocasiona la muerte de estos animales. Las lesiones observadas tras su administración fueron: edema

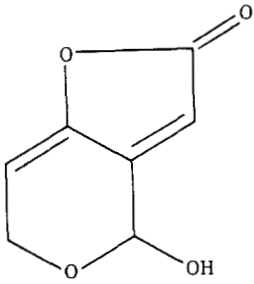


Figura 25.2. Estructura química de la patulina.

cerebral, hemorragias pulmonares, y lesiones en los capilares hepáticos, esplénicos, y renales. Las propiedades cancerígena y mutágena de la patulina se han observado administrando al ratón dosis subletales de esta micotoxina. Como quiera que se sabe que otras muchas especies animales son sensibles a la patulina, esta micotoxina es considerada un posible agente cancerígeno para el hombre (Scott y Bullerman, 1975).

Significación en los alimentos. Tanto en los alimentos destinados al consumo humano como en los piensos, se han aislado muchas cepas que producen patulina. Se ha detectado patulina en la sidra y en el zumo de manzana. La existencia de esta micotoxina en productos elaborados a base de manzanas se puede relacionar con el hecho de que en más del 60 por cien de las manzanas podridas de las que se obtuvieron muestras se aislaron cepas de *Penicillium expansum* productoras de patulina. En la mayoría del resto de alimentos, los mohos que producen patulina sólo representan un pequeño porcentaje del número total de aislamientos. Otra explicación de la imposibilidad de detectar patulina mediante procedimientos químicos en alimentos en los que existe un abundante crecimiento de hongos que producen esta micotoxina, podría ser el efecto inhibitor de la patulina que se ha observado en varias sustancias químicas que contienen los alimentos. Por ejemplo, la peptona, la glicina, la metionina, el ácido *p*-aminobenzoico, la asparagina, el sulfato sódico, el tiosulfato sódico, y el hidrolizado de caseína son inhibidores de la patulina. Es posible, por consiguiente, que algunos alimentos que contienen hongos que producen patulina no constituyan un problema como consecuencia de su propia composición. Además, para el microbiólogo de alimentos tiene interés conocer el hecho de que varios hongos que producen patulina, cuando se cultivan en un medio sintético, elaborarán esta micotoxina a temperaturas de refrigeración. También se ha observado la termorresistencia de la patulina. Esta micotoxina resiste la ebullición; por ejemplo, es estable a 100°C durante 15 minutos. La propiedad cancerígena de la patulina en los animales, el aislamiento de hongos que producen patulina en varios alimentos, su inactivación en algunos alimentos, la posibilidad de que los hongos elaboren toxinas a temperaturas de refrigeración, y su estabilidad al calor, indican que en la

industria alimentaria esta micotoxina será objeto de nuevas investigaciones e inquietudes.

Ocratoxina

Los trabajos publicados sobre las aflatoxinas y la creencia de que existía una correlación entre los metabolitos fúngicos y la elevada incidencia de cáncer de hígado en la población bantú de Sudáfrica, impulsaron la investigación de la posible presencia de micotoxinas en los granos de cereales de aquel país. Scott (1965) aisló veintidós hongos (pertenecientes a siete especies) que eran tóxicos para los patipollos, para las ratas y para los ratones. Posteriormente, fue aislado e identificado un metabolito tóxico de *Aspergillus ochraceus* al cual se le denominó ocratoxina A. Además de la citada especie fúngica, se han encontrado otros mohos que producen ocratoxina A (Tabla 25.1). Algunas cepas de *P. viridicatum* y de *P. palitans* producen citrinina y ocratoxina A. Existe cierta creencia de que estas dos micotoxinas pueden actuar sinérgicamente en los animales para producir nefrotoxicidad.

Propiedades químicas. Desde el punto de vista estructural, la ocratoxina A es un derivado clorado de la isocumarina con un grupo amida unido a la fenilalanina. También se ha aislado un análogo no clorado de este compuesto al que se le ha denominado ocratoxina B. Además, existen otros componentes minoritarios, entre los cuales se incluyen un éster metílico y un éster etílico de las ocratoxinas A y B, y la 4-hidroxiocratoxina A. A la luz ultravioleta, la ocratoxina A tiene fluorescencia verde, mientras que la ocratoxina B tiene fluorescencia azul.

Toxicidad. La ocratoxina A es tóxica para los patipollos, para las ratas, para los pollitos, para la trucha y para otros animales. Su toxicidad para las ratas es aproximadamente la tercera parte de la correspondiente a la de la aflatoxina B₁. Los demás derivados o análogos tienen un grado de toxicidad igual o menor que la ocratoxina A. Se ha comprobado que producen lesiones en los riñones de las ratas y lesiones en la trucha y en los pollitos. La citrinina también produce lesiones en los riñones de los animales. La nefrosis fúngica, una enfermedad que se presenta en los cerdos, tuvo una elevada incidencia cuando los animales eran alimentados con grano de cereales que había sido cosechado húmedo. Se cree que los mohos que producen ocratoxina y citrinina son los causantes de este síndrome. Si estos mohos que elaboran micotoxinas se aíslan y se cultivan en medios sintéticos, se produce citrinina. La ingestión de citrinina por ratas, conejos, cobayas y cerdos, origina lesiones renales parecidas a las observadas en los cerdos afectados de nefrosis fúngica (Van Walbeek, 1973). Se consideró que una mezcla de alfalfa y hierba que estaba enmohecida era la causante de un elevado número de casos de aborto en vacas lecheras (Still y otros, 1971). Si bien no se aisló la ocratoxina A, se identificó una cepa de *Aspergillus* que producía ocratoxina.

Significación en los alimentos. Además de desconocerse su acción sobre las personas, las ocratoxinas de los alimentos tienen interés por lo menos por tres razones: (1) Son tóxicas para algunos animales, (2) algunas son muy termorresistentes, por ejemplo, la ocratoxina A existente en la harina de avena no se destruye cuando se somete a un tratamiento térmico prolongado al autoclave (Trenk y otros, 1971), (3) muchos hongos productores de ocratoxinas y de citrinina son capaces de crecer y elaborar micotoxinas a temperaturas inferiores a 10°C, y (4) se han aislado ocratoxinas de un gran número de alimentos.

Luteosquirina

Penicillium islandicum produce dos metabolitos, la luteosquirina y la cicloclorotina, que son hepatotóxicos para algunos animales. Si bien la luteosquirina no es tan cancerígena como la aflatoxina B₁, parece ser que los ratones son más sensibles a la luteosquirina que a la aflatoxina B₁. No se conocen intoxicaciones humanas agudas atribuidas a la luteosquirina o a la cicloclorotina.

Esterigmatocistina

Estructuralmente parecida a la aflatoxina, la esterigmatocistina tiene una potencia cancerígena que probablemente esté comprendida entre la décima y la centésima parte de la correspondiente a la aflatoxina.

Acido penicílico

Se ha informado de que existen varios mohos que producen ácido penicílico cuya capacidad cancerígena ha sido observada. En muchos productos, entre los cuales se incluyen la avena, el trigo, el arroz, el maíz y la cebada crecen cepas de mohos que producen ácido penicílico.

Aleukia tóxica alimentaria (ATA)

Se han presentado brotes de esta micotoxicosis en la Unión Soviética, país en el que el número de bajas producidas por esta enfermedad en algunas zonas entre los años 1942 y 1947, se aproximaron a 1.000 por cada 10.000 habitantes. En las personas, el síndrome es producido por los metabolitos tóxicos fusariogenina, ácido epicladospórico, y ácido fagicladospórico. La ATA no constituye ningún problema si el grano de cereales se cosecha y se almacena convenientemente. La totalidad de los brotes a los que se ha hecho referencia anteriormente se presentaron como consecuencia del consumo de grano de cereales que había estado expuesto a las inclemencias del invierno, es decir, grano que se había dejado en los campos durante el invierno y que después se había cosechado.

Roquefortina

En el queso azul procedente de varios países que se vende en el comercio, se ha descubierto recientemente una sustancia tóxica. Las porciones del queso con mayor cantidad de mohos contienen concentraciones de esta sustancia tóxica más elevadas que las porciones que son de color blanco, lo cual hace pensar que es posible que durante el curado del queso de Roquefort (queso azul), *Penicillium roqueforti* produzca una micotoxina. El factor tóxico, denominado provisionalmente roquefortina, tiene la actividad de una neurotoxina cuando se inyecta a ratones en los que desencadena crisis convulsivas.

Implicaciones

La lista de micotoxinas dada anteriormente está lejos de ser completa. Después de haber sido aisladas las aflatoxinas y haber sido descritas sus propiedades, se han publicado una gran cantidad de datos relativos a un gran número de diversos metabolitos tóxicos de origen fúngico.

Existen pocas dudas acerca de que muchos hongos producen y elaboran metabolitos tóxicos. Tiene capital importancia su propiedad cancerígena. Este tema ha sido revisado de forma admirable por Enomoto y Saito (1972). Naturalmente que la mayoría de las investigaciones sobre los efectos tóxico y cancerígeno de las micotoxinas se han llevado a cabo en animales de experimentación, siendo pocos o inexistentes los datos relativos a las personas. Por consiguiente, se desconocen en esencia tanto los síntomas clínicos como los efectos de las micotoxinas en las personas. En la actualidad es posible llevar a cabo experiencias con células de los distintos tejidos humanos para determinar la sensibilidad de las personas a la micotoxinas, debiéndose considerar que estas experiencias constituyen un valioso auxiliar para la investigación. En todo caso, la posible amplia escala de efectos y de sensibilidad a los agentes cancerígenos puede hacer imposible la determinación de las dosis de micotoxinas existentes en los alimentos destinados a la alimentación humana que son inocuas.

La abundancia de estudios y experiencias realizados, tanto en el campo como en los almacenes, han corroborado definitivamente la presencia de muchas de las micotoxinas en los alimentos que consumimos. Todavía se está determinando el impacto real de las micotoxinas sobre la salud humana y sus implicaciones a largo plazo.

VIRUS

Algunos caracteres generales de los virus son las siguientes: (1) tamaño ultramicroscópico que oscila desde 10 a 450 nm, (2) capaces de atravesar la mayoría de

los filtros bacterianos (es decir, aquéllos cuyos poros tienen un diámetro de 0,22 μm), (3) cultivables únicamente en una línea celular de un hospedador sensible, (4) incapaces de reproducirse sin el concurso de un hospedador, y (5) capaces de infectar a las personas, a los animales, a las plantas, o a las bacterias; sin embargo, tienen una gran especificidad de hospedador. Los virus están formados por un núcleo central de ácido nucleico, que puede ser ácido desoxirribonucleico (DNA) o ácido ribonucleico (RNA), y por una envoltura proteica. En realidad, se encuentran en dos estados diferentes: estado intracelular y estado extracelular. Cuando la partícula vírica invade una célula hospedadora sensible (estado intracelular), el núcleo central de ácido nucleico y la envoltura proteica se separan. Existen dos posibles respuestas del ácido nucleico vírico en la célula hospedadora. La mayoría de las veces el ácido nucleico vírico actúa como patrón para encauzar el mecanismo de la célula hospedadora con el fin de sintetizar nuevas partículas víricas. Los virus se multiplican de este modo y destruyen las células hospedadoras. A veces, no obstante, se establece una relación estable entre el ácido nucleico de la célula hospedadora y el ácido nucleico vírico, y no se producen nuevas partículas víricas; en cambio, el ácido nucleico vírico se replica cuando lo hace el ácido nucleico de la célula hospedadora.

Clasificación

Los sistemas arbitrarios y convenientes para clasificar los virus incluyen subdivisiones que tienen en cuenta: (1) el hospedador en el cual se multiplica el virus, (2) los tipos de tejidos u órganos en los que tiene lugar la infección primaria, y (3) el modo de transmisión. Los sistemas taxonómicos más modernos tienen en cuenta: (1) el tipo de ácido nucleico que contienen las partículas víricas, es decir, si se trata de RNA o de DNA, (2) la simetría de las partículas víricas, (3) la presencia o la ausencia de envoltura, (4) el diámetro del helicoide de la nucleocápside, y (5) la secuencia de las bases que integran el ácido nucleico. Numerosas infecciones víricas pueden causar la muerte de los animales o el exterminio de las plantas. Esta consecuencia de las infecciones víricas podría ser considerada una reducción del caudal de alimentos que el hombre tiene a su disposición. Además, muchos de los virus animales pueden causar enfermedades en el hombre, por ejemplo, encefalitis, hepatitis, parotiditis, el sarampión, la rabia, la viruela, y la fiebre amarilla.

A continuación se revisarán aquéllas que están relacionadas con brotes de enfermedades transmitidas por alimentos. Algunos enterovirus, entre los cuales se incluyen los virus coxsackie¹ y los virus ECHO² pueden producir gastroenteri-

¹ N. del T.: Enterovirus humano que produce una enfermedad parecida a la poliomiélitis.

² N. del T.: Virus ECHO = Enteric Cytopathogenic Human Orphan viruses, es decir, virus entéricos, citopatógenos, del hombre y huérfanos. A estos virus se les ha dado el calificativo de «huérfanos» por no estar relacionados con ninguna enfermedad concreta, razón por la cual en otros tiempos fueron llamados «virus en busca de una enfermedad».

tis en las personas. Como quiera que en las personas muchos casos de gastroenteritis de origen alimentario no son producidos por bacterias («gastroenteritis aguda de etiología no bacteriana»), es creencia general que los virus pueden ser los agentes causales de estos brotes de enfermedades transmitidas por alimentos que afectan a las personas, o pueden estar implicados en las mismas. En la Tabla 25.2 se compendian varios virus implicados en brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, su modo de transmisión, y las medidas a adoptar para evitar su difusión. El ulterior esclarecimiento de sus posibles relaciones se encuentra dificultado por la falta de una metodología práctica de laboratorio para detectar y aislar virus en los alimentos.

Hepatitis infecciosa

El virus de la hepatitis entra en el organismo humano por vía oral, generalmente como consecuencia de la contaminación fecal del agua o de los alimentos. El período de incubación (hasta la aparición de los síntomas) es largo (véase la Tabla 25.2) y a veces puede dar lugar a graves complicaciones hepáticas. En las personas se han descrito muchos brotes de esta enfermedad transmitida por alimentos; tal vez el brote típico fue descrito por Mason y McLean (1962) quienes identificaron como fuente de infección a unas ostras que habían sido pescadas en aguas contaminadas. Las ostras y las almejas son capaces de concentrar el número de bacterias o de virus durante su proceso normal de alimentación que consiste en filtrar el agua para separar las partículas que se encuentran en ella. Se ha demostrado que el virus de la hepatitis infecciosa es estable durante la conservación de las ostras y de las almejas bajo refrigeración. El problema tiene más importancia, ya que muchas ostras se comen crudas. Cliver (1967) hizo un resumen de los casos de hepatitis infecciosa transmitida por alimentos publicados durante un período de más de 20 años, que suponían un total de unos 3.000 casos, y observó que, además del marisco, los alimentos implicados eran la leche fresca, la ensalada de patatas, los bocadillos, y los fiambres.

Poliomielitis

Ha sido registrado un escaso número de brotes de poliomielitis transmitida por alimentos. Entre los años 1914 y 1949, Cliver (1967) registró diez de estos brotes de enfermedad. La leche (tanto fresca como pasteurizada) fue implicada en ocho de los diez brotes citados, mientras que los dos brotes restantes fueron debidos al consumo de limonada y de pasteles rellenos de crema. Es de notar la implicación de la leche pasteurizada (dos brotes), ya que el calor que se necesita para pasteurizarla debería inactivar el virus de la poliomielitis. Se supuso que la leche

Tabla 25.2. Virus implicados en brotes de enfermedades transmitidas por alimentos.

Enfermedad	Agente causal	Alimentos habitualmente implicados	Otras formas de transmisión	Período de incubación	Signos y síntomas	Medidas para impedir su difusión por medio de alimentos
Poliomielitis*	Poliovirus tipos I, II, III	Leche; posiblemente otras bebidas y alimentos preparados	Enfermos o portadores; agua contaminada	De 5 a 35 días	Fiebre; vómitos; cefalalgia; dolores en grupos musculares; parálisis	Aseo personal; adecuado calentamiento de los alimentos; desinfección del agua; impedir que las moscas contacten con los alimentos
Hepatitis infecciosa	Virus de la hepatitis infecciosa	Leche y otras bebidas; mariscos (ostras y almejas crudas); alimentos concretos servidos como parte integrante de una comida, como la ensaladilla de patatas	Enfermos o portadores; agua contaminada	De 10 a 50 días, media de 25 días	Ictericia en la mitad de los casos aproximadamente; pérdida de apetito; trastornos gastrointestinales	Cocción de los mariscos; revisión de los manipuladores de alimentos; adecuado calentamiento de la leche y de los alimentos; adecuado calentamiento o desinfección del agua; asco de los manipuladores de alimentos
Gastroenteritis aguda no bacteriana*	Virus coxsackie y ECHO ^a ; agentes víricos aún no identificados	Posiblemente transmitida por alimentos, aunque por ahora su modo de transmisión no ha sido determinado	Enfermos o portadores;	De 27 a 60 horas (término medio)	Fiebre; síntomas constitucionales; cefalalgia, dolor abdominal, vómitos y diarrea	Probablemente las mismas que las indicadas para la poliomeilitis

* Normalmente no transmitida por alimentos.

Fuente: Tomado de la International Association of Milk, Food, and Environmental Sanitarians, Inc., Procedure for the Investigation of Foodborne Disease Outbreaks, 2d ed., 1966.

^a N. del T.: ECHO viruses = Enteric Cytopathogenic Human Orphan viruses = Virus huérfanos entéricos citopatógenos del hombre.

no pasteurizada incorrectamente o que se contaminó después de haber sido sometida a tratamiento térmico.

Otros virus

El virus agente causal de la fiebre aftosa de los bóvidos puede ser transmitido a las personas por medio de los alimentos. Dos enfermedades víricas de las aves, la ornitosis y la enfermedad de Newcastle, han sido implicadas en dolencias del hombre. Se han conocido casos de obreros que trabajan en mataderos de aves que contraen una infección de los ojos, posiblemente como consecuencia de salpicaduras de agua que contiene virus Newcastle. El virus de la ornitosis produce una infección respiratoria en el hombre. Otros virus que son buenos candidatos para transmitir enfermedades de origen alimentario son los enterovirus, entre los cuales se incluyen los virus coxsackie y los virus ECHO.

En un brote de enfermedad ocurrido en 1976 que fue atribuido al tipo 4 de los virus ECHO, por lo menos ochenta personas enfermaron como consecuencia de haber comido ensalada de col. En los últimos años, uno de los virus implicados con mayor frecuencia han sido el virus «Norwalk» o los agentes parecidos al virus Norwalk. El marisco es el vehículo habitual de este síndrome de diarrea vírica. En el año 1982, los agentes víricos (el virus de la hepatitis A y el virus Norwalk) explicaron 21 brotes de enfermedad con un total de 5.325 casos. La gastroenteritis por virus Norwalk fue implicada en dos importantes brotes, uno de ellos con más de 3.000 casos (capa de clara de huevo batida con azúcar sobre productos de panadería) y el otro con más de 2.000 casos (ensalada de col).

Significación en los alimentos

Además de los brotes conocidos de enfermedades víricas transmitidas por alimentos, existen otros muchos de los que se sospecha que son producidos por virus. La falta de metodología y de líneas de células hospedadoras sensibles complican las investigaciones sobre los virus de los alimentos. No es descabellado suponer que los enterovirus (virus intestinales) son capaces de contaminar nuestros alimentos con la misma facilidad y con la misma frecuencia que las bacterias intestinales, ya que se pueden aislar de las heces con la misma facilidad con que se aíslan los coliformes y los patógenos entéricos. Estos virus siguen la misma vía oral-fecal de contaminación y diseminación. A pesar de que la resistencia al calor y la persistencia durante el almacenamiento varían considerablemente de un virus a otro, algunos están dotados de una resistencia mayor que la de las bacterias vegetativas. En varias de las referencias bibliográficas que se citan al final de este capítulo se pueden encontrar pormenores sobre distintos virus en relación con los efectos que sobre los mismos producen tanto los distintos tratamientos a que se someten los alimentos como el almacenaje de los mismos.

RICKETTSIAS

Las rickettsias pueden ser consideradas bacterias degeneradas, ya que manifiestan una forma de vida muy parecida a la de las bacterias si se exceptúa que no pueden ser cultivadas fuera de las células vivas. De igual forma que los virus, son parásitos obligados. El modo de transmisión de la rickettsias a las personas es muy variable, aunque en algunos momentos de su ciclo biológico normal, se asocian con pulgas, con piojos, o con garrapatas. De aquí que el hombre contraiga muchas de las principales enfermedades por rickettsias por medio de picaduras de estos artrópodos chupadores de sangre. El tifus epidémico, la viruela por rickettsias, la fiebre manchada de las Montañas Rocosas, y la fiebre Q, son ejemplos de enfermedades del hombre producidas por rickettsias.

Las vacas infectadas con la rickettsia que produce la fiebre Q, *Coxiella burnetii*, constituyen una preocupación para la salud pública ya que el microorganismo puede ser excretado por la leche en grandes cantidades y producir infecciones en las personas. Hubo una época en la que tanto los tiempos como las temperaturas que se empleaban para pasteurizar la leche (61,7°C durante 30 minutos) se basaban en la destrucción total de *Mycobacterium tuberculosis*. Cuando se comprobó que *C. burnetii* era capaz de resistir este tratamiento, la temperatura de pasteurización se elevó hasta 62,8°C (30 minutos) para garantizar su destrucción en la leche.

PARASITOS TRANSMITIDOS POR LOS ALIMENTOS

Aunque no se intentará hacer aquí un estudio completo de los numerosos parásitos (vermes redondos, vermes planos, protozoos y distomas) que a veces se encuentran en los alimentos, es importante que el microbiólogo de alimentos conozca su existencia. En la Tabla 25.3 se ofrece un compendio de las parásitos que se suelen encontrar en los alimentos. En la Tabla 25.4 se puede encontrar una relación completa de las parásitos que es posible que sean transmitidos por alimentos.

Triquinosis

La triquinosis, aunque es producida por un nemátodo, *Trichinellas spiralis*, se suele estudiar junto con las intoxicaciones e infecciones alimentarias de etiología bacteriana porque todas estas enfermedades tienen síntomas parecidos y son transmitidas por alimentos. La mayoría de los casos de triquinosis humana son debidos al consumo de carne de cerdo, cruda o insuficientemente cocida, que

Tabla 25.3. Enfermedades parasitarias importantes transmitidas por alimentos.

Enfermedad	Agente causal	Alimentos habitualmente implicados	Período de incubación	Signos y síntomas	Medidas para impedir su difusión por medio de alimentos
Anisakirosis	<i>Anisakis</i> spp. nematodo	Pescado crudo o insuficientemente cocido	Varios días	Irritación de la faringe y del tracto digestivo	Cocer totalmente el pescado
Disentería amebiana (amebiasis)	<i>Entamoeba histolytica</i>	Agua contaminada con aguas residuales; alimentos húmedos contaminados con heces humanas	De varios días a 4 semanas	Diarrea de distinta gravedad; no son corrientes los casos de muerte	Proteger los abastecimientos de agua; limpieza en la preparación de alimentos; garantizar la apropiada eliminación de las excretas humanas
Teniasis de los bóvidos (teniasis por saginata)	<i>Taenia saginata</i>	Carne de vaca cruda o insuficientemente cocida que contiene larvas vivas	Varias semanas	Dolor abdominal, sensación de hambre, malestar indefinido	Consumir carne sometida a inspección veterinaria; cocer totalmente la carne de vaca
Teniasis del pescado (difilobotriasis)	<i>Diphyllobothrium latum</i>	Pescado crudo o insuficientemente cocido que contiene larvas vivas	De 3 a 6 semanas	Generalmente ninguno; anemia en las infestaciones masivas	Cocer totalmente el pescado; no consumir pescado ahumado crudo
Teniasis del cerdo (teniasis por solium)	<i>Taenia solium</i>	Carne de cerdo cruda o insuficientemente cocida que contiene larvas vivas	Varias semanas	Oscilan desde los correspondientes a un trastorno digestivo benigno de carácter crónico a los de un intenso malestar acompañado de encefalitis; puede ser mortal	Consumir carne de cerdo sometida a inspección veterinaria; cocer totalmente la carne de cerdo
Triquinosis	<i>Trichinella spiralis</i>	Carne de cerdo o productos derivados del cerdo crudos o insuficientemente cocidos; carne de ballena, de foca, de oso, o de morsa con larvas vivas	Normalmente 9 d., aunque oscila de 2 a 28 d; 24 h en infecciones masivas	Náuseas, vómitos, diarrea, dolores musculares, fiebre, respiración fatigosa, edema de párpados; pocas veces mortal	Cocer totalmente la carne de cerdo y los productos derivados de la misma, congelar carne de cerdo manteniéndola a -15°C durante 30 d., a -23°C durante 20 días, o a -29°C durante 12 días; cocer los desperdicios que se dan a los cerdos; eliminar las ratas de las explotaciones de cerdos

Fuente: Tomado principalmente de International Association of Milk, Food, and Environmental Sanitarians, Inc., Procedure for the Investigation of Foodborne Disease Outbreaks, 2d ed., 1966.

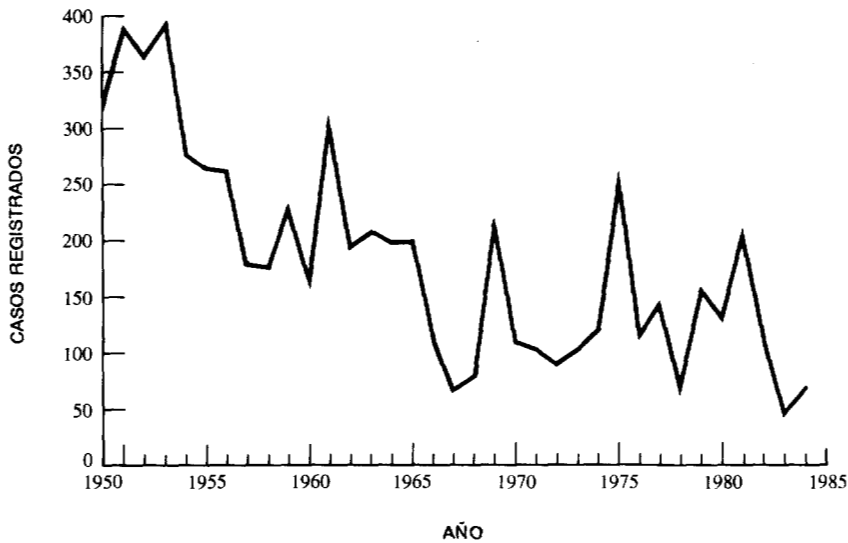


Figura 25.3. Casos de triquinosis registrados en los Estados Unidos de 1950 a 1984. En el año 1984 se registraron sesenta y ocho casos de triquinosis. La enfermedad se atribuyó en cincuenta y tres casos (82 por cien) a la carne de cerdo, y a la carne de oso en seis de ellos (9 por cien). Los embutidos de carne de cerdo fueron el alimento implicado con mayor frecuencia (43 por cien). A la triquinosis se le atribuyó una baja, la primera registrada desde el año 1981. (*Centers for Disease Control, Annual Summaries for 1984, 1986.*)

contiene larvas de triquina enquistadas. Durante la digestión, las larvas quedan libres en el tracto intestinal e invaden la mucosa del tramo superior del intestino delgado donde se desarrollan hasta convertirse en adultas. De las hembras fecundadas nace una gran cantidad de larvas, las cuales, a través de los vasos sanguíneos y de los linfáticos, emigran hacia el tejido de los músculos esqueléticos donde se enquistan. Este nemátodo recorre un ciclo biológico parecido en los cerdos, en las ratas y en otros animales hospedadores, por ejemplo, en los ratones, en los conejos, en los gatos, en los perros, y en los osos. En la Figura 25.3 se representa la tendencia actual del número de casos de triquinosis registrados en los Estados Unidos.

Síntomas. El período de incubación que media entre la ingestión de la carne de cerdo y la aparición de los primeros síntomas es muy variable, señalándose que puede tener una duración corta, del orden de uno a dos días, o larga, del orden de varias semanas. Los primeros síntomas, que se pueden confundir con los de una intoxicación alimentaria, aparecen cuando las larvas, recién liberadas de sus quistes en la carne de cerdo una vez ingerida y digerida, invaden la mucosa intestinal. Los síntomas pueden consistir en náuseas, vómitos, diarrea, sudoración abundante, dolores cólicos y pérdida del apetito que se puede prolongar

Tabla 25.4. Endoparásitos susceptibles de ser transmitidos por alimentos.

Parásitos	Posible patogenicidad	Modo de infección
Protozoos:		
<i>Entamoeba histolytica</i>	+	Alimentos y bebidas infestados con quistes
<i>Entamoeba coli</i>	-	Alimentos y bebidas infestados con quistes
<i>Endolimax nana</i>	-	Alimentos y bebidas infestados con quistes
<i>Iodamoeba butschlii</i>	-	Alimentos y bebidas infestados con quistes
<i>Dientamoeba fragilis</i>	+	Alimentos y bebidas infestados con trofozoítos
<i>Retortamonas intestinalis</i>	-	Alimentos y bebidas infestados con quistes
<i>Retortamonas sinensis</i>	+	Alimentos y bebidas infestados con quistes
<i>Chilomastix mesnili</i>	-	Alimentos y bebidas infestados con quistes
<i>Enteromonas hominis</i>	-	Alimentos y bebidas infestados con quistes
<i>Enteromonas hervei</i>	-	Probablemente vía alimentos y bebidas infestados con quistes
<i>Trichomonas hominis</i>	-	Alimentos y bebidas infestados con trofozoítos
<i>Trichomonas tenax</i>	-	Alimentos y bebidas infestados con trofozoítos
<i>Giardia lamblia</i>	+	Alimentos y bebidas infestados con quistes
<i>Isospora belli</i>	+	Alimentos y bebidas infestados con quistes
<i>Isospora natalensis</i>	+	Alimentos y bebidas infestados con quistes
<i>Balantidium coli</i>	+	Alimentos y bebidas infestados con quistes
<i>Sarcocystis</i> sp.	+	Carne roja que contiene quistes
<i>Toxoplasma gondii</i>	+	Carnes y leche infestados con quistes
Nematodos:		
<i>Trichinella spiralis</i>	+	Carnes que contienen larvas
<i>Trichuris trichiura</i>	+	Alimentos y bebidas infestados con huevos
<i>Capillaria hepatica</i>	+	Alimentos y bebidas infestados con huevos
<i>Capillaria philippinensis</i>	+	Ingestión de pescado que alberga larvas
<i>Diocotphymae renale</i>	+	Ingestión de pescado que alberga larvas
<i>Rhabditis</i> sp.	-	Bebidas infestadas; moluscos
<i>Syngamus laryngeus</i>	-	Alimentos y bebidas infestados con larvas
<i>Trichostrongylus</i> sp.	+	Hortalizas infestadas con larvas
<i>Haemonchus contortus</i>	+	Hortalizas infestadas con larvas
<i>Enterobius vermicularis</i>	+	Alimentos y bebidas infestados con huevos
<i>Syphacia obvelata</i>	-	Alimentos y bebidas infestados con huevos
<i>Ascaris lumbricoides</i>	+	Alimentos y bebidas infestados con huevos
<i>Toxocara cati</i>	+	Alimentos y bebidas infestados con huevos
<i>Toxocara canis</i>	+	Alimentos y bebidas infestados con huevos
<i>Gnathostoma spinigerum</i>	+	Pescado y ancas de rana que contienen larvas
<i>Echinocephalus</i> sp.	+	Ostras que contienen larvas
<i>Phocanema decipiens</i>	+	Pescado que contiene larvas
<i>Anisakis</i> sp.	+	Pescado que contiene larvas
<i>Porrocaecum</i> sp.	+	Pescado que contiene larvas
<i>Contraecum</i> sp.	+	Pescado que contiene larvas
<i>Angiostrongylus cantonensis</i>	+	Hortalizas infestadas con larvas o pequeños moluscos que albergan larvas: quisquillas y otros hospederadores parecidos
<i>Angiostrongylus costaricensis</i>	+	Hortalizas infestadas con babosas que albergan larvas

Tabla 25.4. (Continuación).

Parásitos	Posible patogenicidad	Modo de infección
Cestodos:		
<i>Spirometra</i> sp., larvas de	+	Agua que contiene <i>Cyclops</i> sp. infestadas con procercoides
<i>Diphyllobothrium latum</i>	+	Pescado que alberga plerocercoides
<i>Diplogonoporus grandis</i>	+	Pescado que alberga plerocercoides
<i>Digramma brauni</i>	-	Pescado que alberga plerocercoides
<i>Ligula intestinalis</i>	-	Pescado que alberga plerocercoides
<i>Braunia jasseysensis</i>	-	Probablem. pescado que alberga plerocercoides
<i>Taenia solium</i>	+	Carne de cerdo que contiene cisticercos
<i>Taeniarhynchus saginatus</i> (= <i>Taenia saginata</i>)	+	Carne de vaca que contiene cisticercos
<i>Multiceps multiceps</i> (larva)	+	Alimentos y bebidas infestados con huevos
<i>Multiceps serialis</i> (larva)	+	Alimentos y bebidas infestados con huevos
<i>Echinococcus granulosis</i> (larva)	+	Alimentos y bebidas infestados con huevos
<i>Echinococcus multilocularis</i> (larva)	+	Alimentos y bebidas infestados con huevos
<i>Echinococcus vogeli</i> (larva)	+	Alimentos y bebidas infestados con huevos
<i>Hymenolepis nana</i>	+	Alimentos infestados con huevos
<i>Hymenolepis diminuta</i>	+	Alimentos infestados con escarabajos que albergan cisticercoides
Trematodos:		
<i>Watsonius watsoni</i>	+	Hortalizas infestadas con metacercarias
<i>Gastrodiscoides hominis</i>	+	Hortalizas infestadas con metacercarias
<i>Fasciola hepatica</i>	+	Hortalizas infestadas con metacercarias
<i>Fasciola gigantica</i>	+	Hortalizas infestadas con metacercarias
<i>Fasciolopsis buski</i>	+	Hortalizas infestadas con metacercarias
<i>Echinostoma</i> spp.	+	Moluscos que albergan metacercarias
<i>Himasthlia muehlensis</i>	+	Almejas que albergan metacercarias
<i>Echinochasmus perfoliatus</i>	+	Pescado que alberga metacercarias
<i>Opisthorchis felineus</i>	+	Pescado que alberga metacercarias
<i>Clonorchis sinensis</i>	+	Pescado que alberga metacercarias
<i>Heterophyes heterophyes</i>	+	Pescado que alberga metacercarias
<i>Metagonimus yokagawai</i>	+	Pescado que alberga metacercarias
<i>Metagonimus minutus</i>	+	Pescado que alberga metacercarias
<i>Centrocestus armatus</i>	+	Pescado que alberga metacercarias
<i>Centrocestus formosanus</i>	+	Pescado y ancas de rana que albergan metacercarias
<i>Haplorchis pumilio</i>	+	Pescado y ancas de rana que albergan metacercarias
<i>Haplorchis microrchia</i>	+	Pescado que alberga metacercarias
<i>Haplorchis yokagawai</i>	+	Pescado y camarones que albergan metacercarias
<i>Haplorchis taichui</i>	+	Pescado que alberga metacercarias
<i>Diorchitrema formosanum</i>	+	Pescado que alberga metacercarias

Tabla 25.4. (Continuación).

Parásitos	Posible patogenicidad	Modo de infección
Trematodos (Continuación):		
<i>Diochitrema pseudocirratum</i>	+	Pescado que alberga metacercarias
<i>Diorchitrema amplicaeale</i>	+	Pescado que alberga metacercarias
<i>Nanophyetus salmonicola</i>	+	Pescado que alberga metacercarias
<i>Paragonimus westermani</i>	+	Cangrejos y otros crustáceos que albergan metacercarias
<i>Isoparorchis hypselobagri</i>	-	Pescado que alberga metacercarias
<i>Alaria americana</i>	+	Ancas de rana que albergan mesocercarias

Fuente: Speck (1984).

durante varios días. Los síntomas que aparecen más tarde, que son consecuencia de la migración de las larvas recién nacidas hacia los músculos y a su enquistamiento en los mismos, se relacionan generalmente con dolor e inflamación de los músculos, y no se deben confundir con los de una intoxicación alimentaria. En los casos graves, tras la aparición de estos síntomas puede sobrevenir la muerte de las personas que han ingerido carne infestada con quistes de triquina.

Diagnóstico. El diagnóstico se suele basar principalmente en los síntomas, ya que los demás procedimientos diagnósticos son difíciles. Se puede examinar el alimento sospechoso para detectar la presencia en el mismo de larvas enquistadas, aunque es muy difícil encontrarlas, lo mismo que los vermes adultos, en las deposiciones de los enfermos. Se pueden examinar tiras de músculo del enfermo para descubrir los quistes, o bien se pueden realizar la prueba intradérmica y la prueba de las precipitinas que pueden ser positivas varias semanas después de haber aparecido los primeros síntomas de la infestación.

Profilaxis. El principal procedimiento para impedir la presentación de la triquinosis es el tratamiento de la carne de cerdo (o de la carne de cualquiera otra especie) para garantizar la destrucción de cualquier triquina que pudiera contener. Esto se puede conseguir (1) mediante la cocción completa de toda la carne de cerdo, de forma que en cualquier parte de la misma se alcancen como mínimo 58,3°C, (2) congelación rápida de la carne de cerdo o su almacenamiento a -15°C o a temperaturas inferiores, durante un tiempo no inferior a 20 días, (3) tratamiento de la carne de cerdo con 20.000 rep de radiaciones ionizantes, o (4) tratamiento de los embutidos o productos parecidos derivados del cerdo según las normas que se recomiendan para la salazón, para el desecado, para el ahumado, y para la refrigeración formuladas originariamente por el antiguo Bureau of Animal Industry* del Ministerio de Agricultura de los Estados Unidos. Las normas de

* N. del T.: Negociado de Industria Animal.

dsecación especifican el empleo de 1 parte de sal por 30 partes de carne manteniéndola en la sala de dsecación durante más de 20 días a una temperatura de 7,2°C o a temperaturas superiores. El ahumado se debe realizar en la sala de dsecación a una temperatura de 7,2°C, o a una temperatura más elevada, y debe durar, como mínimo, 40 horas.

A pesar de que antaño se practicaba,¹ la inspección en el matadero, tanto de los animales como de las carnes con el fin de descubrir las triquinas es laboriosa y no siempre da buenos resultados. Se han hecho algunas pruebas para reducir la incidencia de de la triquinosis en el cerdo controlando la población de ratas y cociendo los desperdicios que se administran a los cerdos.

TOXICOS DE LOS ALIMENTOS MARINOS

Intoxicación por mariscos

Muchos mariscos se convierten en tóxicos para las personas como consecuencia de que se alimentan con algas tóxicas, sobre todo con dinoflagelados, entre los cuales se encuentran las especies *Gonyaulax catenella* y *G. tamareusis*. Los síntomas de esta intoxicación consisten en adormecimiento de los labios, de las puntas de los dedos, y de la lengua poco después de haber comido el marisco. Puede producirse la muerte en un plazo de 2 a 12 horas como consecuencia de parada respiratoria fortuita.

Intoxicación por ciguatera²

Numerosas especies de peces han sido implicadas en la intoxicación por ciguatera; no obstante, no es el pez el que produce el tóxico, sino que lo adquiere como consecuencia de ingerir peces más pequeños que es posible que se hayan alimentado con plancton, con plantas o con algas tóxicas. Casos aislados de intoxicaciones alimentarias producidas por pescado en personas, han puesto de manifiesto que la intoxicación se debe a que los peces se han alimentado con el alga tóxica *Lyngbya majuscula*.

Intoxicación por escómbridos

Se cree que esta intoxicación es producida por la ingestión de la histamina que se ha formado en el pescado como consecuencia de su degradación por bacterias.

¹ N. del T.: Los autores se refieren a las normas de inspección de la carne de cerdo vigentes en EE.UU.

² N. del T.: Enfermedad que suelen contraer los peces y crustáceos del golfo de Méjico, y que produce efectos nocivos en las personas que los comen.

La denominación de esta intoxicación procede de un grupo de peces, esto es, de los escómbridos (atún de California, caballa, bonito oceánico* y bonito). Los síntomas de esta intoxicación consisten en náuseas, enrojecimiento de la cara, vómitos, edema de los labios, sensación de ardor en la boca, y prurito cutáneo. Se cree que en esta intoxicación intervienen bacterias tales como *Proteus morgani* y *Klebsiella pneumoniae*.

ENVENENAMIENTO POR AGENTES QUÍMICOS

El envenenamiento por ingestión de productos químicos es bastante corriente y se suele caracterizar porque los síntomas aparecen poco tiempo después de haber ingerido el alimento venenoso. Se han atribuido envenenamientos al antimonio, al arsénico, al cadmio, a los hidrocarburos clorados, al cobre, a los cianuros, a los fluoruros, al ácido nicotínico, al plomo y al cinc contenidos en los alimentos. Los agentes químicos venenosos pueden llegar a los alimentos a partir de utensilios, por ejemplo a partir de recipientes plateados al cadmio, o a partir de recipientes con esmaltado barato que contienen antimonio. El insectida fluoruro sódico se ha añadido equivocadamente a los alimentos en lugar de levadura química, de harina, de leche en polvo, o de almidón. Los residuos de plomo y de arsénico procedentes de los aerosoles que se emplean para rociar las frutas se pueden encontrar en la superficie de las mismas, aunque generalmente en cantidades que no son nocivas sobre todo después de haberlas lavado. Muchas veces el origen de la intoxicación es atribuido erróneamente al propio alimento; el envenenamiento por cloruro de metilo procedente de una fuga de un refrigerador mecánico, por ejemplo, o el envenenamiento por productos que se utilizan en algunas industrias y que son peligrosos, han sido confundidos con intoxicaciones alimentarias.

* N. del T.: Este escómbrido (*Katsuwonus pelamis*) es una especie de tamaño bastante pequeño y ojos grandes, con unas bandas oblicuas de color oscuro en los flancos y vientre y una serie de pequeñas aletas situadas por detrás de las aletas dorsal y anal. Abunda en los mares de aguas templadas).

BIBLIOGRAFIA

- Berg, G. 1964. The food vehicle in virus transmission. *Health Lab. Sci.* 1:51-59.
- Berg, G. 1965. Transmission of viruses by the water route. Interscience Publishers (a division of John Wiley & Sons, Inc.), New York.
- Blackwell, J. H., D. O. Cliver, J. J. Callis, N. D. Heidelbaugh, E. P. Larkin, P. D. McKercher, and D. W. Thayer. 1985. Foodborne viruses: their importance and need for research. *J Food Prot.* 48:717-723.
- Bryan, F. L. 1972a. Emerging foodborne diseases. I. Their surveillance and epidemiology. *J. Milk Food Technol.* 35:618-625.
- Bryan, F. L. 1972b. Emerging foodborne diseases. II. Factors that contribute to outbreaks and their control. *J. Milk Food Technol.* 35:632-639.
- Campbell, T. C., and L. Stoloff. 1974. Implication of mycotoxins for human health. *J. Agr. Food Chem.* 22(6):1006-1015.
- Carlin, A. F., C. Mott, D. Cash, and W. Zimmerman. 1969. Destruction of trichina larvae in cooked pork roasts. *J. Food Sci.* 34:210-212.
- Centers for Disease Control. 1984. Morbidity and Mortality Annual Summary 1984. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, Ga.
- Chitwood, M. B. 1969. Systematics and biology of some parasitic nematodes. *Chem. Zool.* 3:223-244.
- Ciegler, A., S. Kadis, and S. J. Ajl. 1971. Microbial toxins. Volume VI. Fungal toxins. Academic Press, Inc., New York.
- Cliver, D. O. 1967. Food associated viruses. *Health Lab. Sci.* 34:213-221.
- Cliver, D. O., and J. Grindrod. 1969. Surveillance methods for viruses in foods. *J. Milk Food Technol.* 32:421-426.
- Cliver, D. O., and J. E. Herrmann. 1973. Enterovirus persistence in sausage and ground beef. *J. Milk Food Technol.* 36:426-429.
- Cliver, D. O., K. D. Kostenbader, Jr., and M. R. Vallenias. 1970. Stability of viruses in low moisture foods. *J. Milk Food Technol.* 33:484-491.
- Enomoto, M., and M. Saito. 1972. Carcinogens produced by fungi. *Annu. Rev. Microbiol.* 26:279-306.
- Fenner, F., B. R. McAuslan, C. A. Mimms, J. Sambrook, and D. O. White. 1974. The biology of animal viruses, 2d ed. Academic Press, Inc., New York.
- Frobisher, M., R. D. Hinsdill, K. T. Crabtree, and C. R. Goodheart. 1974. Fundamentals of microbiology. W. B. Saunders Company, Philadelphia.
- Fugate, K. J., D. O. Cliver, and M. T. Hatch. 1975. Enteroviruses and potential bacterial indicators in Gulf Coast oyster. *J. Milk Food Technol.* 38:100-105.
- Gammon, D. L., J. D. Kemp, J. M. Edney, W. Y. Varney. 1968. Salt, moisture and aging time effects on the viability of *Trichinella spiralis* in pork hams and shoulders. *J. Food Sci.* 33:417-419.
- Gill, T. A., J. W. Thompson, and S. Gould. 1985. Thermal resistance of paralytic shellfish poison in soft-shell clams. *J. Food Prot.* 48:659-663.
- Goldblatt, L. A. (ed.). 1969. Aflatoxin: scientific background, control, and implications. Academic Press, Inc., New York.
- Graham, H. D. (ed.). 1968. The safety of foods. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Gray, W. D. 1970. The use of fungi as food and in food processing, pp. 85-113. CRC Press, Cleveland, Ohio.

- Hedstrom, C. E., and E. Lycke. 1964. An experimental study of oysters as virus carriers. *Am. J. Hyg.* 79:134-142.
- Horsfall, F. L., and I. Tamm (eds.). 1965. *Viral and rickettsial infections of man*. J. B. Lippincott Company, Philadelphia.
- Jackson, G. J. 1975. The "new disease" status of human anisakiasis and North American cases: a review. *J. Milk Food Technol.* 38:769-773.
- Jacobs, L. 1962. Parasites in food. *In* J. C. Ayres, A. A. Kraft, H. Walker, and H. Synder (eds.), *Chemical and biological hazards in foods*. Iowa State Univ. Press, Ames.
- Konowalchuk, J., and J. I. Speirs. 1974. Recovery of coxsackievirus B5 from stored lettuce. *J. Milk Food Technol.* 37:133-135.
- Konowalchuk, J., and J. I. Speirs. 1975. Survival of enteric viruses on fresh vegetables. *J. Milk Food Technol.* 38:469-473.
- Little, M. D., and J. MacPhail. 1972. Anisakid larvae from the throat of a woman in New York. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 22:609-612.
- Marth, E. H. 1967. Aflatoxins and other mycotoxins in agricultural products. *J. Milk Food Technol.* 30:192-198.
- Mason, J. O., and W. R. McLean. 1962. Infectious hepatitis traced to the consumption of raw oysters: an epidemiologic study. *Am. J. Hyg.* 75:90-111.
- Mateles, R. I., and G. N. Wogan. 1967. *Biochemistry of some foodborne microbial toxins*. The M.I.T. Press, Cambridge, Mass.
- Miyake, M., and M. Saito. 1965. Liver injury and liver tumors induced by toxins of *Penicillium islandicum* Sopp growing on yellowed rice. *In* G. N. Wogan (ed.), *Mycotoxins in foodstuffs*. The M.I.T. Press, Cambridge, Mass.
- Myers, B. J. 1970. Nematodes transmitted to man by fish and aquatic animals. *J. Wildlife Dis.* 6:266-271.
- Myers, B. J. 1975. The nematodes that cause anisakiasis. *J. Milk Food Technol.* 38:774-782.
- National Academy of Sciences. 1973. *Toxicants occurring naturally in foods*. Committee on Food Protection, Washington.
- Potter, N. N. 1973. Viruses in foods. *J. Milk Food Technol.* 36:307-310.
- Rechcigel, M. J. 1983. *Handbook of foodborne disease of biological origin*. CRC Press, Boca Raton, Fla.
- Scott, de B. 1965. Toxigenic fungi isolated from cereal and legume products. *Mycopath. Mycol. Appl.* 25:213-221.
- Scott, W. T., and L. B. Bullerman. 1975. Patulin: a mycotoxin of potential concern in foods. *J. Milk Food Technol.* 38:695-705.
- Speck, M. L. (ed.). 1984. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, 2d ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Spencer, F. M., and L. S. Monroe. 1975. *The color atlas of intestinal parasites*. Charles C. Thomas, Publisher, Springfield, Ill.
- Still, P. E., A. W. Macklin, W. E. Ribelin, and E. B. Smalley. 1971. Relationship of ochratoxin A to fetal death in laboratory and domestic animals. *Nature.* 234:563-569.
- Strock, N. R., and N. N. Potter. 1972. Survival of poliovirus and ECHO virus during simulated commercial egg pasteurization treatments. *J. Milk Food Technol.* 35:247-252.
- Sullivan, R., R. M. Marnell, E. P. Larkin, and R. B. Read, Jr. 1975. Inactivation of poliovirus 1 and coxsackievirus B-2 in broiled hamburgers. *J. Milk Food Technol.* 38:473-476.

- Trenk, H. W., M. E. Butz, and F. S. Chu. 1971. Production of ochratoxins in different cereal products by *Aspergillus ochraceus*. *Appl. Microbiol.* 21:1032-1036.
- United States Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. 1984. Proceedings of the Second National Conference for Food Protection. Washington, D.C.
- Van Walbeek, W. 1973. Fungal toxins in foods. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 6(2): 96-104.
- Withers, N. 1982. Ciguatera fish poisoning. *Am. Rev. Med.* 33:97-111.
- Wogan, G. N. (ed.). 1965. *Mycotoxins in foodstuffs*. The M.I.T. Press, Cambridge, Mass.

Investigación de los brotes de enfermedades alimentarias

La Comisión de Enfermedades Transmisibles que Afectan al Hombre, adscrita a la Asociación Internacional de Sanitarios de la Leche, de los Alimentos y del Medio ambiente, ha escrito un manual titulado *Procedimientos para Investigar Enfermedades de Origen alimentario* que ha sido publicado y recomendado por la citada asociación (1976). Gran parte de la revisión que se hace a continuación se basa en el contenido del citado manual, al cual se remite al lector para un estudio más completo del tema, para que conozca las formas clásicas que se deben emplear en los informes, y para que conozca una serie de pormenores que se deben omitir en una revisión de un libro de texto.

Varias publicaciones existentes realizadas por el Ministerio de Salud, Educación y Bienestar, por el Servicio de Salud Pública, y por el Centro de Control de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos, son asimismo excelentes fuentes de más información. El *Informe semanal sobre la Morbilidad y la Mortalidad* constituye un resumen semanal de las enfermedades (incluidos los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos) que se presentan en los Estados Unidos. En el *Resumen Anual de los Brotes de Enfermedades transmitidas por Alimentos* del CDC se pueden encontrar datos concretos sobre el número de casos y brotes de enfermedad habidos en un determinado año. En el Centro de Control de Enfermedades se puede encontrar una relación muy completa de las enfermedades transmitidas por alimentos, que incluye los agentes etiológicos, la naturaleza de los microorganismos, los períodos de incubación, las lesiones y los síntomas, la fuente o reservorio, la epidemiología, los alimentos implicados, y las medidas de control.

ENFERMEDADES ALIMENTARIAS

Las enfermedades alimentarias comprenden aquellas enfermedades debidas a la ingestión de cualquier alimento sólido, leche, agua o cualquier otra bebida. En el Capítulo 25º ya se han citado las enfermedades más importantes y sus causas: la intoxicación estafilocócica, producida por *Staphylococcus aureus*; el botulismo, producido por *Clostridium botulinum*; la gastroenteritis, producida por *C. perfringens*; las salmonelosis, entre las cuales se incluyen las fiebres tifoidea y paratifoidea, producidas por las serovares de *Salmonella*; las disenterías bacilares, producidas por especies del género *Shigella*; así como las enfermedades producidas por *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *E. coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes* y otras. Los investigadores de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos buscan estos microorganismos o las pruebas de su presencia y crecimiento. Otras enfermedades de origen alimentario son: la brucelosis, la difteria, la escarlatina, la amigdalitis séptica, la tuberculosis, la hepatitis infecciosa, y la tularemia. Se pueden encontrar infestaciones por parásitos, y envenenamientos por agentes químicos, por plantas, y por animales y también por radiaciones ionizantes.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION

Desde el punto de vista de la salud pública, los principales objetivos de la investigación de un brote de una enfermedad de origen alimentario, son: determinar de qué forma se contaminó el alimento y si en el alimento tuvo lugar el crecimiento de un microorganismo toxigénico o infeccioso, y averiguar cómo pudo tener lugar este crecimiento con el fin de tomar medidas para evitar que se vuelvan a repetir la misma serie de condiciones. Para alcanzar estos objetivos es preciso localizar e identificar el agente causal, determinar los medios de transmisión, demostrar la posibilidad de multiplicación del microorganismo que produce la enfermedad que se investiga, y, cuando se trata de infecciones, demostrar que el microorganismo patógeno en cuestión ha infectado a las víctimas de la enfermedad. Una investigación rápida también puede limitar la difusión del brote de enfermedad y, a veces, puede servir de ayuda a los médicos que se ocupan de tratar a las víctimas. La publicidad dada a un determinado brote de enfermedad y la explicación de su causa, pueden tener utilidad para educar y poner sobre aviso a la población y, por consiguiente, para evitar la presentación de futuros brotes.

PERSONAL QUE PARTICIPA EN LA INVESTIGACION

La organización de un equipo para investigar un brote de una enfermedad de origen alimentario es distinta según de qué negociado del Ministerio de Salud

Pública se trate, aunque, por lo general, este equipo estará formado por un jefe, un grupo de personas que trabaja sobre el terreno, es decir, en el lugar donde se ha presentado el brote de enfermedad, y otro grupo de personas que trabaja en el laboratorio. El grupo de personas que trabaja en el lugar donde se ha presentado el brote de enfermedad, entrevista a las personas, tanto enfermas como sanas, que ingirieron los alimentos sospechosos, a los médicos y a las enfermeras que están tratando a las víctimas de la enfermedad, y a las personas que se encuentran en el lugar donde se ha presentado la enfermedad; recoge muestras de los alimentos sospechosos y las envía al laboratorio; recoge muestras clínicas de los enfermos o de los manipuladores, en el caso de que esta toma de muestras esté indicada; inspecciona los locales donde se almacenaron, prepararon y sirvieron los alimentos; investiga en qué establecimiento fueron comprados los alimentos y las condiciones que reúne; y con los resultados de todas estas actividades cumplimenta informes apropiados que entrega al jefe del equipo y al grupo de personas que trabaja en el laboratorio. El grupo que trabaja en el laboratorio lleva a cabo los análisis microbiológicos y químicos aconsejados tanto por los informes del grupo que trabaja en el lugar donde se ha presentado el brote de enfermedad como por la naturaleza del alimento, y registra sus resultados en los correspondientes espacios en blanco de los informes. A continuación, el jefe del equipo de investigación, o un epidemiólogo cualificado, puede interpretar los datos obtenidos de todas las procedencias para determinar la causa y el origen del brote de enfermedad. El manual que ha sido citado al principio de este capítulo hace constar que, a veces, en la investigación de brotes de enfermedad de este tipo puede ser necesaria la colaboración conjunta del epidemiólogo, del oficial sanitario, de los médicos, de las enfermeras, de los veterinarios, de los sanitarios, de los ingenieros de sanidad, de los técnicos de laboratorio, y de los estadísticos.

MATERIALES Y EQUIPO NECESARIOS

El equipo y materiales necesarios para habilitar un dispositivo de campo con el fin de tomar muestras de alimentos y enviarlas al laboratorio incluyen frascos estériles y dispositivos estériles para la toma de muestras, un termómetro, un mechero de alcohol, hisopos estériles introducidos en un diluyente, papel de envolver estéril, cinta adhesiva para cerrar herméticamente las muestras, toallas de papel estériles, hielo, una caja aislada para el envío de muestras, y formularios para el registro de datos. Los materiales preparados incluirían material de vidrio estéril, blancos de agua, medios de cultivo apropiados, soluciones patrón, materiales y equipo de serología, y jeringas y agujas hipodérmicas, y también animales de experimentación. A ser posible, el personal que trabaja en el laboratorio debe ser avisado con la antelación suficiente para que esté preparado para hacerse cargo de las muestras en el momento que lleguen al mismo. En la obra de Speck

(1984) que figura en la bibliografía al final del presente capítulo, se pueden encontrar ejemplos concretos de técnicas para la recogida de muestras.

LA INVESTIGACION SOBRE EL TERRENO

Si se quiere que la investigación de los brotes de enfermedad dé buenos resultados, es de capital importancia su rápida denuncia a las autoridades sanitarias; no obstante, a veces esta denuncia se suele demorar. La denuncia la suelen hacer los médicos, los hospitales, las agencias de noticias, e incluso procede de rumores. También es importante iniciar rápidamente la investigación porque es posible que sólo se disponga durante poco tiempo tanto de muestras de los alimentos sospechosos como de muestras procedentes de las personas enfermas, porque los datos que se obtienen inmediatamente después de iniciada la enfermedad son más fiables que los que se obtienen más tarde, y porque se puede evitar que se presenten más casos del brote de enfermedad.

Recogida de datos

Inmediatamente se procede a efectuar una inspección completa del local o locales donde se prepararon y consumieron la comida, las comidas, o las bebidas sospechosas, anotándose los resultados obtenidos en formularios apropiados. Los datos buscados incluyen el menú del cual formaban parte el plato o platos sospechosos, la procedencia y el procedimiento de preparación de cada plato del menú, los procedimientos de conservación de los alimentos perecederos, la procedencia de los alimentos servidos, y el estado sanitario de los empleados que sirvieron y prepararon los alimentos, y su historial clínico. Se toma nota de las infecciones existentes en las partes del cuerpo de los empleados que se hallan al descubierto y de las condiciones higiénicas que reúne el establecimiento.

Teóricamente, se debe entrevistar a todas las personas que se encontraban presentes en el momento que se consumió la comida sospechosa, incluyendo a todas aquéllas que la prepararon, sirvieron, o comieron, y a los médicos que están tratando o trataron a las víctimas de la enfermedad. En realidad, en los brotes importantes, no suele ser posible entrevistar a todas las personas que han sido afectadas por la enfermedad. Geidt (1957) ha indicado que en los brotes de enfermedad en los cuales las personas afectadas no son más de 20, se debe intentar entrevistarlas a todas ellas; si el número de personas afectadas fuese de aproximadamente unas 50, se debería interrogar a aproximadamente la mitad, incluyendo en las personas interrogadas un número proporcional tanto de las que enfermaron como de las que no enfermaron; y por último, cuando el número de personas afectadas es de 100 o más, se debe entrevistar aproximadamente el 25

por cien del número total. La información obtenida se puede registrar de forma parecida al denominado «Cuestionario de la Historia Clínica» que figura en el manual mencionado anteriormente en el que existe un espacio para anotar los siguientes datos: la edad y el sexo de cada una de las personas entrevistadas; si la persona entrevistada participó de la comida sospechosa y, en caso positivo, el momento exacto en el cual la ingirió; si enfermó y, en caso de haber enfermado, la duración del período de incubación y los síntomas de la enfermedad; y qué alimentos y qué bebidas ingirió de los que figuran en la lista de los alimentos y bebidas servidos. Posteriormente, las historias clínicas se resumen en otro formulario, y mediante estos datos se localiza el alimento sospechoso.

Recogida de muestras de alimentos

Se deben recoger asépticamente muestras de todos los alimentos y bebidas sobrantes servidos en la comida o comidas sospechosas, mientras que las muestras de los alimentos perecederos se deben refrigerar inmediatamente y se deben mantener frías durante su envío al laboratorio. Las muestras de alimentos se deben recoger asépticamente mediante dispositivos estériles para la toma de muestras e introducir las en envases estériles. Si los alimentos se encuentran en envases de pequeño formato, se deben recoger, como muestra, envases enteros sin abrir. Es fundamental etiquetar todas y cada una de las muestras haciendo constar en las etiquetas datos tales como los siguientes: tipo de alimento, lugar y hora de la recogida de la muestra, motivo de haberla recogido, microorganismo o agente químico sospechoso, y cualquier otro dato que se estime pertinente. Cada muestra se debe cerrar herméticamente, tanto por lo que se refiere al recipiente interno como al externo, adhiriendo en la parte externa de este último una etiqueta en la que conste la fecha y la hora de su recogida así como el nombre de la persona que la recogió y cerró ambos recipientes. A las muestras se debe adjuntar un informe con todos los datos que se tienen en el momento de su recogida (véase el epígrafe anterior), y se deben hacer constar los motivos por los cuales se sospecha de uno o más alimentos.

Por desgracia, muchas veces ya no se dispone de las muestras de alimentos buscadas, como son los restos de alimentos de las fuentes en las cuales se sirvió el alimento, o las muestras de los recipientes que lo contuvieron. En tal caso, la persona que recoge las muestras debe decidir qué tipo de muestra debe recoger: aclarados, desperdicios, o una muestra de alimento manipulada de la misma forma que el alimento sospechoso. Si el alimento sospechoso es un alimento enlatado, la primera elección consiste en obtener la muestra de alimento del sobrante de una de las latas utilizadas, aunque es posible que, en el mejor de los casos, sólo se disponga de latas pertenecientes al mismo lote que las utilizadas. Cuando se trata de alimentos enlatados que se adquieren en el comercio, se debe anotar la marca y el número correspondiente al lote de fabricación, mientras que cuando se trata de conservas caseras enlatadas se debe averiguar el procedi-

miento utilizado en el enlatado y el tipo de tratamiento térmico a que fueron sometidas las latas. Si es probable que se tenga que iniciar un expediente legal, las muestras de alimentos se deben recoger, etiquetar, y cerrar en presencia de testigos.

Recogida de muestras en las personas

Las muestras se pueden obtener de personas que padecen enfermedades alimentarias o de manipuladores de alimentos, a veces con objeto de descubrir el agente causal del brote de enfermedad y, con mayor frecuencia, para averiguar el origen más remoto del microorganismo patógeno que llegó al alimento. La clase de muestra a recoger dependerá, naturalmente, de la enfermedad de que se trate. Se realizan cultivos con muestras obtenidas de las fosas nasales, de la garganta, o de la piel de los manipuladores de alimentos con el fin de descubrir la existencia de estafilococos capaces de producir enterotoxina. Las muestras de heces se utilizan para llevar a cabo pruebas que pongan de manifiesto la presencia de microorganismos capaces de producir infecciones entéricas, como son las especies de los géneros *Salmonella* y *Shigella*; es posible que las pruebas tengan por objeto descubrir portadores entre los manipuladores de alimentos o identificar el agente causal de la enfermedad en las personas afectadas. Las muestras de sangre de los enfermos se pueden utilizar para realizar pruebas serológicas encaminadas a la identificación y tipificación de ciertos microorganismos patógenos, como es el caso de las especies de *Salmonella*. Cuando se sospecha de un envenenamiento por algún agente químico, se puede analizar el vómito. En la Tabla 26.1 se puede encontrar una relación completa de las muestras que se proponen para ser analizadas de acuerdo con los síntomas predominantes y la duración del período de incubación.

PRUEBAS DE LABORATORIO

La técnica a seguir en el análisis de las muestras de alimentos o en el de las muestras recogidas en las personas tras su llegada al laboratorio, dependerá tanto de la clase de alimento como de los datos que se tengan acerca del brote de enfermedad de origen alimentario. En la Tabla 26.2 se describe la pauta que se propone para analizar los alimentos que se consideran vehiculadores de microorganismos en enfermedades de origen alimentario. Cuanto mayor sea el número de datos de que se dispone acerca del brote de enfermedad, tanto más fácil es para el laboratorio seleccionar el tipo de análisis a realizar. Serán especialmente útiles los datos fiables sobre los síntomas que presentan las personas que han contraído la enfermedad y sobre la duración del período de incubación (véanse los Capítulos 24 y 25).

En la mayoría de los laboratorios, se empieza por realizar un examen microscópico de una preparación del alimento teñida por el método de Gram. El frotis se hace con líquido¹ o a partir del sedimento que se obtiene después de homogeneizar y centrifugar el alimento. El examen microscópico puede proporcionar una pista para identificar el microorganismo causante de la enfermedad y, si la muestra ha sido refrigerada convenientemente, puede orientar acerca del número de microorganismos existentes en el alimento. Los procedimientos que se utilizan en los análisis encaminados a investigar los distintos agentes causales de las enfermedades de origen alimentario más importantes, caen fuera del alcance de esta obra. Las técnicas recomendadas se pueden encontrar tanto en la obra de Speck (1984) como en el Manual de Análisis Bacteriológico de la FDA.

INTERPRETACION Y APLICACION DE LOS RESULTADOS

Si los resultados de las investigaciones realizadas sobre el terreno y de los análisis efectuados en el laboratorio son completos, pueden llevar al descubrimiento del alimento culpable y a la localización y eliminación del origen más remoto del agente causante del brote de la enfermedad alimentaria que se está investigando. Por los motivos señalados anteriormente, con frecuencia los datos son incompletos y de aquí que es posible que la prueba de indicios tenga que ser sustituida por una prueba confirmativa.

Cuando se trata de brotes de poca importancia, como por ejemplo cuando se trata de brotes que se presentan en el seno de una familia, la localización del alimento responsable de la enfermedad es bastante fácil. La Tabla 26.3 resume un informe simplificado correspondiente a un brote de este tipo. Evidentemente, en el brote al que se refiere la citada Tabla, los pastelillos de chocolate² son el alimento del que hay que sospechar, y dado el tipo de alimento y la corta duración del período de incubación (de 2½ a 4 horas), es probable que se trate de una intoxicación estafilocócica. El origen de los estafilococos se debería buscar en los manipuladores de alimentos de la panadería de la que procedían los pastelillos.

Cuando el número de personas implicadas en un brote es medianamente elevado, resulta difícil obtener datos completos y exactos. Es posible que no todas las personas estén en condiciones de ser entrevistadas, no todas las personas sean igualmente sensibles a la enfermedad, y que la gente olvide con facilidad lo que comió exactamente. Un medio de descubrir el alimento nocivo consiste en establecer una comparación entre el porcentaje de personas que comieron de

¹ N. del T.: Se suele preparar una suspensión del alimento en SFE.

² N. del T.: Los pastelillos de chocolate (chocolate éclairs) son unos pastelillos de forma alargada, cubiertos de crema cocida de chocolate y glaseados por encima.

Tabla 26.1. Guía para la realización de pruebas de laboratorio de acuerdo con determinados síntomas y la duración del período de incubación.

Período de incubación	Síntomas predominantes	Muestras a analizar	Microorganismo, toxina, o sust. tóxicas
<i>Aparecen en primer lugar, o predominan, los síntomas de tracto gastrointestinal superior (náuseas, vómitos)</i>			
Menos de 1 h	Náuseas, vómitos, sabor raro y ardor en la boca	Vómito, orina, sangre, deposiciones	Compuestos metálicos*
De 1 a 2 h	Náuseas, vómitos, cianosis, cefalalgia, vértigo, disnea, temblores, debilidad, pérdida del conocimiento	Sangre	Nitritos ^a
De 1 a 6 h media de 2 a 4 h	Náuseas, vómitos, arcadas, diarrea, dolor abdominal, abatimiento	Vómito, deposiciones	<i>Staphylococcus aureus</i> y sus enterotoxinas
De 8 a 16 h (rara vez de 2 a 4 horas)	Vómitos, retortijones abdominales, diarrea, náuseas	Vómito, deposiciones	<i>Bacillus cereus</i>
De 6 a 24 h	Náuseas, vómitos, diarrea, sed, dilatación pupilar, colapso, coma	Orina, sangre	Setas del género <i>Amanita</i> ^b
<i>Dolor de garganta y síntomas respiratorios</i>			
De 12 a 72 h	Dolor de garganta, fiebre, náuseas, vómitos, destilación nasal, a veces erupción cutánea	Hisopo de garganta	<i>Streptococcus pyogenes</i>
De 2 a 5 días	Inflamación de la mucosa de la garganta y vías nasales, abundante exudado de color grisáceo, fiebre, escalofríos, dolor de garganta, malestar, dificultad de la deglución, edema de los ganglios linfáticos cervicales	Hisopos de garganta, sangre	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>
<i>Aparecen en primer lugar, o predominan, los síntomas de tracto gastrointestinal inferior (retortijones abdominales, diarrea)</i>			
De 8 a 22 horas, media de 10 a 12 horas	Retortijones abdominales, diarrea, diarrea putrefactiva relacionada con <i>C. perfringens</i>	Deposiciones	<i>Clostridium perfringens</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Streptococcus faecalis</i> , <i>S. faecium</i>

De 12 a 74 h, media de 18 a 36 h	Retorrijones abdominales, diarrea, vómitos, fiebre, escalofríos, malestar	Deposiciones	<i>Salmonella</i> (incluso <i>S. arizonae</i>), <i>Shigella</i> , <i>Escherichia coli</i> enteropatógeno, otras <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (?), <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Plestiomonas shigelloides</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Vibrio cholerae</i> (serotipos 01 y no 01), <i>V. parahaemolyticus</i> Virus entéricos
De 3 a 5 día	Diarrea, fiebre, vómitos, dolor abdominal, síntomas respiratorios	Deposiciones	Virus entéricos
De 1 a 6 semanas	Diarrea mucoides (deposiciones grasas), dolor abdominal, pérdida de peso	Deposiciones	<i>Giardia lamblia</i>
De 1 a varias semanas, media de 3 a 4 semanas	Dolor abdominal, diarrea, estreñimiento, cefalalgia, somnolencia, úlceras, curso variable—con frecuencia cursa sin síntomas	Deposiciones	<i>Entamoeba histolytica</i>
De 3 a 6 meses,	Nervosidad, insomnio, contracciones del hambre, anorexia, pérdida de peso, a veces gastroenteritis	Deposiciones	<i>Taenia saginata</i> , <i>T. solium</i>

Síntomas nerviosos (trastornos visuales, vértigo, hormigueo, parálisis)

Menos de 1 hora	Hormigueo y adormecimiento, vértigo, tambaleo, somnolencia, tirantez de garganta, habla incoherente, parálisis respiratoria Gastroenteritis, nervosidad, visión borrosa, dolor torácico, cianosis, contracciones nerviosas, convulsiones	Sangre, orina, biopsia de grasa	Insecticidas orgánicos fosfatados
			Toxina de los mariscos

* Pensar en la realización de ensayos químicos para investigar sustancias tales como zinc, cobre, plomo, cadmio, arsénico, y antimonio.

^a Prueba que detecta los nitritos mediante el cambio de color de la sangre.

^b Identificar la especie de seta ingerida; ensayar orina y sangre para poner de manifiesto la existencia de lesiones hepáticas [pruebas enzimáticas de la SGOT (transaminasa glutámico-oxalacética sérica); y de la SGPT (transaminasa glutámico-pirúvica sérica)].

(continúa)

Tabla 26.1. (Continuación).

Período de incubación	Síntomas predominantes	Muestras a analizar	Microorganismo, toxina, o sust. tóxicas
Menos de 1 hora (continuación)	Salivación profusa, sudoración, gastroenteritis, pulso irregular, contracción pupilar, respiración asmática Hormigueo y adormecimiento, vértigo, palidez, gastroenteritis, hemorragias, descamación de la piel, mirada fija, pérdida de reflejos, contracciones nerviosas, parálisis	Orina	Setas de tipo Muscaria
De 1 a 6 horas	Hormigueo y adormecimiento, gastroenteritis, vértigo, sequedad de boca, dolores musculares, dilatación pupilar, visión borrosa, parálisis Náuseas, vómitos, hormigueo, vértigo, debilidad, anorexia, pérdida de peso, aturdimiento	Sangre, orina, deposiciones, lavados de estómago Sangre, deposiciones	Toxina de ciguatera Hidrocarburos clorados (insecticidas) <i>Clostridium botulinum</i> y sus neurotoxinas
De 12 a 72 horas	Vértigo; visión doble o borrosa; pérdida del reflejo a la luz; dificultades para deglutir, para hablar, y para respirar; sequedad de boca; debilidad; parálisis respiratoria	Orina, sangre, deposiciones, pelo	Mercurio orgánico
Más de 72 horas	Adormecimiento, debilidad de extremidades inferiores, parálisis espástica, trastornos de la visión, ceguera, coma Gastroenteritis, dolor en extremidades inferiores, marcha torpe al subir escalones, pies y muñecas caídos	Fosfato de triortocresilo	
<i>Síntomas alérgicos (enrojecimiento y picor de cara)</i>			
Menos de 1 hora	Cefalalgia, vértigo, náuseas, vómitos, sabor picante, ardor de garganta, inflamación y rubor de cara, dolor de estómago, prurito cutáneo	Vómito	Histamina*

<p>Adormecimiento alrededor de la boca, sensación de hormigueo, rubor, vértigo, cefalalgia, náuseas Rubor, sensación de calor, prurito, dolor abdominal, hemorragias, inflamación de la cara y de las rodillas</p>	<p>Glutamato monosódico (Síndrome de los restaurantes chinos) Acido nicotínico</p>
<p>Síntomas de infección generalizada (fiebre, escalofríos, malestar, abatimiento, dolores, linfadenitis)</p>	
<p>De 4 a 28 días, media de 9 d</p>	<p>Gastroenteritis, fiebre, edema alrededor de los ojos, sudoración, dolor muscular, postración y respiración dificultosa, escalofríos</p>
<p>De 7 a 28 días, media de 14 d</p>	<p>Malestar, cefalalgia, fiebre, tos, náuseas, vómitos, estreñimiento, dolor abdominal, escalofríos, manchas de color rosado, deposiciones sanguinolentas</p>
<p>De 10 a 13 días</p>	<p>Fiebre, cefalalgia, mialgia, erupción cutánea</p>
<p>De 10 a 50 días, media de 25 a 30 días</p>	<p>Fiebre, malestar, cansancio, anorexia, náuseas, dolor abdominal, ictericia</p>
<p>Varias duraciones (según la enfermedad de que se trate)</p>	<p>Fiebre, escalofríos, dolor de cabeza o de articulaciones, abatimiento, malestar, linfadenitis, y demás síntomas específicos de la enfermedad en cuestión</p>
<p>Biopsia muscular</p>	<p><i>Trichinella spiralis</i></p>
<p>Deposiciones, sangre</p>	<p><i>Salmonella typhi</i></p>
<p>Biopsia de ganglios linfáticos</p>	<p><i>Toxoplasma gondii</i></p>
<p>Orina, sangre</p>	<p>Agentes etiológicos todavía no aislados, probablemente agentes víricos</p>
<p>Sangre, deposiciones, orina, esputos, ganglios linfáticos, lavados de estómago (uno o más, según el microorganismo)</p>	<p><i>Bacillus anthracis</i>, <i>Brucella melitensis</i>, <i>B. abortus</i>, <i>B. suis</i>, <i>Coxiella burnetii</i>, <i>Francisella tularensis</i>, <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Mycobacterium tuberculosis</i>, <i>Mycobacterium</i> spp., <i>Pasteurella multocida</i>, <i>Sireptobacillus moniliformis</i>, <i>Campylobacter jejuni</i></p>

* Se debe pensar en la intoxicación por ingestión de escómbridos. Analizar los alimentos para detectar en los mismos la presencia de especies de *Proteus* o de otros microorganismos capaces de descarboxilar la histidina y dar histamina, o la presencia de histamina.
 Fuente: Speck (1984).

Tabla 26.2. Guía para el análisis de alimentos declarados transmisores de enfermedades alimentarias, de los sospechosos como vehiculadores, o de los implicados en su transmisión.

<i>Alimentos</i>	<i>Microorganismo, toxina o sustancia tóxica</i>
Bebidas refrescantes, zumos de frutas, y concentrados de frutas (con envases metálicos o de las máquinas expendedoras)	Pruebas para investigar cationes tales como cobre, zinc, cadmio, plomo, antimonio, y estaño
Alimentos enlatados	<i>Clostridium botulinum</i> y sus neurotoxinas
Cereales, arroz, alimentos que contienen almidón de maíz	<i>Bacillus cereus</i> , micotoxinas
Artículos de panadería rellenos de nata	<i>Staphylococcus aureus</i> y sus enterotoxinas, <i>Salmonella</i> spp.
Productos de pastelería	<i>Salmonella</i> spp.
Huevos y derivados	<i>Salmonella</i> spp.
Moluscos	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> , toxina del marisco (<i>Saxotoxina</i>), <i>V. cholerae</i> , virus de la hepatitis A (implicación epidemiológica solamente)
Frutas y hortalizas crudas	Parásitos, <i>Shigella</i> spp.
Ensaladas mixtas de hortalizas, de carne, de carne de ave y de pescado	<i>Staphylococcus aureus</i> y sus enterotoxinas, <i>Salmonella</i> spp., estreptococos beta-hemolíticos, <i>Shigella</i> spp. <i>Escherichia coli</i> enteropatógeno
Carne y carne de ave, y alimentos mixtos que contienen carne y carne de ave	<i>Salmonella</i> spp., <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y sus enterotoxinas, <i>Taenia</i> spp.
Jamón	<i>Staphylococcus aureus</i> y sus enterotoxinas, <i>Trichinella spiralis</i>
Carnes fermentadas	<i>Staphylococcus aureus</i> y sus enterotoxinas,
Pescado	<i>Staphylococcus aureus</i> y sus enterotoxinas <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , histamina (<i>Proteus</i> spp.) tóxicos del pescado, <i>V. cholerae</i> (01 y no 01), <i>V. vulnificus</i> nemátodos del género <i>Anisakis</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Plesiomonas shigelloides</i> , tenias de especies pertenecientes al género <i>Diphyllobothrium</i>
Crustáceos	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> , tóxicos del pescado, <i>V. cholerae</i> (01 y no 01), <i>V. vulnificus</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Plesiomonas shigelloides</i>
Queso	<i>Staphylococcus aureus</i> y sus enterotoxinas, <i>Brucella</i> spp., <i>Escherichia coli</i> enteropatógeno
Leche en polvo	<i>Salmonella</i> spp., <i>Staphylococcus aureus</i> y sus enterotoxinas
Leche fresca	<i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Brucella</i> spp., <i>Salmonella</i> spp., <i>Coxiella burnetii</i>

Fuente: Speck (1984).

todos los alimentos y el porcentaje de aquéllas que enfermaron. Una casuística completa incluye los datos relativos al grupo de personas que comieron de todos los alimentos servidos, al grupo de personas que no comieron de todos los alimentos, y, para cada uno de los alimentos, el porcentaje de personas que,

Tabla 26.3. Resumen de datos relativos a un brote de enfermedad transmitida por alimentos presentado en una familia.

Nombre	Edad, años	Tiempo que tardan en aparecer los 1 ^{rs} . síntomas, horas	Alimentos consumidos								
			Hamburguesas	Salsa	Patas	Macedonia de frutas de chocolate	Pastelillos frescos	Leche	Café entlatadas	Cerezas entlatadas	
Jones, John	35	3	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Jones, Mary	33	2½	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Jones, Wm.	4			✓	✓			✓			
Jones, Ruth	8	4	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Jones, Mabel	63		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

* Náuseas, vómitos, retortijones abdominales, diarrea.

comiendo de todos los alimentos, enfermaron. El porcentaje más elevado de personas enfermas se debe encontrar en el grupo que comió el alimento nocivo, en el que el porcentaje de personas enfermas debe ser notablemente superior a los porcentajes de enfermos correspondientes a los demás alimentos ingeridos. El porcentaje más bajo de personas enfermas se debe encontrar en el grupo de las que no comieron el alimento nocivo. Los análisis estadísticos son de utilidad para determinar el alimento causante de un brote de enfermedad importante. Las conclusiones definitivas en relación con el alimento implicado solamente se pueden obtener después de haber tenido en cuenta los resultados de las pruebas de laboratorio.

Según se ha indicado anteriormente, la probabilidad de que un brote de enfermedad sea atendido por los organismos de sanidad locales, o estatales, varía considerablemente y depende, en gran parte, de la colaboración que preste el médico que atiende a los enfermos (en el caso de que haya sido consultado) y del nivel de conocimiento del común del pueblo. Generalmente, los funcionarios locales de salud pública son responsables de la mayor parte de las investigaciones epidemiológicas y de la realización de los primeros informes. Esta información es enviada a los organismos estatales de sanidad y, una vez reflejada en los formularios normalizados que facilita el CDC, se remite a este Centro. Algunas veces, por ejemplo, cuando se trata de un brote de botulismo, el CDC trabajará en estrecha colaboración con las personas que realizan la primera investigación, mientras que otras veces será consultado acerca de la forma de llevarla a cabo. Según se expone en la Tabla 26.4, los datos que se tienen en cuenta para confirmar los brotes, se basan en criterios clínicos, laboratoriales y epidemiológicos. Solamente se registran como brotes confirmados aquellos en los cuales se dispone de suficientes datos que satisfagan estos criterios.

Según ya se ha señalado anteriormente, uno de los principales objetivos de la investigación consiste en localizar la fuente de donde procede el agente causal de la enfermedad alimentaria, con el fin de que pueda ser suprimida esta fuente y se puedan prevenir futuros brotes. La localización de la fuente también suele requerir un análisis de los datos, tanto por lo que se refiere a los obtenidos sobre el terreno donde se realiza la investigación como a los obtenidos en el laboratorio. Una investigación de un brote de enfermedad alimentaria totalmente satisfactoria descubre el alimento responsable de la transmisión de la enfermedad, identifica el agente causal, descubre la fuente de contaminación del alimento con este agente, y elimina la fuente de donde procede.

MEDIDAS PREVENTIVAS

En los Capítulos 24 y 25 han sido expuestas las medidas profilácticas aplicables a los brotes de enfermedades alimentarias correspondientes a las intoxicaciones

Tabla 26.4. Criterios a satisfacer antes de la confirmación de un brote de enfermedad.

Agente etiológico	Síndrome clínico	Criterios de laboratorio y/o epidemiológicos
<i>Bacillus cereus</i>	Período de incubación de 2 a 16 horas Síndrome gastrointestinal:	Aislamiento de 10^5 microorganismos por gramo en el alimento implicado desde el punto de vista epidemiológico
<i>Clostridium botulinum</i>	Incubación de 2 horas a 8 días (normalmente de 12 a 48 horas) Síndrome clínico compatible con el botulismo (véase el Manual del Botulismo del CDC (*))	<ul style="list-style-type: none"> ○ Aislamiento del microorganismo en las deposiciones de las personas enfermas ○ Descubrimiento de la toxina botulínica en el suero o en las heces de las personas en los alimentos ○ Aislamiento de <i>C. botulinum</i> en los alimentos o en las deposiciones implicados desde el punto de vista epidemiológico ○ Alimentos implicados desde el punto de vista epidemiológico
<i>Clostridium perfringens</i>	Período de incubación de 9 a 15 horas Síndrome del último tramo del intestino: la mayoría de los casos con diarrea, pero con escasos vómitos y poca fiebre	Microorganismos del mismo serotipo en los alimentos implicados epidemiológicamente y en las deposiciones de las personas enfermas
<i>Escherichia coli</i>	Período de incubación de 6 a 36 horas Síndrome gastrointestinal: la mayoría de los casos con diarrea	<ul style="list-style-type: none"> ○ Aislamiento de microorganismos con el mismo serotipo en las deposiciones de la mayoría de las personas enfermas y no en las de los testigos ○ 10^5 microorganismos por gramo en los alimentos implicados epidemiológicamente proporcionaron una muestra apropiada para ser manipulada correctamente ○ Demostración de microorganismos del mismo serotipo tanto en los alimentos implicados epidemiológicamente como en las deposiciones de las personas enfermas y no en las deposiciones de los testigos ○ Aislamiento de 10^5 microorganismos del mismo serotipo por gramo del alimento implicado ○ Aislamiento de un microorganismo del mismo serotipo en las deposiciones de la mayoría de las personas enfermas y, si es posible, los microorganismos deben ser ensayados en cuanto a su enterotoxigenicidad y a su capacidad invasora mediante técnicas de laboratorio especiales

(*) N. del T.: CDC = Control Disease Center.

(continúa)

Tabla 26.4. (Continuación).

Agente etiológico	Síndrome clínico	Criterios de laboratorio y/o epidemiológicos
<i>Salmonella</i>	Período de incubación de 6 a 48 horas Síndrome gastrointestinal: la mayoría de los casos con diarrea	Aislamiento de <i>Salmonella</i> en los alimentos epidemiológicamente implicados o Aislamiento de <i>Salmonella</i> en las deposiciones de las personas enfermas
<i>Shigella</i>	Período de incubación de 12 a 50 horas Síndrome gastrointestinal: la mayoría de los casos con diarrea	Aislamiento de <i>Shigella</i> en los alimentos epidemiológicamente implicados o Aislamiento de <i>Shigella</i> en las deposiciones de las personas enfermas
<i>Staphylococcus aureus</i>	Período de incubación de 30 minutos a 8 horas (normalmente de 2 a 4 horas) Síndrome gastrointestinal: la mayoría de los casos con vómitos	Descubrimiento de enterotoxina en los alimentos epidemiológicamente implicados o Microorganismos con el mismo fagotipo en las deposiciones o en el vómito de las personas enfermas y, a ser posible, en los alimentos epidemiológicamente implicados y/o en la piel o en las fosas nasales de los manipuladores de alimentos o Aislamiento de 10^5 microorganismos por gramo en los alimentos epidemiológicamente implicados (generalmente alimentos marinos) o Aislamiento de 10^5 microorganismos por gramo en los alimentos epidemiológicamente implicados (generalmente alimentos marinos)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Período de incubación de 1.5 a 24 horas Síndrome gastrointestinal: la mayoría de los casos con diarrea	Aislamiento de microorganismos Kanagawa-positivos del mismo serotipo en las deposiciones de las personas enfermas

Fuente: Resumido de Center For Disease Control (1976b).

e infecciones más importantes. Los principios generales en los cuales se basan estas medidas son:

- 1 Evitar, en cuanto sea posible, que los alimentos se contaminen con agentes patógenos mediante la selección de alimentos que no estén contaminados, mediante la adecuada pasteurización de los mismos o sometiéndolos a otro tipo de tratamiento térmico, evitando que contacten con ellos animales dañinos portadores de microorganismos patógenos, evitando que se contaminen a partir de manipuladores o portadores infectados, y mediante la observación de unas normas de higiene general apropiadas durante las fases de manipulación y preparación de los alimentos, así como cuando se sirven para ser consumidos.
- 2 Eliminar las ocasiones apropiadas para que los microorganismos patógenos, toxigénicos o infecciosos se multipliquen en los alimentos, ajustando su composición, consumiéndolos inmediatamente una vez preparados, y refrigerando convenientemente los que sean perecederos en el caso de que se tengan que guardar durante un tiempo considerable. Se debe tener especial cuidado en no mantener calientes los alimentos durante mucho tiempo.
- 3 Rechazar los alimentos sospechosos.
- 4 Educar mejor al común del pueblo sobre cuanto tiene relación con las causas y la prevención de las enfermedades transmitidas por los alimentos y con los peligros que dichas enfermedades entrañan.

BIBLIOGRAFIA

- Center for Disease Control. 1976a. Diseases transmitted by foods: a classification and summary. U.S. Dept. of Health, Education, and Welfare Publ. (CDC) 76-8237. Atlanta.
- Center for Disease Control. 1976b. Foodborne and waterborne disease outbreaks annual summary 1975. U.S. Dept. of Health, Education, and Welfare Publ. (CDC) 76-8185, Atlanta.
- Geidt, W. R. 1957. The field application of the "suggested procedures for the investigation of foodborne disease outbreaks." *J. Milk Food Technol.* 10:39-43.
- International Association of Milk, Food, and Environmental Sanitarians, Inc. 1976. Procedures to investigate foodborne illness, Ames, Iowa.
- Reimann, H. (ed.). 1969. Foodborne infections and intoxications. Academic Press, Inc., New York.
- Speck, M. L. (ed.). 1984. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 2d ed. American Public Health Association, Washington, D.C.

002266

Sexta parte

Saneamiento, control, e inspección de los alimentos

El saneamiento, el control y la inspección de los alimentos han sido examinados principalmente desde el punto de vista microbiológico.

00287

Microbiología del saneamiento de alimentos

Durante las operaciones de preparación, tratamiento y envasado de los productos alimenticios en una planta, o plantas, de fabricación, las prácticas higiénicas, la limpieza y saneamiento generales de la planta y de los locales, y la salud de los empleados, corren a cargo del inspector de sanidad de la industria alimentaria. Sus obligaciones específicas en relación con los productos alimenticios pueden comprender: el control de calidad y el almacenamiento de los alimentos frescos; el abastecimiento de un suministro de agua que reúna buenas condiciones; evitar la contaminación de los alimentos por el equipo, por el personal, y por animales dañinos, durante todas las fases de las operaciones de tratamiento; y la supervisión del envasado y almacenamiento de los productos acabados. La supervisión de la limpieza y saneamiento de la planta y de los locales consiste no sólo en mantener limpias y saneadas las superficies de todo el equipo que contacta con los alimentos, sino también en el cuidado del interior de la planta y de sus alrededores y en el tratamiento y eliminación adecuados de los desperdicios. Las obligaciones que afectan a la salud de los empleados incluyen el suministro de agua potable, la supervisión del material de higiene personal, la regulación de las condiciones sanitarias en la planta y en sus dependencias, y el contacto con los aspectos higiénicos de iluminación, calefacción y ventilación de la planta. El inspector de sanidad también puede participar en la enseñanza de las prácticas de higiene a los empleados. Aquí sólo se examinarán los aspectos bacteriológicos del saneamiento de la planta. Por lo que se refiere a otras facetas de este problema, se remite al lector a la bibliografía que figura al final del presente capítulo.

Los inspectores sanitarios se preocupan, principalmente, de los aspectos generales del saneamiento realizando inspecciones, consultando con el personal

responsable y con los ejecutivos que dirigen este trabajo los detalles del saneamiento, e instruyendo al personal en prácticas de saneamiento. Pueden estar relacionados, o no, con el laboratorio de la planta.

BACTERIOLOGIA DE LOS ABASTECIMIENTOS DE AGUA

El agua que se utiliza como agua de bebida y la que se utiliza en la planta industrial pueden tener el mismo origen u orígenes distintos.

Agua de bebida

El agua que beben los empleados, cuando se analiza siguiendo las técnicas recomendadas en la última edición de *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (American Public Health Association, 1985)**, debe satisfacer las normas de salud pública. En ella no se deben encontrar bacterias coliformes en cantidades que indiquen su contaminación con aguas residuales. A veces se realizan recuentos en placa del número total de microorganismos para descubrir cuando se inicia un problema, de forma que este problema pueda ser soslayado.

Agua para uso industrial

Todo el agua que contacta con los alimentos debe satisfacer los patrones bacteriológicos del agua de bebida, y, a ser posible, el agua dulce de la planta industrial debe cumplir este requisito. Pero este agua también debe ser satisfactoria desde el punto de vista bacteriológico para ser utilizada concretamente en el alimento que se está tratando. Con todo, un agua puede ser considerada potable y sin embargo es posible que no sea recomendable para ser utilizada en un determinado alimento. Así por ejemplo, un agua que contenga una apreciable cantidad de microorganismos psicrófilos de los géneros *Pseudomonas* o *Alcaligenes*, si no se trata, tal vez no sea recomendable utilizarla en una industria de productos lácteos que fabrique mantequilla o requesón. El crecimiento con formación de mucílago de las bacterias ferruginosas en las tuberías de conducción del agua suele ocasionar problemas en las industrias alimentarias.

Probablemente tenga mayor importancia la composición química del agua, que debe ajustarse al uso que se va a hacer de ella. De acuerdo con ello, el agua

* N. del T.: Técnicas Patrón para el Análisis de Agua y Aguas residuales (*Asociación Americana de Salud Pública, 1985*).

dura no es deseable ni en las industrias que se dedican a la fabricación de guisantes enlatados, ni en las fábricas de cerveza; el hierro y el manganeso son perjudiciales en el enlatado de remolacha y en la fabricación de cerveza; el agua que contiene una cantidad excesiva de materia orgánica puede dar lugar a la aparición de sabores anormales, etc.

En las industrias de alimentos enlatados en las que se procede al enfriamiento de las latas después de haber sido sometidas a tratamiento térmico, la bacteriología del agua tiene un interés especial. Si el agua que se emplea en estas industrias contiene microorganismos capaces de alterar el alimento, puede penetrar en las latas defectuosas a través de grietas diminutas e incrementar el porcentaje de latas que se estropean durante el almacenamiento. Muchas industrias dedicadas a la fabricación de conservas enlatadas cloran sistemáticamente el agua con el fin de reducir o eliminar este inconveniente.

En muchas industrias alimentarias, la escasez de agua ha hecho necesaria la recuperación de parte de la utilizada, razón por la cual en el agua recuperada se pueden multiplicar microorganismos. El agua que se emplea en el aclarado final de los alimentos debe ser limpia y potable, aunque después de ser utilizada se puede emplear de nuevo para el remojo, para el primer aclarado o como agua de descarga, preferentemente después de tratada con cloro, con dióxido de cloro o con germicidas parecidos.

La cloración del agua en la industria, o cloración continua, más allá del denominado «break point»* (punto en el que la demanda de cloro del agua ha sido satisfecha) hasta que el cloro alcanza en el agua una concentración residual de 5 a 7 ppm, se emplea para utilizarla continuamente en aquellas zonas o en aquella maquinaria en las cuales las bacterias productoras de mucílago pueden ocasionar problemas, por ejemplo en las cintas transportadoras, en los refrigeradores de latas, en las máquinas donde se lavan los alimentos, y en las regueras de descarga. El agua clorada se puede emplear en forma de aerosol o se pueden sumergir en ella algunos componentes de las máquinas. Cuando en la industria termina el trabajo, el agua clorada se puede emplear en las máquinas llenadoras, en las peladoras, en las máquinas que cortan el alimento en forma de dados, y en máquinas parecidas. Las tuberías que llevan agua contaminada o sucia se mantienen llenas con agua clorada que contenga de 50 a 100 ppm durante 12 a 48 horas, dependiendo del grado de suciedad del agua tanto la concentración de cloro como el tiempo durante el cual se tiene que mantener el agua clorada en las tuberías (Tabla 27.1).

El hielo que se utiliza para refrigerar los alimentos por contacto directo debe satisfacer las exigencias bacteriológicas del agua potable. Se han realizado muchas investigaciones sobre la incorporación de agentes químicos bacteriostáticos o bactericidas al agua y al hielo con el fin de coadyuvar en la conservación de los

* N. del T.: El «break point» (punto de ruptura) indica que la demanda de cloro ha sido satisfecha y que en el agua existe cloro activo residual (sobrante) después de haber sido utilizado el necesario para las reacciones de oxidación (de la materia orgánica, por ejemplo) que tienen lugar en el agua.

Tabla 27.1. Concentraciones de cloro propuestas para distintas finalidades en las industrias alimentarias.

	<i>ppm*</i>
Agua de bebida	0,2
Agua para usos industriales	0-0,5
Limpieza	10-20
Desinfección	100-250
Agua para aclarados	1,0-5,0
Enfriamiento (latas)	0,5-10,0
Agua para el transporte de alimentos	0,5-5,0
Rociadores continuos	1,5-3,0
Agua para enfriar la carne	5,0-200
Descongelación del pescado	5,0-10,0

*Expresado como cloro residual total.

Fuente: Troller (1983).

alimentos. En un capítulo anterior ya se ha indicado que en las canales de aves había sido autorizado el empleo de un baño de tetraciclina o de clortetraciclina, aunque posteriormente esta autorización fue revocada; sin embargo, los citados antibióticos se pueden incorporar al hielo que se emplea en el pescado y demás alimentos marinos.

TRATAMIENTO Y ELIMINACION DE AGUAS RESIDUALES Y DESPERDICIOS

El inspector de la sanidad de los alimentos se ocupa directa o indirectamente del adecuado tratamiento y eliminación de los desperdicios de la industria. Los desperdicios sólidos y concentrados se suelen mantener separados de los desperdicios líquidos, pudiendo ser utilizados como alimento, como pienso, como abono, o con cualquier otra finalidad; antes de ser utilizados pueden ser concentrados, desecados, o fermentados (por ejemplo, el ensilado de restos de guisantes); o pueden ser acarreados a un determinado terreno al que se aplican como abono complementario. Durante la manipulación y tratamiento de los alimentos, se debe procurar, en cuanto sea posible, evitar que las aguas residuales entren en contacto con alimentos sólidos o líquidos, tomando para ello todas las medidas necesarias para impedir que se produzcan goteos, fugas, rebosamientos, derramamientos, que quede una gran cantidad de residuo en los recipientes, que se forme espuma en la superficie de los alimentos, y que se forme polvo procedente de los mismos. Se recomienda que las aguas residuales de origen humano se

mantengan separadas de las demás aguas de la industria, debido a que es posible que contengan microorganismos patógenos de procedencia intestinal, y a que es necesario garantizar que son eliminados o destruidos. Estas aguas residuales se pueden verter al alcantarillado municipal, si es que existe, para su adecuado tratamiento y eliminación, o pueden ser tratadas separadamente en la industria alimentaria. Los demás residuos de la planta industrial no deben contener patógenos de origen humano.

Los desperdicios de las industrias alimentarias normalmente contienen diversos compuestos orgánicos que varían desde especies químicas sencillas y fácilmente oxidables hasta compuestos químicos complejos y difíciles de descomponer. El grado de potencia de las aguas residuales o de los desperdicios de alimentos que contienen materia orgánica se expresa como «**demanda bioquímica de oxígeno**» (DBO), que es la cantidad de oxígeno utilizado por los microorganismos aerobios y por los compuestos reductores en la estabilización de la materia orgánica descomponible durante un determinado período de tiempo a una temperatura dada. Generalmente se suele utilizar un período de 5 días, y los resultados se expresan como DBO en 5 días.* La DBO se valora diluyendo una determinada cantidad de desperdicios con agua que ha sido saturada con oxígeno e incubando la mezcla a 20 °C, incubando al mismo tiempo un testigo del agua de dilución sola. Transcurridos 5 días, se valora por titulación el oxígeno tanto en el testigo como en la muestra problema. La diferencia representa la capacidad de la muestra para consumir oxígeno y se calcula para expresarla en partes por millón de oxígeno absorbido por los desperdicios. El grado de potencia de los desperdicios expresado en libras de DBO se calcula de la forma siguiente:

$$\frac{\text{ppm de DBO}_5 \times \text{galones de desperdicios} \times 8,34}{1.000.000} = \text{libras de DBO}$$

Suponiendo que las aguas residuales domésticas correspondientes a una sola persona equivalen a un sexto de libra al día, el valor hallado mediante esta ecuación se puede convertir en equivalente de población (EP).

Siempre que se vierten a las aguas naturales, como son los ríos, los pantanos, o los lagos, cantidades apreciables de desperdicios con un elevado contenido de materia orgánica oxidable, las 7 a 8 ppm de oxígeno libre normalmente existentes en las aguas son utilizadas totalmente en las reacciones de oxidación que llevan a cabo microorganismos aerobios o facultativos. Cuando el oxígeno descende por debajo de las 3 ppm, los peces emigran o mueren, y cuando se ha alcanzado la anaerobiosis, a continuación tendrán lugar hidrólisis, putrefacciones, o fermentaciones microbianas, con el resultado de que la masa de agua se volverá maloliente y turbia y, por consiguiente, no será apropiada para usos recreativos ni será apta tanto como agua de bebida como para ser utilizada en las industrias alimentarias.

* N. del T.: Su notación es DBO₅.

Los desperdicios de una industria alimentaria que han de ser vertidos a una masa de agua se deben diluir en ese agua hasta tal punto que resulten inocuos, o deben ser previamente tratados para reducir los compuestos oxidables a una concentración que no resulte perjudicial. Incluso el efluente de un sistema de tratamiento de aguas residuales que funcione correctamente estimulará el crecimiento de algas y plantas acuáticas superiores en el agua y la hará menos agradable para fines recreativos.

Los desperdicios de las industrias alimentarias se pueden tratar previamente mediante procedimientos químicos, aunque la mayoría de los sistemas de tratamiento y eliminación estriban en (1) el cribado de las partículas de gran tamaño, (2) la separación por flotación de la materia grasa y demás materiales que flotan, (3) la sedimentación de la mayor cantidad posible de los sólidos restantes, (4) la hidrólisis, fermentación y putrefacción de los compuestos orgánicos complejos, y finalmente (5) la oxidación del resto de sólidos existentes en el agua hasta un punto en el que puedan ser incorporados al sistema municipal de tratamiento y eliminación de aguas residuales, al sistema de eliminación de la planta industrial, puedan ser vertidos a un lago o a un río, o puedan ser incorporados al suelo. El grado de oxidación necesario dependerá del procedimiento que se utilice para su eliminación. De acuerdo con ello, si los desperdicios se vierten al alcantarillado municipal o se utilizan para regar el suelo, se requerirá un grado de oxidación menor que si se han de verter a un lago o a un río.

Tratamiento químico

En los tratamientos químicos previos, a las aguas residuales o a los desperdicios se les añade un producto químico, o una mezcla de ellos, para que dé lugar a la formación de un precipitado algodonoso, el cual, al sedimentar, arrastra consigo gran parte de las partículas en suspensión y partículas coloidales, incluidas las bacterias. A continuación, el efluente se vierte en una masa de agua, en el suelo, o se hace pasar a un sistema de tratamiento biológico. Los productos químicos que se utilizan habitualmente son sales solubles de aluminio o de hierro, como por ejemplo los sulfatos aluminico o ferroso, junto con cal, que dan lugar a un precipitado algodonoso de hidróxido aluminico o de hidróxido férrico. La eliminación del lodo residual (sedimento) así obtenido puede resultar difícil.

Tratamiento y eliminación de desperdicios por procedimientos biológicos

Los procedimientos biológicos generales que se emplean para eliminar y/o tratar los desperdicios incluyen: la **dilución**, mediante el vertido de las aguas residuales a una gran masa de agua, (2) la **irrigación**, en la cual las aguas residuales se extienden mediante pulverización sobre suelos de textura abierta,

(3) el **encharcado**, mediante el vertido de las aguas residuales en charcas artificiales de poca profundidad (acompañado, o no, de otros tratamientos); (4) el empleo de **filtros de goteo**, hechos de piedra triturada, de coque, de ladrillo filtrante, etc.; (5) el empleo del procedimiento del **lodo residual activado**, en el cual el agua residual se inocula con una gran cantidad de lodo de un lote anterior y es aireada activamente en tanques, y (6) el empleo de **tanques de anaerobiosis** de varios tipos en los que tienen lugar fenómenos de sedimentación, de hidrólisis, de putrefacción, y de fermentación, seguidos de algún tratamiento aerobio.

El procedimiento de dilución pocas veces se puede llevar a cabo porque rara vez se dispone de un volumen de agua suficientemente grande o porque la industria se halla situada en un lugar en el que no se puede llevar a cabo la descomposición de las aguas residuales sin que se levanten protestas en el vecindario próximo. La irrigación cada vez se está empleando más y es especialmente aplicable para ser utilizada en industrias situadas en zonas rurales y en las que se hallan próximas a suelos de textura abierta. El encharcado se ha empleado sobre todo para tratar desperdicios estacionales, como son los desperdicios de las fábricas de conservas enlatadas. Los desperdicios se descomponen lentamente en charcas o en lagunas artificiales hasta que la fracción líquida se puede verter a un río o a otro curso de agua durante la época lluviosa del año o durante la época de fusión de la nieve, épocas en las que los cursos naturales de agua tienen un caudal abundante. Con el fin de reducir los malos olores que desprenden los desperdicios, se les suele añadir nitrato sódico. A veces el líquido se extrae mediante una bomba y se devuelve a la charca, o, en el caso de que se disponga de una serie de charcas, se puede bombear desde una charca a otra. El procedimiento de los filtros de goteo y el del lodo activado probablemente sean los más eficaces de todos los procedimientos citados, aunque su manejo resulta caro y requieren la supervisión de un especialista. Los tanques de anaerobiosis producen un efluente que requiere un posterior tratamiento, y de aquí que se deba desviar al alcantarillado municipal o se deba someter a un tratamiento aerobio.

Tipos de desperdicios de alimentos

No es posible realizar aquí un estudio amplio acerca de la naturaleza y composición de los desperdicios de las diferentes industrias alimentarias. Se debe tener en cuenta, no obstante, que cada tipo de desperdicios tiene una DBO típica que puede tener un valor elevado, bajo, o intermedio y que cada uno de estos tipos presenta sus propios inconvenientes de tratamiento y eliminación. Los desperdicios de las industrias de productos lácteos, por ejemplo, contienen concentraciones elevadas de proteínas y de lactosa y una gran cantidad de microorganismos. Tales desperdicios, si todavía no son ácidos, se acidificarán al mantenerlos en anaerobiosis y después de ello resultará más difícil tratarlos. Algunos desperdicios son de por sí ácidos, por ejemplo los desperdicios de las fábricas de

Tabla 27.2. Oscilación de los valores de la DBO_5 de los desperdicios de distintos tipos de industrias alimentarias.

<i>Procedencia de los desperdicios</i>	<i>DBO₅, ppm</i>	<i>Procedencia de los desperdicios</i>	<i>DBO₅, ppm</i>
Industrias lácteas	500-2.000	Conservas de judías verdes enlatadas	160-600
Industrias de embutidos de carne	Hasta 2.500	Conservas de judías de Lima enlatadas	190-450
Mataderos de aves	300-7.500	Conservas de maíz dulce enlatado	625-6.000
Azucareras	500-1.500	Conservas de guisantes enlatados	380-4.700
Conservas de frutas enlatadas	200-2.100	Conservas de calabaza enlatada	2.800-6.900
Conservas de tomates	180-4.000	Conservas de espinacas enlatadas	280-730
Fábricas de cerveza	420-1.200	Conservas de sauerkraut enlatado	Hasta 6.300

conservas de frutas. Los desperdicios de las fábricas de malta, de las fábricas de cerveza, de las destilerías, y de las industrias conserveras en las que se enlata maíz dulce, contienen una gran cantidad de hidratos de carbono. Los desperdicios ricos en proteínas, como son los de las industrias en las que se enlatan y envasan conservas de guisantes o de pescado, es probable que se pudran si se guardan en anaerobiosis. Es posible que otros desperdicios contengan sustancias químicas antisépticas, como son los sulfitos en las aguas residuales sulfatadas de las fábricas de papel, y por consiguiente puede resultar difícil descomponerlos por medio de microorganismos. En la Tabla 27.2 se ofrecen las oscilaciones de los valores de la DBO_5 registrados para los desperdicios de distintos tipos de industrias alimentarias. La mayoría de los desperdicios relacionados con industrias alimentarias han sido objeto de una gran cantidad de investigaciones sobre sus posibilidades de aprovechamiento.

MICROBIOLOGIA DE LOS PRODUCTOS ALIMENTICIOS

Para reducir al mínimo la contaminación de los alimentos con microorganismos y conseguir una buena calidad de conservación para los mismos, se inspeccionan las materias primas; se limpia, se desinfecta, y se examina convenientemente el equipo que contacta con los alimentos; se revisan las operaciones del proceso de conservación; y se supervisan el envasado y el almacenamiento.

Los ingredientes

Se inspecciona la materia prima y se comprueba su calidad, aunque esto no necesariamente implica que siempre sea analizada por un laboratorio especializado en la realización de análisis bacteriológicos. Algunos de los ingredientes que entran a formar parte de los alimentos pueden contener una cantidad o un tipo de microorganismos que influyan en su calidad de conservación e incluso en su aceptabilidad. Algunos ingredientes, como por ejemplo los agentes edulcorantes, el almidón, y las especias, pueden ser adquiridos con especificación en cuanto a la cantidad máxima de microorganismos permisible o al número tolerable de ciertos tipos. El número de bacterias existente en los ingredientes tiene importancia en aquellos alimentos para los cuales se han fijado patrones bacteriológicos. Un elevado número de esporas de microorganismos aerobios es perjudicial en la leche en polvo que se va a utilizar en la panificación debido a que existe mayor riesgo de que en el pan aparezca viscosidad; las esporas termorresistentes existentes en el azúcar y en el almidón pueden hacer más difícil el adecuado tratamiento térmico de las hortalizas enlatadas a las que se les añade azúcar o almidón; y, por último, un elevado número de bacterias en las especias puede facilitar la alteración de los embutidos de verano.

Con frecuencia tiene importancia la microbiología de la materia prima principal. Una cantidad excesiva de micelio de mohos en la fruta fresca, que es indicativo de la existencia de partes podridas, puede hacer rechazables las frutas enlatadas o congeladas. Un número elevado de bacterias termodúricas en la leche fresca puede dar lugar a una leche pasteurizada que no satisfaga las normas bacteriológicas relativas al número de bacterias determinado mediante la técnica convencional de recuento en placas. Un elevado número de bacterias en la superficie de las hortalizas o en el interior de las frutas puede indicar una baja calidad que será transferida al alimento congelado. El análisis de laboratorio se puede emplear tanto para descubrir estos microorganismos perjudiciales como para determinar su número.

Con frecuencia los microorganismos tienen la posibilidad de multiplicarse en los alimentos durante las operaciones de manipulación y tratamiento que se llevan a cabo en la planta industrial. Son ejemplos de ello la multiplicación de los microorganismos termófilos en aquellos alimentos que se mantienen calientes, como por ejemplo en aquellos que se precalientan y se blanquean en calderas, y el aumento del número de bacterias en las hortalizas entre la operación del escaldado y la congelación. En el laboratorio se pueden analizar muestras obtenidas en distintos puntos de la cadena de fabricación con el fin de averiguar en cuál de ellos está teniendo lugar una multiplicación apreciable de microorganismos.

Materiales que se emplean en el envasado

Los materiales que se emplean en el envasado de alimentos constituyen una posible fuente de contaminación con microorganismos de los mismos, aunque,

generalmente, la capacidad que tienen la humedad y los gases para atravesar los materiales no metálicos tiene mayor importancia en la conservación de alimentos que la microbiología de los citados materiales, ya que éstos generalmente albergan un escaso número de microorganismos inocuos o ninguno. Asimismo, según se ha indicado anteriormente, las envolturas pueden ser tratadas o impregnadas con agentes bacteriostáticos o fungistáticos, como es el caso de las envolturas de los quesos que se pueden tratar o impregnar con ácido sórbico o con ácido caprílico.

El papel y el cartón que se utilizan para fabricar los envases de cartón de la leche contienen principalmente bacilos y micrococos y, a veces, otros bacilos, actinomicetos, y esporas de mohos, aunque no contienen microorganismos importantes para la salud pública. El papel encerado es prácticamente estéril una vez fabricado, lo mismo que lo son la mayoría de los envases de plástico. Durante su manipulación, todos los materiales que se emplean para envasar alimentos se deben proteger frente a la contaminación con polvo o con otras fuentes de microorganismos.

Según las disposiciones federales, un alimento se considera adulterado «si el envase que lo contiene está compuesto, total o parcialmente, de cualquier sustancia venenosa o nociva que convierta en perjudicial para la salud a su contenido».

Equipo

A no ser que el equipo que entra en contacto con los alimentos sea convenientemente limpiado y desinfectado, puede constituir una importante fuente de contaminación de los alimentos con microorganismos. Los microorganismos no sólo pueden persistir en la superficie del equipo, sino que también puede aumentar su número cuando el tratamiento ha sido insuficiente.

Limpieza. Desde el punto de vista bacteriológico, la limpieza del equipo tiene por objeto, principalmente, eliminar la mayor cantidad posible de los nutrientes que utilizan los microorganismos. Para proceder a su limpieza y desinfección, el equipo se puede desmontar, aunque esto puede resultar difícil por lo que se refiere a ciertas piezas. Para potenciar la acción limpiadora del agua, se emplean los agentes limpiadores denominados **detergentes**. Estos agentes pueden servir para ablandar o acondicionar el agua, para mejorar la capacidad mojante de la solución limpiadora, para emulsionar o saponificar las grasas, para solubilizar las sales minerales, para disociar los precipitados o dispersar las partículas en suspensión, y para disolver la mayor cantidad posible de sustancias solubles. Al mismo tiempo, los detergentes no deben ser corrosivos y deben poder ser eliminados fácilmente por aclarado de las superficies. Entre los detergentes que se utilizan solos o formando parte de mezclas se encuentran los **alcalinos**, como la lejía, la sosa, el metasilicato sódico, el fosfato trisódico, y los polifosfatos; los detergentes **ácidos**, generalmente ácidos orgánicos, como por ejemplo los ácidos

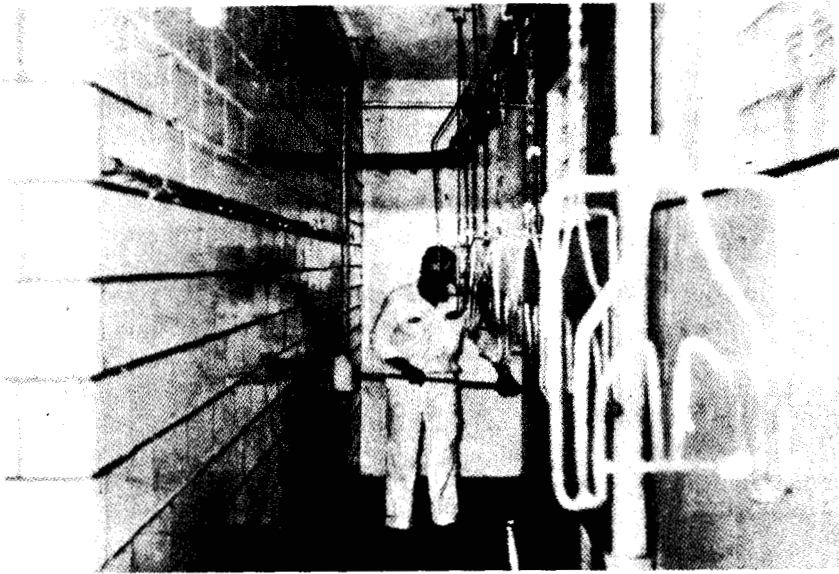


Figura 27.1. Limpieza general en una planta de tratamiento de alimentos (*Klenszade Products, Beloit, Wisc.*)

hidroxiacético, glucónico, cítrico, tartárico, y levulínico; y los **agentes mojantes**. Estos agentes mojantes pueden ser aniónicos (NaR), como por ejemplo los sulfonatos de hidrocarburos; no iónicos, por ejemplo, el alcohol polietérico; o catiónicos (RC1), como por ejemplo los compuestos de amonio cuaternario. La limpieza se suele hacer más fácilmente utilizando cepillos (Figura 27.1) y agua a presión. La limpieza a elevada presión elimina muchos de los inconvenientes que acompañan al fregado manual. Los sistemas existentes en el comercio para llevar a cabo la limpieza y la desinfección generan aerosoles de agua a una presión de 300 a 1.000 libras por pulgada cuadrada.

Desinfección. La operación de desinfección constituye un intento para reducir el número de microorganismos existentes en las superficies del equipo. El tipo de desinfectante, la concentración que se emplea, la temperatura del desinfectante, y el sistema de aplicación, dependen de la clase de agente desinfectante, de las condiciones del medio durante su aplicación, del tipo de equipo a tratar, y de los microorganismos a destruir. Entre los agentes desinfectantes de uso habitual se encuentran el agua caliente, el vapor fluyente o el vapor a presión, los halógenos (cloro y yodo) y derivados de los halógenos, y los compuestos de amonio cuaternario.

El empleo de vapor a presión constituye la forma más eficaz de la aplicación del calor como agente desinfectante, aunque su empleo está limitado a circuitos

cerrados capaces de soportar la presión. Se pueden utilizar chorros de vapor, vapor fluyente, o agua caliente, aunque los chorros no son eficaces a no ser que se empleen a distancias muy cortas, el vapor fluyente se puede condensar y puede disminuir de temperatura conforme penetra en el equipo, y el agua caliente puede experimentar una disminución de temperatura parecida. Mediante el adecuado tratamiento con vapor a elevada presión se pueden destruir todos los microorganismos y sus esporas. Tanto el vapor fluyente como el agua hirviendo, si se emplean correctamente, destruirán la totalidad de las esporas bacterianas, excepto algunas de las más resistentes. Cuanto más baja sea la temperatura del agua caliente, tanto menor será su eficacia para destruir microorganismos. El cloro, el yodo, y sus compuestos (hipocloritos, cloraminas, yodóforos, etc.) son germicidas eficaces si se emplean a la concentración apropiada y se les deja suficiente tiempo para que actúen. Cuando en el material que se desinfecta existe materia orgánica, se suele necesitar mayor cantidad de desinfectante. Las esporas bacterianas son especialmente resistentes a estos desinfectantes. El cloro se utiliza para destruir bacterias indeseables en el agua de bebida, en el agua que se utiliza para preparar los alimentos, en la que se emplea para lavar los alimentos o el equipo, y en el agua que se emplea para enfriarlos. Los hipocloritos son más lábiles, aunque a valores ácidos del pH son más eficaces que a valores básicos. Según se ha señalado anteriormente, la cloración en la industria, o cloración continua, más allá del «break point» (en el que la demanda de cloro ha sido satisfecha) hasta obtener una cantidad de cloro residual de 5 a 7 ppm, se emplea para su aplicación continua en zonas en las que las bacterias que producen mucílago pueden representar un inconveniente, como son las cintas transportadoras, las correas de transmisión, o las máquinas lavadoras de alimentos. El cloro (a concentraciones comprendidas entre 50 y 100 ppm) se utiliza para tratar tuberías de agua contaminadas o sucias. En general, frente a las bacterias grampositivas, los compuestos de amonio cuaternario son más eficaces que frente a las bacterias gramnegativas. Estos compuestos tienen un efecto residual-es decir, se adhieren a las superficies del equipo e inhiben el crecimiento de las bacterias-si bien pasan a los alimentos que entran en contacto con dichas superficies y, si se encuentran en concentraciones detectables, pueden ser considerados perjudiciales. Muchos de estos compuestos son activos en medio básico. A la mayoría les afecta la dureza del agua.

Los detergentes, que suelen ser mezcla de un detergente alcalino y un compuesto de amonio cuaternario, a veces se utilizan para limpiar y desinfectar los utensilios y el equipo en una sola operación.

Sistemas de limpieza «in situ». Algunas industrias, especialmente las industrias lácteas, dejan las tuberías permanentemente conectadas y las limpian y desinfectan sin desmontarlas. Existen dispositivos que las limpian automáticamente. En los distintos sistemas de limpieza «in situ» (CIP)* se recomiendan

* Cleaned-in-place systems.

distintas secuencias de tratamientos. Las tuberías por las que circula la leche, por ejemplo, se aclaran primeramente con agua templada que se hace circular por las mismas mediante presión o mediante aspiración. A continuación se puede hacer circular por la conducción una solución caliente (a 71°C) de detergente, seguida de un aclarado con agua y, por último, de un agente desinfectante, como por ejemplo agua caliente (a 77°C o a una temperatura más elevada), una solución de cloro (200 ppm), o un compuesto de amonio cuaternario (200 ppm). Muchas veces se desinfectan inmediatamente antes de utilizarlas.

Para conocer más pormenores acerca de los detergentes y desinfectantes así como los criterios para su elección y su modo de empleo, se deberá consultar la bibliografía que figura al final de este capítulo.

El tratamiento de conservación

El inspector de sanidad suele tener poco que ver con el tratamiento de los alimentos, a no ser la comprobación de su eficacia mediante pruebas de laboratorio, en el caso de que la industria alimentaria cuente con él. El laboratorio, por ejemplo, puede realizar pruebas para determinar la calidad de conservación de los alimentos enlatados y recuentos bacterianos en los alimentos congelados, en la leche pasteurizada, en las leches en polvo, etc.

Máquinas expendedoras de alimentos y bebidas

Con la rápida difusión del uso de máquinas que expenden automáticamente alimentos perecederos ha aumentado el interés por el saneamiento de las mismas y de los alimentos que expenden. El Reglamento y el Código del Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos (Venta de Alimentos y Bebidas) abarca la higiene de los alimentos y la de las máquinas expendedoras de los mismos, el funcionamiento de las máquinas, y su inspección. Se definen como «alimentos fácilmente perecederos» aquéllos que están constituidos, total o parcialmente, por leche, productos lácteos, huevos, carne, pescado, carne de ave, etc. Se trata de alimentos en los que se pueden multiplicar rápidamente los microorganismos y pueden originar infecciones o intoxicaciones alimentarias. Se exceptúan los alimentos convenientemente desecados o enlatados. Entre los alimentos perecederos se incluyen los bocadillos, los pasteles, el café caliente, el té y el chocolate, la leche maltada, los helados, los postres congelados, y los platos calientes (la carne, los estofados, la sopa, las alubias cocidas, la carne de ave, el pescado, etc.).

Tanto durante su transporte desde los delegados como cuando se encuentran en la máquina expendedora, los alimentos perecederos se deben mantener fríos (a una temperatura comprendida entre 3,3 y 4,4°C) o calientes (a 66°C o a temperatura más elevada). Si las citadas recomendaciones se satisfacen escasamente, a las temperaturas más bajas puede tener lugar la multiplicación de microorga-

000000

nismos psicrófilos y la de microorganismos termófilos en los alimentos calientes, mientras que el excesivo calor estropeará muchos alimentos. Todas las partes de las máquinas expendedoras de alimentos que contactan con alimentos fácilmente perecederos se deben limpiar y desinfectar periódicamente, a diario si no se satisfacen las limitaciones de temperatura indicadas anteriormente. El agua que se utiliza en contacto con los alimentos debe ser potable, y la eliminación de desperdicios debe ser apropiada. La mayoría de las máquinas expendedoras de alimentos están provistas de dispositivos de seguridad que dejan de suministrarlos cuando falla la refrigeración o el calentamiento.

Manipulación de alimentos en gran escala

La manipulación de alimentos en gran escala por proveedores, delegados, restaurantes, establecimientos, líneas aéreas, campamentos, etc., está supeditada a reflexiones parecidas. En el Manual del Servicio de Higiene de los Alimentos publicado en el año 1962 por el Servicio de Salud Pública del Ministerio de Sanidad, Educación y Bienestar de los Estados Unidos, se incluyen recomendaciones generales y el Reglamento y Código del Servicio de Higiene de los Alimentos. El reglamento define como «seguras» las temperaturas de almacenamiento de los alimentos de 7,2°C o inferiores, o las de 60°C o superiores, excepto durante el tiempo imprescindible para prepararlos y servirlos. Exige el lavado de las frutas y hortalizas frescas y la cocción total de los rellenos, de la carne de ave, de las carnes y aves rellenas (calentamiento, como mínimo, a una temperatura de 74°C), y de la carne de cerdo y productos derivados (todas las partes se deben calentar, como mínimo, a una temperatura de 66°C) antes de servirlos. El reglamento contiene normas que se refieren al estado de salud y al aseo del personal; a la limpieza, higiene, y protección de los utensilios que se emplean para manipular los alimentos; y a la potabilidad del agua. Define los alimentos que son puros, los salubres, los inalterados, los exentos de adulteración y mixtificación, los dignos de confianza para ser consumidos, y los capaces de satisfacer todos los patrones de calidad y de inspección. También describe la forma de manipular los rellenos de los pasteles y los budines.

Bocadillos

Los bocadillos y otros alimentos se pueden vender al por menor sin emplear máquinas expendedoras. Estos alimentos pueden representar un posible peligro de intoxicaciones alimentarias, ya que, antes de ser vendidos, con frecuencia se mantienen a temperatura ambiente durante un tiempo de 18 a 24 horas. Un estudio realizado (Adame y otros, 1960) demostró que los bocadillos envueltos analizados presentaban indicios de contaminación durante su preparación, y de multiplicación bacteriana antes de su venta. En todos los bocadillos se encontró un

elevado número de bacterias por gramo, no se encontraron ni salmonelas ni *C. perfringens*, y se encontraron importantes cantidades de estreptococos (la mayoría de los cuales, sin embargo, eran coagulasa-negativos), siendo más elevado su número en los bocadillos húmedos que en los secos, y una cantidad notable en los que se habían calentado hasta 55,5°C y se habían servido calientes. McCroan y otros (1964) obtuvieron resultados parecidos, llegando a la conclusión de que los bocadillos de jamón con especias y los de queso eran más peligrosos que los que contenían mahonesa, por ejemplo los bocadillos de ensalada con huevo y los de ensalada con pollo, ya que el contacto con la salsa ácida contribuyó a inhibir la multiplicación de los estafilococos. Un estudio más reciente llevado a cabo por Christiansen y King (1971) puso de manifiesto que el 60 por cien de los bocadillos analizados contenían estafilococos coagulasa-positivos.

MÉTODOS CORRECTOS DE FABRICACION

Varias disposiciones recientes promulgadas por el Ministerio de Sanidad, Educación, y Bienestar, por el Servicio de Salud Pública, y por la Dirección General de Alimentos y Fármacos (FDA)¹ especifican los actuales métodos correctos de fabricación (GMPs)² durante la elaboración, tratamiento, envasado y conservación de los alimentos destinados al consumo humano. Estos métodos se pueden encontrar en el Epígrafe 21 del Código de Disposiciones Federales. Tienen especial interés los «GMPs paraguas», ya que abarcan, de una forma general, muchos aspectos de la industria alimentaria. El código abarca disposiciones que serían de interés para el inspector de alimentos, entre las cuales se incluyen disposiciones relativas a las edificaciones y al terreno, al equipo y utillaje, a las medidas higiénicas y su control, a las operaciones de saneamiento, a los tratamientos y controles, y al personal. Además, existen GMPs específicos para el pescado y alimentos marinos; para los productos derivados del cacao y productos de pastelería; para el agua embotellada; para los productos de panadería; para las nueces y los cacahuetes; para los encurtidos y para los alimentos fermentados, acidificados, y de acidez baja (propuestos); y para los alimentos de acidez baja tratados por el calor y envasados en recipientes cerrados herméticamente.

¹ N. del T.: FDA = Food and Drug Administration.

² N. del T.: GMPs = Good manufacturing practices. Según definición de la ICSMSF (Comisión Internacional para Especificaciones Microbiológicas de los Alimentos) son «aquellos métodos que, en un planta procesadora de alimentos, proporcionan alimentos de una calidad microbiológica aceptable, satisfactoriamente controlada por análisis de laboratorio. Los GMPs normalmente se describen en un código que define los tratamientos, el equipo, las instalaciones de la planta, las normas higiénicas y los análisis de laboratorio que se emplean».

ANÁLISIS DE RIESGOS: PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL (HACCP)*

Las cadenas de tratamiento de alimentos de la industria suelen ser entidades distintas que producen un solo alimento bajo control constante. En este tipo de funcionamiento se puede hacer un cuidadoso análisis de los riesgos microbiológicos y se puede aplicar un sistema de control interno eficaz para asegurar la calidad de los alimentos. El sistema de HACCP consiste básicamente en el planteamiento de un sistema preventivo de controles basado en el análisis de los riesgos y en puntos críticos de control. El sistema de **análisis de los riesgos** supone la identificación de aquellos ingredientes y sustancias alimenticias que pudiesen tener una marcada influencia en la salubridad de los alimentos; que pudiesen ser consumidos por poblaciones específicas, por ejemplo por niños y personas de edad avanzada; o que tal vez no tuviesen antecedentes de contener agentes patógenos. Una vez se conoce la sensibilidad de los ingredientes, se pueden identificar varios **puntos críticos de control**.

Esto supone la identificación y control sobre aquellos parámetros del proceso de fabricación que, si no se controlasen, darían lugar a un riesgo inaceptable para los consumidores. Han sido compendiados los puntos críticos de control microbiológico para los alimentos congelados y para los enlatados. Para conocer más pormenores sobre este tema se deben consultar las obras de Ito (1974), Peterson y Gunnerson (1974), y Bauman (1974).

El concepto de HACCP es sin duda una alternativa sofisticada del control de alimentos que incorpora muchos de los sistemas de control tradicionales que han sido ensayados a lo largo de años. Según se señala en la Tabla 27.3, muchos organismos gubernamentales y otras organizaciones han confiado en diversas medidas de control, entre las cuales se incluyen (1) la educación y la enseñanza, (2) la inspección de los sistemas de tratamiento y las operaciones de manipulación de los alimentos, y (3) los estudios y análisis microbiológicos. El concepto de HACCP es un sistema de control nuevo, aunque también utiliza algunos de los fundamentos anteriores.

¿Cómo se realiza un análisis de riesgos? El conocimiento de que un determinado alimento representa un riesgo indica que se dispone de los suficientes datos epidemiológicos (que indican que el alimento en cuestión constituye un posible peligro para la salud) o que se dispone de los suficientes datos técnicos que indican que el alimento representa un peligro para la salud. Si no se dispone ni de datos epidemiológicos ni de datos técnicos, o en el caso de que se trate de un alimento nuevo, se debe obtener información del alimento en cuestión con el fin de conocer sus características. El informe de la Organización Mundial de la Salud/ Comisión Internacional de Especificación Microbiológica de los Alimentos (Subcomité de Criterios Microbiológicos, Comité para la Protección de los Ali-

*HACCP= Hazard analysis critical control points.

Tabla 27.3. Principales alternativas utilizables en el control de los alimentos.

<i>Método</i>	<i>Componentes</i>
Enseñanza y adiestramiento	Mejorar el conocimiento de los peligros que entrañan los alimentos Fomentar la valoración de la higiene personal, de la limpieza y de la higiene de los alimentos Mejorar el conocimiento de los microorganismos contaminantes y el de las medidas de control Tener en cuenta los factores que influyen en la multiplicación y supervivencia de los microorganismos
Inspección de los lotes de fabricación, de las operaciones de manipulación de los almacenes, etc.	Controlar la adhesión a un método de manipulación de alimentos aconsejado o exigido Seguir una pauta aconsejada o exigida como por ejemplo un método de fabricación correcto (GMP) Citar las infracciones o hacer recomendaciones con el fin de perfeccionar la fabricación
Exámenes microbiológicos y análisis de los alimentos	Tomar muestras y analizar los ingredientes, los componentes y el producto terminado Control de los microorganismos patógenos, de los microorganismos indicadores, del número total de microorganismos, etc. Confrontar con un patrón, con una pauta, con una operación de nivel imperfecto, etc. y aconsejar o disponer en consecuencia
«Nuevos métodos»	Combinaciones de los métodos indicados anteriormente para perfeccionar aún más la profilaxis de las enfermedades transmitidas por alimentos Concepto de HACCP

mentos, Junta de Alimentos y Nutrición, Consejo Nacional, 1985) indica que para intentar recoger la información necesaria se deben formular las siguientes preguntas:

- 1 ¿Cuáles son la distribución y utilización proyectadas?
 - a ¿Se trata de un alimento que es preciso distribuir a temperatura ambiente o, por el contrario, se trata de un alimento que es preciso distribuir a las temperaturas frías de almacenamiento?
 - b ¿Qué vida útil se le supone al alimento, tanto durante su distribución como durante su almacenamiento y en poder de las personas que finalmente lo consumirán?
 - c ¿De qué forma se preparará el alimento para ser consumido?
 - d ¿Es probable que el alimento sea cocinado y después de ello se guarde durante algún tiempo antes de ser consumido?
 - e ¿A qué manipulación es probable que se someta el alimento una vez en poder del consumidor o durante su permanencia en la mercado?
- 2 ¿Cuál es la composición del alimento?
 - a ¿Cuál es su pH?
 - b ¿Cuál es su a_w ?

- c ¿Contiene sustancias conservadoras?
 - d ¿Qué tipo de envasado se utiliza? ¿Es decisivo el envasado para la estabilidad del alimento, como es el caso del envasado al vacío de las carnes frescas?
- 3 ¿Cuál es el tratamiento proyectado? Se deben tener en cuenta las operaciones conducentes a la destrucción, a la inhibición, o por el contrario a la multiplicación, de los microorganismos que producen enfermedades alimentarias o de los que alteran los alimentos.

Las contestaciones a estas preguntas proporcionarán los datos a partir de los cuales el microbiólogo podrá emitir un primer juicio de valor sobre el posible riesgo que entraña el tratamiento a que ha sido sometido el alimento, sobre la modalidad de su distribución y sobre el alimento en sí. Evidentemente, de hecho puede ser necesario realizar experiencias inoculando el alimento bajo las condiciones propuestas de tratamiento y venta para después evaluar su posible riesgo. ¿Cómo se determinan los puntos críticos de control? Muchas veces, una vez se ha realizado el análisis del posible riesgo, los puntos críticos de control son evidentes. De no ser así, para determinar los puntos críticos de control puede ser necesario realizar en varios puntos un nuevo examen microbiológico del alimento durante las distintas fases de su tratamiento, venta y distribución.

El concepto de HACCP fue propuesto en un principio para las industrias que someten a tratamiento los alimentos. No obstante, los datos de su vigilancia con que se cuenta indican que, de hecho, la incidencia de brotes de enfermedades alimentarias debidos a la manipulación incorrecta de los alimentos, tanto en los establecimientos en los que se sirven comidas como a nivel del consumidor, es más elevada que la correspondiente a las industrias que someten a tratamiento los alimentos. De aquí que el concepto de HACCP se haya ampliado a los establecimientos que sirven comidas (Bryan, 1981) e incluso a los hogares (Zottola y Wolf, 1980).

ESTADO DE SALUD DE LOS EMPLEADOS

Según se ha indicado anteriormente, las misiones del inspector de sanidad que influyen en el estado de salud de los empleados incluyen el suministro de agua potable, la supervisión de los materiales de higiene personal, la regulación de las condiciones higiénicas de la fábrica y las correspondientes al tratamiento y eliminación de aguas residuales, y la supervisión de la higiene en los comedores de la fábrica y en los locales anejos. La mayoría de estas misiones se refieren a los aspectos higiénicos de la construcción de la fábrica y locales anejos, a la selección del personal apropiado para dirigir las operaciones que requieren destreza, y a la educación de los empleados en cuanto a prácticas higiénicas.

En este mismo capítulo ya ha sido revisada sucintamente la bacteriología del agua de bebida y la del tratamiento y eliminación de aguas residuales. No obstante, merece una especial atención la higiene de los comedores. Se deben asignar locales específicos para que los empleados consuman las comidas que llevan preparadas, y tales locales se deben mantener limpios y en buenas condiciones higiénicas. Si la fábrica sirve comidas a los empleados en una cafetería o en un restaurante, el inspector sanitario debe ser el responsable de la supervisión de la higiene en cuanto se refiere a la preparación, manipulación, distribución, y almacenamiento de los alimentos con el fin de evitar la difusión de microorganismos infecciosos y evitar la presentación de brotes de intoxicaciones alimentarias. La profilaxis de las intoxicaciones e infecciones alimentarias ya ha sido estudiada en los Capítulos 24 y 25. Para evitar la difusión de enfermedades, el equipo y utensilios que contactan con los alimentos se deben manipular, lavar y desinfectar según las normas que da el Manual de Higiene del Servicio de Alimentación de los Estados Unidos publicado por el Servicio de Salud Pública.

BIBLIOGRAFIA

- Adame, J. L., F. J. Post, and A. H. Bliss. 1960. Preliminary report on a bacteriological study of selected commercially prepared wrapped sandwiches. *J. Milk Food Technol.* 23:363-366.
- American Public Health Association. 1985. Standard methods for the examination of water and wastewater. 16th ed. New York.
- Anonymous. 1963. Sanitations: FE special report. *Food Eng.* 35(4):69-86.
- Anonymous. 1975. Spotlight on sanitation and cleaning. *Food Proc.* February, pp. 18, 22, 24, 27, 29, 31, and 32.
- Baldock, J. D. 1974. Microbiological monitoring of the food plant: methods to assess bacterial contamination on surfaces. *J. Milk Food Technol.* 37:361-367.
- Bauman, H.E. 1974. The HACCP concept and microbiological hazard categories. *Food Technol.* 28(9):30, 32, 34, and 74.
- Bobeng, B. J., and B. D. David. 1977. HACCP models for quality control of entree production in food service systems. *J. Food Prot.* 40:632-638.
- Bryan, F. L. 1981. Hazard analysis of foodservice establishments. *Food Technol.* 35:78-87.
- Christiansen, L. N., and N. S. King. 1971. The microbial content of some salads and sandwiches at retail outlet. *J. Milk Food Technol.* 34:289-292.
- Clary, R. K. 1963. Evaluation of chemical sanitizers. *Health Q. Bull. Wis. State Board Health*, October-December, pp. 23-25.
- Crisley, F. D., and M. J. Foter. 1965. The use of antimicrobial soaps and detergents for hand washing in food service establishments. *J. Milk Food Technol.* 28:278-284.
- Davies, R. J. 1975. The national sanitation training program: Canadian restaurant association's answer to safe and sanitary foodservice. *J. Milk Food Technol.* 39:367-369.
- Eckenfelder, W. W., and E. L. Barnhart. 1965. Treatment of food processing wastes. AVI Publishing Co., Inc., Westport. Conn.

- Graham-Rack, B., and R. Binsted. 1973. Hygiene in food manufacturing and handling. 2d ed. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Guthrie, R. K. 1972. Food sanitation. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Hartley, D. E. 1963. Inspecting automatic vending operations. *J. Milk Food Technol.* 26:130-133.
- Ito, K. 1974. Microbiological critical control points in canned foods. *Food Technol.* 28(9): 46, 48.
- Kramer, A., and B. A. Twigg. 1973. Quality control for the food industry. Volume II. Applications. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Litsky, B. Y. 1973. Food service sanitation. Modern Hospital Press, Chicago.
- Maxcy, R. B. 1975. Fate of bacteria exposed to washing and drying on stainless steel. *J. Milk Food Technol.* 38:192-194.
- McCroan, J. E., T. W. McKinley, A. Brim, and W. C. Henning. 1964. Staphylococci and salmonellae in commercial wrapped sandwiches. *Public Health Rep.* 79:997-1004.
- Microbiological and Biochemical Center, Syracuse University Research Corporation. 1964. Manual of sanitation standards for certain products of paper, paperboard, or moulded pulp. *J. Milk Food Technol.* 27:366-369.
- Parker, M. E., and J. H. Litchfield. 1962. Food plant sanitation. Reinhold Publishing Corporation, New York.
- Peterson, A. C., and R. E. Gunnerson. 1974. Microbiological critical control points in frozen foods. *Food Technol.* 28:(9)37-44.
- Peterson, G. T., J. F. Fox, and L. E. Martin. 1959. Problems in the preparation and handling of hot vended canned foods. *Food Technol.* 13(4):22[of insert]. (Abstr.)
- Stuart, L. S. 1962. Federal regulation of bactericidal chemicals used in building, industrial and institutional sanitation programs. *J. Milk Food Technol.* 25:308-312.
- Subcommittee on Microbiological Criteria, Committee on Food Protection, Food and Nutrition Board, National Research Council. 1985. An evaluation of the role of microbiological criteria for foods and food ingredients. National Academy Press, Washington, D.C.
- Thorner, M. E. 1973. Convenience and fast food handbook. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Thorner, M. E., and R. J. Herzberg. 1970. Food beverage service handbook. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Thorner, M. E., and P. B. Manning. 1976. Quality control in food service. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Conn.
- Troller, J. A. 1983. Sanitation in food processing. Academic Press, Inc., New York.
- U.S. Department of Health, Education, and Welfare. 1953. Sanitary food service. *Public Health Serv. NAVMED P-1333.*
- U.S. Department of Health, Education, and Welfare. 1957. The vending of foods and beverages. *Public Health Serv. Publ.* 546.
- U.S. Department of Health, Education, and Welfare, 1962. Food service manual. *Public Health Serv. Publ.* 934.
- U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service. 1958. Frozen desserts ordinance and code. [Reprinted March 1958].
- U.S. Public Health Service. 1943. Ordinance and code regulating eating and drinking establishments. *Bull.* 280.
- Zottola, E. A., and I. D. Wolf. 1980. Recipe hazard analysis—RHAS—a systematic approach to analysing potential hazards in a recipe for home food preparation (Unpublished). Cited in the subcommittee on Microbiological Criteria Committee on Food Protection Report, 1985.

Control de los alimentos

Los objetivos del control, de la reglamentación, y de la inspección de los alimentos consisten principalmente en proporcionar al consumidor la certeza de que los alimentos que adquiera serán puros, saludables y de la calidad que se les atribuye.

ORGANISMOS EJECUTIVOS Y ORGANISMOS ENCARGADOS DEL CONTROL DE LOS ALIMENTOS

Los organismos ejecutivos y de control son internacionales o privados tal como se ilustra a continuación.

Organismos internacionales

Las dependencias de las Naciones Unidas que se ocupan del comercio internacional de alimentos son: (1) la Organización de Alimentación y Agricultura (FAO), (2) la Organización Mundial de la Salud (OMS), y (3) el Fondo Internacional de Ayuda a la Infancia (UNICEF). A pesar de que no son organismos ejecutivos ni de control importantes, es notable su interés común por los alimentos apropiados, saludables y dignos de confianza. La FAO se ocupa principalmente de la producción de alimentos mediante sistemas de producción perfeccionados, así como de su elaboración, conservación y distribución. Las actividades de la OMS están más relacionadas con la salud del consumidor y con el mantenimiento de la salubridad de los alimentos.

La reglamentación y el control de los alimentos compete a todos los países, y, por consiguiente, es inevitable que muchas de las normas o reglamentaciones

dictadas sean bastante diferentes en cada uno de ellos. La Comisión Mixta FAO/OMS de Patrones para los Alimentos es un tribunal de cooperación internacional para fijar y unificar los diversos patrones internacionales para la industria alimentaria. Una vez ultimados, estos patrones internacionales tuvieron que ser publicados en un *Codex Alimentarius* como patrones regionales o universales. La Comisión del *Codex Alimentarius* es una organización voluntaria y dicha comisión está integrada por naciones que son miembros de la FAO y de la OMS. En el año 1986, por ejemplo, la comisión había adoptado unos 150 patrones internacionales. Los grupos subsidiarios de esta organización han publicado un Código Práctico sobre Principios Generales de la Higiene Alimentaria y varios Códigos de Práctica Higiénica para determinados alimentos (Olson, 1978). Ejemplos concretos de criterios microbiológicos internacionales referidos a los alimentos y a las industrias alimentarias, se pueden encontrar en el informe sobre Criterios Microbiológicos del subcomité del Consejo Nacional de Investigación, integrado en el Comité de Criterios Microbiológicos de la Junta para la Protección de los Alimentos y la Nutrición (Comité para la Protección de los Alimentos, 1985). En el Apéndice B se ofrecen algunos ejemplos.

La Comisión Internacional para Especificaciones Microbiológicas de los Alimentos (ICMSF) es un organismo voluntario que ha centrado su atención principalmente en la fijación de programas para la toma de muestras y métodos de análisis a nivel internacional. Este organismo ha sido el encargado de organizar seminarios sobre programas para la toma de muestras y metodología de laboratorio en colaboración con otras instituciones, como son la Federación Internacional de Lechería (IDF) y la Asociación de Químicos Analistas Oficiales (AOAC). La primera publicación de la ICMSF contiene planes de muestreo y algo de metodología (ICMSF, 1974). Esta conocidísima obra de texto fue revisada en el año 1985 (ICMSF, 1986).

Organismos federales

La competencia de los organismos ejecutivos federales de los EE. UU. se limita a aquellos alimentos que se transportan de un estado a otro o a los que se producen en los territorios que aún no han adquirido la categoría de estado o se envían a los mismos. El Registro Federal, que se publica casi diariamente, contiene notificaciones recientes del gobierno federal relativas a patrones y a inspección de alimentos. La Compilación de Disposiciones Federales resume y ofrece la información del Registro Federal. El Servicio Comercial Agrícola publica separatas que ponen al día las disposiciones y recomendaciones que se refieren a la inspección, a patrones, y a categorías de los alimentos.

Dirección General de Alimentos y Fármacos (FDA). (*Food and Drug Administration*). La Dirección General de Alimentos y Fármacos (FDA) del Ministerio de Sanidad, Educación y Bienestar (HEW) vela por el cumplimiento de la

Ley Federal sobre Alimentos, Fármacos y Cosméticos que fue enmendada en el año 1980. Fundamentalmente, las misiones de la FDA se refieren a la responsabilidad de este organismo para garantizar que todos los alimentos se etiquetan tanto desde el punto de vista de su verdadera composición como desde el punto de vista informativo. Dos de sus principales programas de actuación son las Directrices Políticas de Obligado cumplimiento de la FDA (1982,*a*) y los Niveles de Actividad de los Defectos de los Alimentos (1982*b*). Las Directrices Políticas de Obligado cumplimiento contienen criterios microbiológicos específicos para varios alimentos de consumo humano y para varios piensos. En ellas se ofrecen las condiciones que deben cumplir los alimentos de consumo humano y los piensos respecto a número total de microorganismos aerobios obtenido por recuento en placa, y a la presencia de coliformes, de estafilococos coagulasa-positivos, de microorganismos patógenos de origen alimentario, de micotoxinas, de bacterias indicadoras y de *Escherichia coli*. Los Niveles de Actividad de los Defectos de los Alimentos se ocupan principalmente de la importancia de los defectos propios de los alimentos que pueden ser tolerados en un alimento o artículo concretos. Los defectos propios de los alimentos no necesariamente están relacionados con algún peligro para la salud. Por mejor decir, se trata de grados concretos de defectos naturales de los alimentos, por encima de los cuales es posible que la FDA los retire del mercado. El concepto de niveles de actividad de los defectos ha sido extrapolado a los criterios microbiológicos. Por ejemplo, en varias industrias que preparaban camarones empanados, se llevó a cabo un estudio de estos niveles para intentar fijar las normas de una correcta elaboración. Los datos obtenidos en este estudio se utilizaron para idear un nivel de actividad de los defectos microbiológicos para los camarones frescos destinados a ser empanados (FDA, 1983).

Ministerio de Agricultura de los Estados Unidos (USDA). (*United States Department of Agriculture*). Mediante la Ley de Comercio Agrícola (*Agricultural Marketing Act*), la Ley de Inspección de los Ovoproductos (*Egg Products Inspection Act*), la Ley de Sanidad de la Carne (*Wholesome Meat Act*), Ley Federal para la Inspección de Carnes (*Federal Meat Inspection Act*), y la Ley de Sanidad para los Productos Avícolas (*Wholesome Poultry Products Act*), el USDA tiene potestad para fomentar el comercio de productos agrícolas dignos de confianza y de elevada calidad. Los huevos y los ovoproductos, la carne y los productos derivados de la carne de ave, y los productos lácteos son competencia del Servicio Comercial Agrícola (AMS) (*Agricultural Marketing Service (AMS)*), y del Servicio de Seguridad e Inspección de Alimentos (FSIS) (*Food Safety and Inspection Service*).

En virtud de la Ley del Comercio Agrícola, el AMS ha fijado criterios microbiológicos concretos. Estos patrones microbiológicos se refieren a los productos lácteos elaborados y a la leche fresca. Para los huevos y ovoderivados, el AMS también tiene un único criterio microbiológico que tiene en cuenta, principalmen-

te, que estos alimentos no contengan salmonelas. La Ley Federal para la Inspección de Carnes y la Ley para la Inspección de Carne de Ave, otorgan al USDA la potestad para llevar a cabo programas en las industrias que elaboran productos a base de carne y carne de ave. Al parecer, el Servicio de Seguridad e Inspección de Alimentos (FSIS) tiene competencia sobre estos alimentos. Se han fijado criterios microbiológicos concretos para muchos productos elaborados con carne y con carne de ave, los cuales se catalogan como criterios aconsejados por el USDA para la carne y para la carne de ave.

Servicio Nacional de Pesca Marítima (NMFS). (*National Marine Fishery Service*). El Servicio Nacional de Pesca Marítima del Ministerio de Comercio de los Estados Unidos [*United States Department of Commerce/National Marine Fishery Service (USDC/NMFS)*], es un servicio de pago del programa de inspección de productos pesqueros. La mayor parte de los criterios aplicados se basan tanto en la valoración organoléptica del alimento como en la determinación de la conveniencia de que sea tratado. No obstante, el NMFS/USDC interviene a través de varios programas de colaboración con los organismos federales, en la fijación de criterios microbiológicos para los alimentos.

Centro Natick de Investigación y Desarrollo del Ejército de los Estados Unidos. (*United States Army Natick Research and Development Center*). Tanto la obtención como la protección de alimentos con fines militares implica problemas que no siempre se presentan en el abastecimiento de alimentos a la población civil. Por esta razón, el Ministerio de Defensa, mediante el Programa de Normalización y Especificación, ha fijado numerosos criterios microbiológicos para la obtención de alimentos. La Sección de Microbiología del Centro Natick se ocupa tanto de los problemas microbiológicos que se presentan en la confección de la ración militar como de la fijación de los criterios microbiológicos de la obtención inicial de alimentos.

Organismos estatales

Generalmente, las leyes estatales que se refieren a los alimentos son respaldadas por el Ministerio estatal de Salud Pública o por la Dirección General de Sanidad. Para los alimentos, algunos estados disponen de patrones microbiológicos o de normas. Algunos estados publican un boletín estatal equivalente al del Registro Federal. Por ejemplo, el estado de Maryland publica el Registro de Maryland, un boletín semanal que contiene numerosas noticias de los distintos organismos estatales.

Organismos mercantiles

Las asociaciones o instituciones que se dedican a la comercialización de alimentos hacen recomendaciones a sus propias industrias e incluso intentan darles

normas de régimen interno. Así, la Asociación Nacional de Fabricantes de Alimentos ha fijado patrones microbiológicos para el azúcar y para el almidón que se destinan a enlatar; el Instituto Americano de la Leche en Polvo ha fijado patrones bacteriológicos para la leche en polvo; la Asociación Americana de Embotelladores de Bebidas Carbónicas dispone de patrones bacteriológicos para los agentes edulcorantes que se utilizan en la fabricación de bebidas no alcohólicas, etc.

Sociedades de profesionales

La Asociación Americana de la Salud Pública ha publicado algunos métodos recomendados para realizar el análisis bacteriológico y microbiológico de los alimentos; la Asociación Internacional de Sanitarios especialistas en Leche, Alimentos, y Medio ambiente también ha publicado los Procedimientos Recomendados en la Investigación de Enfermedades Alimentarias. (Asociación Internacional de Sanitarios especialistas en Leche, Alimentos y Medio ambiente, 1976).

Organismos particulares

Algunos organismos particulares aprueban y catalogan alimentos contrastados, por ejemplo, el Instituto del Buen manejo de la casa (*Good Housekeeping Institute*).

Industrias alimentarias

Algunas industrias y/o sociedades que se dedican a la fabricación de alimentos han fijado sus propios criterios microbiológicos de régimen interno tanto para los productos acabados como para las materias primas e ingredientes. Generalmente, cuanto más importante es la sociedad tanto más sofisticado es su programa de pruebas microbiológicas.

Programas de organismos cooperativos

Los organismos estatales de la Dirección General de Alimentos y Fármacos y las industrias particulares de mariscos cooperan en el Programa Nacional de Saneamiento del Marisco [*National Shellfish Sanitation Program (NSSP)*]. Además de cooperar en la normalización de las disposiciones relativas al saneamiento del marisco, el NSSP también mantiene una lista de los países que participan en el programa.

La cooperación entre la FDA y el USDA consiste en un programa de control de las salmonelas en los productos lácteos. El Programa de Protección de la Venta

de Alimentos al por menor [*Retail Food Protection Program (FDA)*] es otro ejemplo de un programa de cooperación federal-estatal. Varias publicaciones, como son la Venta de Alimentos y Bebidas (*Vending of Food and Beverages*) (FDA, 1978), el Código de Saneamiento de los Almacenes de Alimentos al (*Detail Retail Food Store Sanitation Code*) (FDA, 1982c), y el Manual de saneamiento del Servicio de Alimentación (*Food Service Sanitation Manual*), son útiles como fuente de información técnica para los distintos organismos estatales.

El Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos y la FDA han creado el Reglamento para la Leche Pasteurizada de Calidad A [*Grade A Pasteurized Milk Ordinance (PMO)*]. Los estados que participan en este programa de cooperación utilizan el PMO como patrón básico para certificar la calidad de la leche pasteurizada que se envía de un estado a otro. Incluso los fabricantes particulares de leche utilizan el PMO como una referencia o patrón aceptable para varios aspectos del saneamiento de la leche.

Según se ha indicado anteriormente, el Servicio Nacional de Pesca Marítima (NMFS)¹, a través del Ministerio de Comercio, establece contacto y colabora con otros organismos estatales, entre los que se incluyen la FDA y el Ministerio de Defensa. Además, el NMSF tiene convenios concretos con gran cantidad de organismos estatales. Los criterios microbiológicos para el marisco y demás alimentos marinos que han sido establecidos entre los organismos federales y los estatales están contenidos en el Manual del Instituto Nacional de Pesca² (Martin y Pitts, 1982).

CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS PARA LOS ALIMENTOS

Los principales objetivos que se persiguen al fijar los criterios microbiológicos para los distintos alimentos, consisten en garantizar: (1) que los alimentos serán aceptables desde el punto de vista de la salud pública, es decir, que no serán responsables de la difusión de enfermedades infecciosas ni de intoxicaciones alimentarias, (2) que los alimentos serán de calidad satisfactoria, es decir, que estarán compuestos por materias primas de buena calidad que no se han deteriorado ni se han contaminado indebidamente durante las operaciones de tratamiento, envasado, almacenamiento, manipulación, o comercialización, (3) que los alimentos serán aceptables desde el punto de vista estético, en el sentido de que se ha evitado que se ensucien con materia fecal, con restos de parásitos, con piocitos, con micelio de mohos, etc., y (4) que los alimentos tendrán la calidad de conservación que cabe esperar de cada uno de ellos.

¹ National Marine Fishery Service (NMFS).

² National Fisheries Institute Handbook.

A la hora de fijar y aplicar patrones microbiológicos a los alimentos se tropieza con muchas dificultades. La toma de muestras para llevar a cabo los análisis constituye un inconveniente, ya que la falta de homogeneidad de la mayoría de los alimentos determina que tengan importancia el lugar de donde se toma la muestra, el tamaño de la misma y el número de muestras que se obtienen. Los patrones microbiológicos para los alimentos se suelen basar en la cantidad total de microorganismos, en la cantidad en que se encuentra un determinado microorganismo indicador, o bien en el número de microorganismos patógenos que contienen (o en su ausencia total); no obstante ha existido cierta discrepancia acerca de cuáles son los recuentos que se deben considerar importantes, cuál ha de ser el microorganismo que se debe tomar como indicador, y acerca de la posibilidad de poner de manifiesto la existencia de microorganismos patógenos. La correlación entre la existencia de un determinado microorganismo indicador y la posible existencia de un microorganismo patógeno no es segura en la mayoría de los alimentos. De igual forma, los recuentos totales elevados no necesariamente suponen un peligro para la salud pública.

Finalmente, en la mayoría de los alimentos, tanto el número como los tipos de microorganismos que contienen descienden durante su almacenamiento, tanto si se trata de alimentos desecados como si se trata de alimentos congelados. Si se adopta un «patrón medio» se elimina la mitad de las muestras de alimentos. Si se ha interpuesto una demanda legal, se debe justificar el nivel del patrón; los recuentos o resultados obtenidos en una muestra por el demandante, por la parte demandada, o por un organismo imparcial, es posible que no siempre coincidan.

Los patrones se deben adaptar a cada uno de los tipos de alimentos para los cuales fueron proyectados. Probablemente el patrón correspondiente a un alimento destinado a ser consumido crudo sería diferente al de este mismo alimento destinado a ser cocinado o a ser sometido a calentamiento, o a cualquier otro tipo de tratamiento, antes de ser comercializado. El tipo de microorganismo capaz de alterar el alimento al que se debe temer, y por lo tanto al que se debe prestar atención, variará en función del tipo de alimento y del sistema empleado en su tratamiento. Los patrones para los ingredientes de las bebidas no alcohólicas, por ejemplo, incluyen patrones para el número de levaduras; cuando se trata de alimentos de baja acidez destinados a ser enlatados, tienen importancia el número y la especie a que pertenecen las esporas termorresistentes; y, por último, el número de microorganismos esporógenos existentes en la harina pueden indicar la posibilidad de que aparezca viscosidad en el pan. El tipo de microorganismo patógeno que es más probable que se encuentre será distinto en cada uno de los alimentos. Las pruebas para determinar la presencia de bacterias coliformes con el fin de indicar la posible presencia de microorganismos patógenos de procedencia intestinal, son útiles para fijar los patrones microbiológicos para las ostras, pero tienen escaso significado cuando se trata de zumo de naranja congelado. Se podrían buscar salmonelas en los huevos o en los ovoderivados, y triquina en la carne fresca de cerdo.

La Comisión para la Protección de los Alimentos de la Academia Nacional de Ciencias, ha propuesto las siguientes definiciones de criterios microbiológicos:

- a Una *especificación microbiológica* es el número máximo admisible de microorganismos o de tipos específicos de microorganismos, determinado por procedimientos prefijados, en un alimento que es adquirido por una razón social o por un organismo para su propio uso.
- b Un *patrón microbiológico* es aquella parte de una ley o disposición administrativa que se refiere al número máximo admisible de microorganismos o de tipos específicos de microorganismos, determinado por procedimientos prefijados, en un alimento producido, envasado, almacenado, o importado en la zona jurisdiccional de un organismo ejecutivo.

Elliott (1970) propuso otra definición:

- c Una *pauta microbiológica* es aquel nivel de bacterias existente en un producto acabado o en un producto expedido que exige la identificación y corrección de las causas a las cuales se debe, tanto en la producción actual como en la futura, o en la manipulación tras su producción.

Un excelente texto que trata de la filosofía, fijación, y aplicación de los criterios microbiológicos es el publicado por la Comisión para la Protección de los Alimentos de la Academia Nacional de Ciencias (Comisión para la Protección de los Alimentos, 1985).

Se ha recomendado: (1) que tanto el procedimiento analítico como los patrones se adapten a cada uno de los tipos de alimentos, (2) que se demuestre que existe una relación numérica entre el patrón y el riesgo, (3) que se admitan tolerancias para los errores admitidos en la toma de muestras y en el análisis, es decir, no sería necesario que toda las muestras se ajustasen al patrón y los resultados obtenidos en el análisis de muestras sucesivas, tomadas a intervalos prefijados, serían tenidos en cuenta para fijar e interpretar los patrones, y (4) que cualquier criterio que se proponga sea primeramente ensayado de forma voluntaria.

El creciente nivel de información de los consumidores, la necesidad de que sean informados, y la confusión sobre el significado de la existencia de un elevado número de bacterias en los alimentos, han hecho que el consumidor reclame con urgencia que se adopten criterios bacteriológicos para algunos alimentos. Recíprocamente, el hecho de que, en general, no sea posible relacionar el número de células microbianas o de microorganismos indicadores con el posible peligro para la salud y los aparentemente escasos riesgos para el consumidor como consecuencia de la ingestión de muchos productos alimenticios, parece ser que hacen dudar acerca de la adopción de patrones para estos artículos alimenticios.

BIBLIOGRAFIA

- Clark, D. S. 1978. The international commission of microbiological specifications for foods. *Food Technol.* 31:54, 67.
- Department of Defense. 1976. Defense standardization and specification program: policies, procedures and instructions. DOD Manual 4120. 3M. U.S. Naval Publ. and Forms Center, Philadelphia.
- Elliott, R. P. 1970. Microbiological criteria in USDA regulatory programs for meat and poultry. *J. Milk Food Technol.* 33:173-177.
- FDA. Good manufacturing practice regulations for bakery foods. *Fed. Register*, Feb. 12, 1976.
- FDA. Good manufacturing practice regulations for tree nuts and peanuts. *Fed. Register*, June 30, 1976.
- FDA. Proposed good manufacturing practices for pickled, fermented, acidified and low-acid foods. *Fed. Register*, July 23, 1976.
- FDA. 1976. Food service sanitation manual. DHEW Publ. No. 72-2081. U. S. DHEW, Washington, D.C.
- FDA. 1978. The vending of foods and beverages. DHEW Publ. No. 78-2091. U.S. DHEW, Washington, D.C.
- FDA. 1982a. Compliance policy guides manual. Publ. No. PB-271176. National Technical Information Service, Springfield, Va.
- FDA. 1982b. The food defect action levels. DHEW Publ. No. 82-2161. U.S. DHEW, Washington, D.C.
- FDA. 1982c. Retail food store sanitation code. Recommendations of the association of food and drug officials of the U.S. DHHS, PHS, Washington, D.C.
- FDA. 1983. Raw breaded shrimp, microbiological defect action levels. *Fed. Register*, 48(175) 405 63-40564.
- Federal Food, Drug, and Cosmetic Act and general regulations for its enforcement, April 1955, U.S. Dept. Health, Education, and Welfare, FDA. SRA, Food, Drug, and Cosmetic no. 1, revised with Addenda.
- Federal Food, Drug, and Cosmetic Act as amended January 1980. U.S. Dept. Health, Education, and Welfare.
- Food Additives Amendment of 1958. Public Law 85-929, 85th Congr., H.R. 13254, Sept. 6, 1958.
- Food Protection Committee. 1964. An evaluation of public health hazards from microbiological contamination of foods. *Natl. Acad. Sci. Natl. Res. Council. Publ.* 1195.
- Food Protection Committee, 1985. An evaluation of role of microbiological criteria for foods and food ingredients. *Natl. Acad. Sci. Natl. Res. Council. National Academy Press, Washington, D.C.*
- Foster, E. M. 1974. Interpretation of analytical results for bacterial standard enforcement. *Assoc. Food Drug Off. U.S.Q. Bull.* 38:267-276.
- Gunderson, F. L., H. W. Gunderson, and E. R. Ferguson, Jr. 1963. Food standards and definitions in the United States. Academic Press, Inc., New York.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 1974.

- Microorganisms in foods. 2. Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications. University of Toronto Press, Canada.
- ICMSF. 1986. Microorganisms in foods. Volume 2. Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications. University of Toronto Press, Canada.
- International Association of Milk, Food, and Environmental Sanitarians. 1976. Procedures to investigate foodborne illness. Ames, Iowa.
- Kimbrell, E. F. 1982. Codex alimentaries food standards and their relevance to U.S. standards. *Food Technol.* 36:93-95.
- Martin, R. E., and G. T. Pitts. 1982. Handbook of state and federal microbiological standards and guidelines. National Fisheries Institute, Washington, D.C.
- Olson, J. C. Jr. 1978. Microbiological specifications for foods: international activities. *Food Technol.* 32:55, 57, 62.
- Pivnick, H. 1978. Canadian microbiological standards for foods: international activities. *Food Technol.* 32:55-57, 62.
- Sackett, I. D. 1982. Quality inspection activities of the National Marine Fisheries Service. *Food Technol.* 36:91-92.
- Title 21: Food and Drugs. CFR. Thermally processed low-acid foods packaged in hermetically sealed containers. General provisions. Current good manufacturing practices. Part 113.5.
- USDA. 1980. Salmonella surveillance program. FSQS/POQD, USDA, Washington; D.C.
- USPHS/FDA. 1978. Grade A pasteurized milk ordinance. PHS/FDA Publ. No. 229. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.

Nomenclatura

Desde que se escribió la tercera edición de este libro de texto, se han hecho muchas modificaciones tanto en la clasificación como en la nomenclatura bacterianas. La importancia de los códigos de nomenclatura es obvia, si bien nosotros continuamos utilizando las denominaciones de los microorganismos tal como aparecieron en el primer texto escrito por los autores. En las últimas ediciones del Manual de Bergey algunas de estas denominaciones han sido modificadas o eliminadas. Por una u otra razón, las denominaciones que a continuación se transcriben ya no son «aceptadas». En todo caso, a no ser que se haga constar otra cosa, el hecho de que no sean aceptadas se basa en el Vol. 1 (1984) y en el Vol. 2 (1986) del Manual de Bergey de Bacteriología sistemática. Se ofrece una breve exposición del estado actual de cada uno de estos microorganismos.

Acetobacter acetii subespecie *suboxydans*, en el Vol. 1 no se le concedió ninguna categoría taxonómica.

Acetobacter acetii subespecie *xylum*, una cepa que sintetiza celulosa, se considera sinónimo de *A. pasteurianus*.

Acetobacter acetigenum, fue una especie admitida en la 6.^a edición del Manual de Bergey, pero no apareció ni en la 7.^a ni en la 8.^a ediciones, ni tampoco en el Vol. 1.

Acetobacter capsulatum, en la 8.^a edición del Manual de Bergey se incluyó como sinónimo de *Gluconobacter oxydans* subespecie *industrius*. No obstante, la subespecie *industrius* no fue aceptada en el Vol. 1.

Acetobacter oxydans, fue incluido como sinónimo de *Gluconobacter oxydans* en la 8.^a edición del Manual de Bergey.

Acetobacter suboxydans, fue incluido como sinónimo de *Gluconobacter oxydans* subespecie *suboxydans*. No obstante, esta última subespecie no fue aceptada en el Vol. 1.

- Acetobacter turbidans*, fue incluido como sinónimo de *Acetobacter pasteurianus* en la 8.^a edición del Manual de Bergey.
- Acetobacter viscosum*, fue incluido como sinónimo de *Gluconobacter oxydans* subespecie *industrius* en la 8.^a edición del Manual de Bergey. No obstante, esta última subespecie no fue aceptada en el Vol. 1.
- Acetobacter xylinum*, fue incluido como sinónimo de *Acetobacter aceti* subespecie *xylinum* en la 8.^a edición del Manual de Bergey; esta última subespecie fue incluida como sinónimo de *A. pasteurianus* en el Vol. 1.
- Achromobacter*: muchas de las especies anteriormente incluidas en este género son en la actualidad especies de los géneros *Alcaligenes* y *Zymomonas*.
- Achromobacter anaerobium*, fue incluido como sinónimo de *Zymomonas anaerobia* en la 8.^a edición del Manual de Bergey. *Z. anaerobia* fue incluido como sinónimo de *Z. mobilis* en el Vol. 1.
- Achromobacter perolens*, fue incluido como sinónimo de *Pseudomonas perolens* en la 7.^a edición del Manual de Bergey.
- Aerobacillus*: las especies de este género que había sido propuesto anteriormente (8.^a edición) fueron incluidas como especies del género *Bacillus*.
- Aerobacter*: las especies que antes se incluían en este género, en la 8.^a edición del Manual de Bergey fueron incorporadas a las especies de los géneros *Enterobacter* y *Klebsiella*.
- Aerobacter cloacae*, fue incluido como sinónimo de *Enterobacter cloacae* en la 8.^a edición del Manual de Bergey.
- Alcaligenes metalcaligenes*, fue una especie aceptada en la 7.^a edición, pero no se incluyó ni en la 8.^a edición ni en el Vol. 1.
- Alcaligenes viscolactis*, fue una especie aceptada en la 7.^a edición del Manual de Bergey. No se incluyó en la 8.^a edición, y no figura en el Vol. 1.
- Bacillus betanigrificans*, se incluyó como sinónimo de *B. macerans* en la 8.^a edición del Manual de Bergey.
- Bacillus citri*, se incluyó como sinónimo de *Xanthomonas citri* en la 6.^a edición del Manual de Bergey, pero en la 7.^a edición no apareció como sinónimo de *X. citri*; en la 8.^a edición se incluye como denominación de la especie *X. campestris*; por consiguiente, *X. citri* solamente se puede diferenciar de *X. campestris* por sus reacciones en la planta hospedadora.
- Bacillus globigii*, no se incluyó en el Vol.2 (1986).
- Bacillus mesentericus*, aunque carecía de cultivo tipo, se incluyó en la 8.^a edición del Manual de Bergey y se creía que no se podía diferenciar de *B. subtilis*. El Vol. 2 no incluyó a *B. mesentericus*.
- Bacillus natto*, se incluyó como sinónimo de *B. subtilis* en la 8.^a edición del Manual de Bergey.
- Bacillus nigrificans*, se incluyó como sinónimo de *B. subtilis* var. *aterrimum* en la 6.^a edición del Manual de Bergey. Esta última variedad no fue aceptada en el Vol. 2, pero fue incluida en la especie *B. subtilis*.
- Bacillus subtilis* var. *niger*, fue considerada como *B. subtilis* por el Vol. 2 (1986) y no se le concedió categoría taxonómica independiente.
- Bacillus vulgatus*, se incluyó en la 8.^a edición del Manual de Bergey como especie que carecía de cultivo tipo y que no podía ser diferenciada de *B. subtilis*. No se incluyó en el Vol. 2.

- Brevibacterium erythrogenes*, fue incluida como especie de posición incierta en la 8.ª edición del Manual de Bergey; no se incluyó en el Vol. 1 (1984).
- Clostridium calidotolerans*, no se le concedió ninguna categoría taxonómica en el Vol. 2 (1986).
- Clostridium lentoputrescens*, es homólogo de la especie tipo *C. cochlearium*.
- Clostridium nigrificans*, se incluyó como sinónimo de *Desulfotomaculum nigrificans* en la 8.ª edición del Manual de Bergey.
- Clostridium putida*, no se incluyó como denominación de especie en el Vol. 2.*
- Enterobacter oxytocum*, no se incluyó en el Vol. 1 (1984).
- Erwinia carotovora* subespecie *betavascolorum*: una nueva subespecie propuesta.
- Flavobacterium proteus* es en la actualidad *Obesumbacterium proteus*.
- Flavobacterium rhenanum*, se incluyó como sinónimo de *Erwinia herbicola* en la 8.ª edición del Manual de Bergey.
- Gluconobacter oxydans*, las subespecies *suboxydans* e *industrius* no fueron consideradas subespecies en el Vol. 2 (1986). Ambas hacen referencia a *G. oxydans*.
- Halobacterium cutirubum*, se incluye como sinónimo de *Halobacterium salinarium*.
- Lactobacillus arabinosus*, se incluyó como sinónimo de *Lactobacillus plantarum* en la 8.ª edición del Manual de Bergey. No se incluyó en el Vol. 2.
- Lactobacillus brevis* var. *rudensis* no se incluyó en el Vol. 2 (1986).
- Lactobacillus bulgaricus* es en la actualidad una subespecie de *L. delbrueckii*.
- Lactobacillus diastaticus* no se incluyó en el Vol. 2.
- Lactobacillus lactis* es en la actualidad una subespecie de *L. delbrueckii*.
- Lactobacillus leichmanii*, se incluye como *L. delbrueckii* subespecie *lactis*.
- Lactobacillus pastorianus*, se incluyó como especie de posición incierta en la 8.ª edición del Manual de Bergey; no se le concedió ninguna categoría taxonómica en el Vol. 2.
- Lactobacillus plantarum* var. *rudensis*, se incluyó como sinónimo de *L. plantarum* en la 8.ª edición del Manual de Bergey.
- Lactobacillus salinmandus*, no se le concede ninguna categoría taxonómica en el Vol. 2.
- Lactobacillus termophilus*, en un principio fue descrito como productor de endosporas. En la 8.ª edición del Manual de Bergey se indicó que era parecido, si no idéntico, a *Bacillus coagulans*. En el Vol. 2 no se le concedió ninguna categoría taxonómica.
- Lactobacillus trichodes*, fue incluido como sinónimo subjetivo más moderno de *L. fructivorans* en el Vol. 2.
- Lactobacillus vermiformis*, fue incluido como *B. vermiforme* en la 8.ª edición del Manual de Bergey, lactobacilo productor de mucílago, pero no apareció ni en la 7.ª ni en la 8.ª ediciones, ni tampoco en el Vol. 2.

* N. del T.: Sin duda se trata de un error, pues *Clostridium putida* no existe. Los autores se refieren a *Pseudomonas putida*, microorganismo que citan en la Tabla 17.4 (Capítulo 17).

Leuconostoc citrovorum, fue incluido como *Leuconostoc cremoris* en la 8.^a edición; sin embargo, *L. cremoris* actualmente es catalogado como *L. mesenteroides* subespecie *cremoris*.

Leuconostoc cremoris, actualmente se incluye como *L. mesenteroides* subespecie *cremoris*.

Leuconostoc dextranicum, actualmente se incluye como *L. mesenteroides* subespecie *dextranicum*.

Micrococci: véase el enunciado siguiente.

Micrococcus: en las últimas publicaciones del Manual de Bergey este género ha sido modificado ampliamente. En la 8.^a edición del Manual de Bergey el número de especies ha sido reducido de dieciseis a tres; se mantuvo el género *Sarcina* para los cocos anaerobios que se agrupan formando cubos. El Vol. 2 del Manual de Bergey (1986) incluye nueve especies, pero indica que los micrococcos probablemente se deberían incluir en el género *Arthrobacter*.

Micrococcus candidus, no se incluyó en el Vol. 2.

Micrococcus caseolyticus, se incluyó como especie aceptada en la 7.^a edición del Manual de Bergey; no se incluyó en la 8.^a edición. En el Vol. 2 se menciona en el epígrafe que se ocupa de *Staphylococcus caseolyticus*.

Micrococcus freudenreichii, se incluyó como especie de posición incierta en la 8.^a edición del Manual de Bergey. No se le concede ninguna categoría taxonómica ni en el Vol. 1 ni en el Vol. 2.

Micrococcus lipolyticus, se incluyó en la 6.^a edición del Manual de Bergey por su interés histórico, como un micrococo capaz de hidrolizar las grasas de los pescados en salazón.

Paracolobactrum: según la 8.^a edición, se propuso este género para incluir a las bacterias coliformes fermentadoras tardías o no fermentadoras de la lactosa, propuesta que ya no tiene justificación. Los citados microorganismos se han tenido que incluir en los géneros *Escherichia*, *Citrobacter* o *Klebsiella*.

Pediococcus cerevisiae, como denominación de especie ha sido rechazada por el Vol. 2, mientras que la denominación genérica *Pediococcus* se conserva para la denominación específica *damnosus*. *P. damnosus* se encuentra en la cerveza y en la industria cervecera, *P. pentosacens* se usa para fermentar carnes, y *P. halophilus* se encuentra en las salmueras de los encurtidos.

Pediococcus soyae, se incluyó como sinónimo de *Pediococcus halophilus* en la 8.^a edición del Manual de Bergey.

Propionibacterium shermanii, se incluyó como sinónimo de *Propionibacterium freudenreichii*. El Vol. 1 lo ha incluido como *P. freudenreichii* subespecie *shermanii*.

Proteus melanovogenes, se incluyó como sinónimo de *Aeromonas hydrophila* en la 8.^a edición del Manual de Bergey.

Pseudomonas graveolens, se incluyó como sinónimo de *P. taetrolens* en la 7.^a edición. La 8.^a edición del Manual de Bergey incluyó a *P. taetrolens* como especie de posición incierta. El Vol. 1 ha concedido a *P. taetrolens* la categoría de especie.

Pseudomonas nigrificiens, se incluye como especie de posición incierta y se dice que tiene un parentesco más cercano con el género *Alteromonas*.

Pseudomonas putrefaciens, se incluyó en la 8.^a edición del Manual de Bergey como especie de posición incierta. El Vol. 1 incluye a este microorganismo en la

especie *Alteromonas putrefaciens*, que en la actualidad es una especie de posición incierta.

Pseudomonas sapolactica, se incluyó como especie de posición incierta en la 8.ª edición del Manual de Bergey; no se incluyó en el Vol. 1.

Pseudomonas syncyanea, se incluyó como especie de posición incierta en la 8.ª edición del Manual de Bergey; en el Vol. 1 no se le concedió ninguna categoría taxonómica.

Pseudomonas visosa, se incluyó en la 8.ª edición del Manual de Bergey, pero desde entonces no ha vuelto a aparecer.*

Sarcina lutea, no se incluyó como especie válida en el Vol. 2. *S. lutea* es una agrupación de cocos aerobios en forma de cubo; en el género *Sarcina* sólo se mantuvieron las especies anaerobias. Los microorganismos del género *Sarcina* aerobios y asporógenos fueron adscritos al género *Micrococcus*.

Serratia salinaria, se incluyó como sinónimo de *Halobacterium salinarium* en la 8.ª edición del Manual de Bergey.

Streptococcus cremoris, en la actualidad se considera sinónimo de *S. lactis*. Como subespecie nueva, ha sido propuesta *S. lactis* subespecie *cremoris*.

Streptococcus durans, se incluyó como sinónimo de *S. faecium* en la 8.ª edición del Manual de Bergey. En el Vol. 2 no se le concedió ningún rango taxonómico.

Streptococcus faecalis subespecie *liquefaciens* es actualmente considerado sinónimo de *S. faecalis*.

Streptococcus faecalis subespecie *zymogenes*, es actualmente considerado sinónimo de *S. faecalis*.

Streptococcus faecium subespecie *durans*, no se le asigna ninguna categoría taxonómica en el Vol. 2.

Streptococcus lactis fue admitida como especie en el Vol. 2. Sin embargo, ha sido propuesta, como subespecie nueva, *S. lactis* subespecie *lactis*.

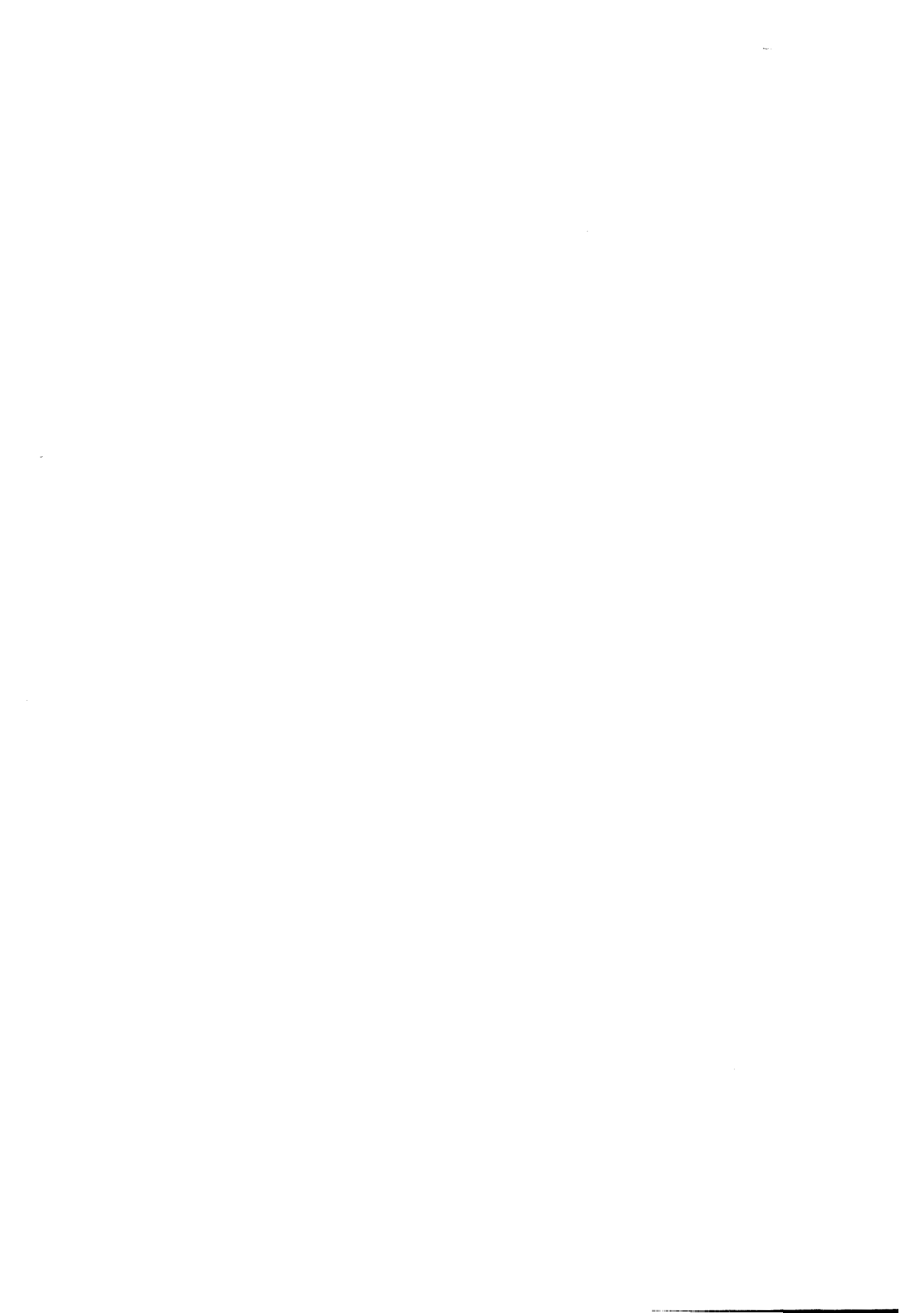
Streptococcus lactis subespecie *cremoris* no fue aceptada en el Vol. 2, pero se propone como subespecie.

Streptococcus lactis subespecie *diacetylactis* se incluyó como sinónimo de *S. lactis*. Como subespecie nueva, ha sido propuesta *S. lactis* subespecie *diacetylactis*.

Streptococcus lactis subespecie *lactis* no fue admitida en el Vol. 2, pero se propone como subespecie.

Streptococcus lactis var. *multigenes* no fue admitida como denominación en el Vol. 2 (1986).

* N. del T.: Su nomenclatura correcta es *Pseudomonas villosa*.



Apéndice B

Especificaciones microbiológicas internacionales

Las tablas que se ofrecen a continuación han sido tomadas de la obra *An Evaluation of the Role of Microbiological Criteria for Foods and Food Ingredients*, 1985, con licencia de National Academy Press, Washington, D.C. Los símbolos de las letras que figuran en las tablas significan lo siguiente:

n = número de unidades de muestras analizadas que se seleccionan una a una e independientemente.¹

c = número máximo permisible de unidades de muestra que dan resultados analíticos no satisfactorios, por ejemplo la presencia del microorganismo o un recuento superior a m.²

m = criterio microbiológico que, en un programa de dos clases, separa la calidad aceptable de la rechazable o, en uno de tres clases, separa la calidad aceptable de la aceptable provisionalmente.

M = criterio microbiológico que, en un programa de tres clases, separa la calidad aceptable provisionalmente de la rechazable. Los valores iguales o superiores a M son inaceptables.

categoría = serie de factores relacionados con la naturaleza y con el tratamiento a que ha sido sometido el alimento, clasificados en 15 de estas series,³

¹ N. del T.: Número de unidades de muestra de un lote de un determinado alimento que se deben analizar para satisfacer las exigencias de un determinado programa de muestreo.

² N. del T.: Número máximo de unidades de muestra rechazables. Cuando se encuentra un número de unidades de muestra rechazables superior a c se rechaza el lote.

³ N. del T.: Categorías de la 1ª a la 15ª.

que determina por anticipado su peligro como consecuencia de la presencia de determinados grupos o especies bacterianos en un alimento (ICMSF,¹ 1974).

Tabla B.1. Dictamen de los expertos de la comisión conjunta FAO/OMS sobre especificaciones microbiológicas para alimentos: ovoproductos.

<i>Producto</i>	<i>Prueba</i>	<i>n</i>	<i>c</i>	<i>m</i>	<i>M</i>
Huevos enteros desecados y congelados	Bacterias aerobias mesófilas	5	2	5×10^4	10^6
	Coliformes	5	2	10	10^3
	<i>Salmonella</i>	10	0	0	-
Otros ovoproductos	<i>Salmonella</i>	10	0	0	-
Todo ovoproducto destinado a fines dietéticos especiales	<i>Salmonella</i>	30	0	0	-

Fuente: CAC/RCP 15, 1976.

Tabla B.2. Dictamen de los expertos de la comisión conjunta FAO/OMS sobre especificaciones microbiológicas para alimentos: alimentos destinados a bebés y a niños.

<i>Producto</i>	<i>Prueba</i>	<i>Categoría</i>	<i>n</i>	<i>c</i>	<i>m</i>	<i>M</i>
Bizcocho seco natural recubierto	Ninguna	-	-	-	-	-
	Coliformes	5	5	2	<3	20
	<i>Salmonella</i>	11	10	0	0	-
Productos desecados instantáneos	Bacterias aerobias mesófilas	6	5	2	10^3	10^4
	Coliformes	6	5	1	<3	20
	<i>Salmonella</i>	12	60	0	0	-
Productos desecados que precisan calentamiento antes de su consumo	Bacterias aerobias mesófilas	4	5	3	10^4	10^5
	Coliformes	4	5	2	10	10^2
	<i>Salmonella</i>	10	5	0	0	-

Fuente: CAC/RCP 21, 1979.

¹ ICMSF = International Commission on Microbiological Specifications for Foods (Comisión Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas de los Alimentos).

Tabla B.3. Dictamen de los expertos de la comisión conjunta FAO/OMS sobre especificaciones microbiológicas para los alimentos: camarones y quisquillas precocinados y congelados.

Prueba	n	c	m	M
Bacterias aerobias mesófilas	5	2	10 ⁵	10 ⁶
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	2	5 × 10 ²	5 × 10 ³
<i>Salmonella</i>	5	0	0	-

Fuente: CAC/RCP 17, 1978.

Tabla B.4. Dictamen de los expertos de la comisión conjunta FAO/OMS sobre especificaciones para los alimentos: mezclas para helados.

Prueba	n	c	m	M
Bacterias aerobias mesófilas	5	2	2,5 × 10 ⁴	10 ⁵
Coliformes	5	2	10	10 ²
<i>Salmonella</i>	10	0	0	-

Fuente: Report of 2nd Joint FAO/OMS Expert Consultation, 1977.

Tabla B.5. Dictamen de los expertos de la comisión conjunta FAO/OMS sobre especificaciones para los alimentos: helados comestibles.

Prueba	n	c	m	M
Bacterias aerobias mesófilas	5	2	5 × 10 ⁴	2,5 × 10 ⁵
Coliformes	5	2	10 ²	10 ³
<i>Salmonella</i>	10	0	0	-

Fuente: Report of 2nd Joint FAO/OMS Expert Consultation, 1977.

Tabla B.6. Especificaciones microbiológicas propuestas por la federación lechera internacional para la leche en polvo, 1982.

Prueba	n	c	m	M
Recuento de mesófilos	5	2	5 × 10 ⁴	2 × 10 ⁵
Coliformes	5	1	10	100
<i>Salmonella</i>	15	0	0	

Fuente: IDF: D-Doc 90, 1982.

Tabla B.7. Patrones microbiológicos de la comunidad económica europea para caseínas y caseinatos.

Microorganismo(s)	M (concentración máxima admisible)
Recuento total de bacterias	30.000/g
Microorganismos termófilos	5.000/g
Coliformes	0 (en 0,1g)

Fuente: Regulation (EEC) No. 2940/73, O.J. No. L301/25.

Tabla B.8. Patrones microbiológicos de la comunidad económica europea para las aguas minerales de manantial.

<i>Microorganismo(s)</i>	<i>M (concentración máxima admisible)</i>
Recuento total	20/ml a 37°C 100/ml a 22°C
Parásitos y microorganismos patógeno	Ausencia
<i>E. coli</i> , coliformes y estreptococos fecales	Ausencia en 250 ml
Anaerobios sulfitorreductores	Ausencia en 50 ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausencia en 250 ml

Fuente: Council Directive 15 July 1980 (BO/77/EEC), O.J. No. L229/1.

Tabla B.9. Patrón de la comunidad económica europea para el agua de consumo humano.

<i>Microorganismo(s)</i>	<i>m (cifra orientativa)</i>	<i>M (concentración máxima admisible)</i>
Recuento total	10/ml a 37°C	-
(agua del grifo)	100/ml a 22°C	-
Recuento total	5/ml a 37°C	20
(agua embotellada)	20/ml a 22°C	100
Coliformes totales	-	-
Coliformes fecales	-	NMP \leq 1
Estreptococos fecales	-	-
Clostridios sulfitorreductores	-	NMP \leq 1
Todas las bacterias, virus, algas, y parásitos patógenos	ausencia	-

Fuente: Council Directive 15 July 1980 (80/778/EEC), O.J. No. L229/11.

Tabla B.10. Pautas microbiológicas del código estándar para las aguas minerales de manantial.

<i>Microorganismo(s)</i>	<i>M (concentración máxima admisible)</i>
Recuento de aerobios mesófilos a pie de manantial	20/ml a 21°C (72 horas) 5/ml a 37°C (24 horas)
Recuento de aerobios mesófilos una vez embotelladas	100/ml a 20-22°C (72 horas) 20/ml a 37°C (24 horas)
Coliformes (incluido <i>E. coli</i>)* (a 30-32°C y a 44°C)	Ninguno en 250 ml
Estreptococos fecales (grupo D de Lancefield)	Ninguno en 250 ml
Anaerobios esporulados sulfitorreductores	Ninguno en 50 ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , parásitos y microorganismos patógenos*	Ninguno en 250 ml

*Aplicable al agua tanto a pie de manantial como durante su venta.

Fuente: Appendix 1 CX/FH 79/4 - ADD.1, 1979.

Tabla B.11. Pautas propuestas para la calidad del agua de bebida.

<i>Parámetro/microorganismo</i>	<i>Número por 100 ml</i>	<i>Observaciones</i>
I. Calidad microbiológica		
<i>Suministros de agua por tubería</i>		
<i>Agua tratada que entra en el sistema de distribución</i>		
Coliformes fecales	0*	Turbiedad < 1 NTU*; para desinfección con cloro, pH preferentemente < 8,0, cloro libre residual de 0,2-0,5 mg/l después de un contacto de 30 minutos, como mínimo
Microorganismos coliformes	0	
<i>Agua no tratada que entra en el sistema de distribución</i>		
Coliformes fecales	0	En el 98% de las muestras analizadas durante todo el año en grandes suministros con suficientes muestras analizadas
Microorganismos coliformes	0	
Microorganismos coliformes	3	
<i>Agua del sistema de distribución</i>		
Coliformes fecales	0	En el 95% de las muestras examinadas a lo largo del año por grandes suministradores con suficientes muestras examinadas
Microorganismos coliformes	0	
Microorganismos coliformes	3	
<i>Suministros de agua sin tuberías</i>		
Coliformes fecales	0	Recuento que no se obtiene de forma reiterada; si se obtiene de esta forma y no se puede mejorar la protección higiénica, es preciso encontrar un suministro alternativo
Microorganismos coliformes	10	
<i>Agua de bebida embotellada</i>		
Coliformes fecales	0	Advertir al común del pueblo que hierva el agua en caso de que no se ajuste a los valores de la pauta
Microorganismos coliformes	0	
<i>Suministros de agua de emergencia</i>		
Coliformes fecales	0	No se ha fijado valor para este parámetro
Microorganismos coliformes	0	
II. Calidad biológica		
Enterovirus	-	No se ha fijado valor para este parámetro
Protozoos (patógenos)	-	
Helmintos (patógenos)	-	No se ha fijado valor para este parámetro
Microorganismos de vida libre (algas, otros)	-	

* Los métodos que se emplean en los Estados Unidos proponen no utilizar ceros (0), antes bien referir los resultados como inferiores a una vez el inverso de la dilución más baja.

Fuente: EBP/82.39 (adaptada).

* N. del T.: NTU = 1 unidad nefelométrica de turbiedad.

Indice alfabético

- Abastecimiento de aguas, bacteriología, 630
Abombamiento por hidrógeno de las latas, 407
Absidia, 31
Aceites, 418
Aceites esenciales, 420
Aceitunas maduras, 488
 defectos y alteración, 488
Aceitunas verdes, 485
 defectos y alteraciones, 487
Acetatos, 198
Acetificación, 460
Acetobacter, 54
Acido bórico, 204
Acido cítrico, 521
 aplicaciones, 522
 producción, 522
Acido fosfórico, 204
Acido láctico, producción de, 519
 aplicaciones, 521
Acido penicílico, 591
Actividad agua, concepto, 6
Aditivo alimentario, 191
Aeromonas, 54
Aeromonas hydrophila, 576
Aflatoxinas, 584
Agentes conservantes, clasificación, 110
Agridado plano, 407
Agua de bebida, 630
Agua para uso industrial, 630
Aguas residuales y desperdicios, tratamiento y eliminación, 632
Aire, carga microbiana, 83
 contaminación de los alimentos, 82
 microorganismos, 82
 tratamiento, 84
Alcaligenes, 55
Alcohol, 200
Ale, 454
Aleukia tóxica alimentaria (ATA), 585, 591
Alimentos: clasificación por la facilidad con que se alteran, 91
 estructura biológica, 19
Alimentos de actividad agua reducida, 187
Alimentos de humedad intermedia, 187
Alimentos de origen microbiano, 511
Alimentos desecados, microbiología, 183, 185
Alimentos diversos, 417
Alimentos dulces, 252
 alteración, 256
 conservación, 252
 contaminación, 251
Alimentos en relación con las enfermedades, 531
Alimentos energéticos, 14
Alimentos enlatados, alteración, 403
 alteraciones biológicas, 406
 aspecto del recipiente antes de su apertura, 405
 carnes y pescados enlatados, 412
 causas de alteración, 403, 414
 por bacterias asporógenas, 410

- por bacterias esporógenas mesófilas, 408
- por bacterias esporógenas termófilas, 407
- por levaduras, 411
- por mohos, 411
- temperatura de esterilización: factores determinantes, 140
- tipos de alteración poco frecuentes, 413
- Alimentos envasados bajo presión, 154
- Alimentos grasos, 418
- Alimentos marinos, tóxicos de los, 603
- Alimentos orientales fermentados, 497
- Alimentos plásticos, 16
- Alimentos precocinados congelados, 169
- Alimentos producidos por microorganismos, 429
- Alimentos y bebidas, máquinas expendedoras, 641
- Almacenamiento habitual o de bodega, 162
 - a temperatura baja, 161
 - bajo congelación, 165
 - en frío, 162
- Alteración de los alimentos, causas, 90
 - modificaciones químicas por microorganismos, 89
 - principios generales, 89
- Alternaria*, 39
- Alteromonas*, 55
- Amilasas, 524
 - α -amilasa, 524
 - β -amilasa, 524
 - amiloglucosidasa, 524
 - aplicaciones, 525
 - de origen bacteriano, 525
 - de origen fúngico, 524
 - maltasa, 524
- Aminoácidos, producción de, 518
- Anaerobiosis, tanques de, 635
- Análisis de Riesgos: Puntos Críticos de Control (HACCP), 644
- Ang-khak, 500
- Antibióticos, 206
- Antibióticos antifúngicos, 205
- Appertización, 149
- Arizona hinshawii*, 577
- Arthrobacter*, 55
- Asociaciones de microorganismos, 93
- Aspergillus*, 31
- Aspergillus flavus*, 684
- Aspergillus ochraceus*, 590
- Aspergillus parasiticus*, 584
- Aves, 359
 - alteración, 366
 - conservación, 361
 - asepsia, 361
 - atmósfera de CO₂, 365
 - por calor, 363
 - congelación, 364
 - conservadores, 365
 - radiaciones, 366
 - refrigeración, 363
 - contaminación, 359
 - perfil microbiológico, 361
- Avidina, 17
- Azúcar, 200
- Azúcar almacenado, 254
- Azúcares y productos azucarados, 247
 - alteración, 253
 - conservación, 251
 - contaminación, 247
- Bacillus*, 55
- Bacillus cereus*, 571
- Bacon, 318
- Bacterias, 50
 - acéticas, 67, 437
 - butíricas, 67
 - caracteres de los cultivos importantes en bacteriología de los alimentos, 53
 - caracteres morfológicos importantes en bacteriología de los alimentos, 50
 - coliformes y coliformes fecales, 72
 - géneros importantes en bacteriología de los alimentos, 54
 - grupos importantes en bacteriología de los alimentos, 66
 - halófilas, 70
 - lácticas, 67
 - lipolíticas, 68
 - osmófilas, 70
 - pectinolíticas, 69
 - productoras de pigmentos, 71
 - propiedades fisiológicas, 54
 - propiedades fisiológicas importantes en bacteriología de los alimentos, 54
 - propiónicas, 67
 - proteolíticas, 67
 - psicrótrofas, 69
 - que producen gas, 71
 - que producen mucílago, 71

- sacarófilas, 70
 sacarolíticas, 68
 termodúricas, 69
 termófilas, 69
- Bactofugación, 375
- Bebidas de malta, 448
- Bebidas embotelladas, 420
- Benzoatos, 197
- Biotina, 17
- Blanqueado, 166
- Bocadillos, 642
- Boratos, 204
- Bórax, 204
- Botrytis*, 37
- Botulismo, 537
 alimentos implicados, 543
 enfermedad, 545
 incidencia, 543
 microorganismo, 537
 prevención de los brotes, 546
 producción de toxinas, 538
 síntomas, 545
 termorresistencia de las esporas, 542
 toxicidad y bacteriófagos, 541
 toxina botulínica, 540
- Botulismo infantil, 546
- Brandy, 463
- Brevibacterium*, 56
- Brettanomyces*, 49
- Brochotrix*, 56
- Brotes de enfermedades alimentarias, investigación, 609
- Cacao, 496
- Café, 496
- Calentamiento a temperaturas superiores a los 100°C, 148
 próximo a los 100°C, 147
- Campylobacter*, 56, 577
Campylobacter coli, 573
Campylobacter jejuni, 573
- Cáncer del queso, 495
- Candida*, 48
- Carnes enlatadas, alteración, 412
- Carnes refrigeradas envasadas, 320
- Carnes y productos cárnicos, alteración, 305
 alteraciones en aerobiosis, 309
 alteraciones en anaerobiosis, 312
 conservación, 291
 ahumado, 303
 antibióticos, 304
 asepsia, 292
 congelación, 297
 conservadores, 299
 desecación, 298
 especias, 304
 por calor, 293
 radiaciones, 297
 refrigeración, 295
- contaminación, 289
- de las carnes curadas, 315
 bacon, 318
 cecina o pernils de vacuno, 316
 embutidos, 316
 jamón, 319
- de los distintos tipos de carnes, 313
 carnes de vacuno, 314
 carnes frescas, 313
 carnes refrigeradas envasadas, 320
- embutidos de carne de cerdo fresca, 315
 hamburguesas, 314
- principios generales en los que se basa la alteración de la carne, 305
- tipos generales de alteración, 309
 agriado, 312
 barbas, 311
 husmo, 313
 moteado blanco, 311
 moteado negro, 311
 pegajosidad, 311
 putrefacción, 312
- Cecina, 316
- Celulosa, 528
- Centro Natick de Investigación y Desarrollo del Ejército de los EE. UU., 652
- Cephalosporium*, 38
- Cereales para desayunos, 243
- Cereales y productos derivados, alteración, 236
 conservación, 234
 asepsia, 234
 empleo de calor, 234
 empleo de conservadores químicos, 235
 empleo de radiaciones, 236
 empleo de temperaturas bajas, 235
 contaminación, 229
 perfil microbiológico, 231, 232
- Cerveza, 448
 defectos y «enfermedades», 451
 elaboración, 448
 infecciones, 452
 microbiología, 451
- Cerveza de jengibre, 455
- Cerveza oscura fuerte, 453

- tipo ale, 454
- tipo Pilsen, 453
- tipo porter, 454
- tipo stout, 454
- Cervezas bajas en calorías, 454
- Cicloclorotina, 591
- Cidra, 497
- Citrinina, 590
- Cladosporium*, 39
- Claviceps purpurea*, 584
- Clostridium*, 56
- Clostridium botulinum*, 537
- Clostridium perfringens (welchii)*, 565
 - alimentos implicados, 656
 - gastroenteritis por, 564
 - prevención de los brotes, 566
 - síntomas, 566
- Cólera epidémico o asiático, 567
- Coliformes y coliformes fecales, 72
- Condimentos diversos, 202
- Congelación con deshidratación, 167
- Congelación de alimentos, 165, 166
 - efectos letales, 171
 - efectos subletales
 - respuesta de los microorganismos, 172
- Congelación penetrante, 166
- Congelación rápida, 166
- Conservación de alimentos, fundamentos, 109
 - asepsia, 113
 - eliminación de microorganismos, 115
 - mantenimiento de anaerobiosis, 116
 - mediante aditivos, 191
 - mediante temperaturas bajas, 159
 - mediante temperaturas elevadas, 119
 - por desecación, 177
 - por irradiación, 211
 - principios generales, 105, 106
 - procedimientos utilizados, 108
- Conservador antimicrobiano ideal, 192
- Conservadores alimentarios, 193
- Conservadores que se añaden a los alimentos, 193
- Conservadores que se originan en los propios alimentos, 208
- Conservadores químicos, 191, 204
- Conservas caseras, 155
- Conservas enlatadas, enfriamiento de, 155
- Contaminación de los alimentos, 75
 - durante su manipulación y tratamiento, 84
 - por el agua, 79
 - por el aire, 82
 - por el suelo, 79
 - por las aguas residuales, 78
 - por las frutas, 75
 - por las verduras, 75
 - por los animales, 77
- Control de alimentos, 649
- Cornezuelo del centeno, 584
- Corynebacterium*, 57
- Coxiella burnetii*, 597
- Criterios microbiológicos para alimentos, 654
- Cultivo propiónico, 437
- Cultivos de bacterias, 435
 - de levaduras, 437
 - de mohos, 440
 - de reserva, 432
 - lácticos, 435
 - mixtos, 434
- Cultivos microbianos: curva de crecimiento, 111
- Cultivos para la fermentación de alimentos, 431
 - actividad, 434
 - de levaduras, 437
 - de mohos, 440
 - mantenimiento de la actividad, 432
 - mantenimiento de la pureza, 433
 - lácticos, 435
 - mixtos, 434
 - preparación, 433
 - selección, 432
- Curado de carnes, 299
 - ahumado, 303
 - antibióticos, 304
 - especies, 304
- Curado, soluciones de, 320
- Curva de crecimiento de los cultivos microbianos, 111
 - aplicaciones en la conservación de alimentos, 112
- Chop suey, 498
- Choque frío, 171
- Chou, 497
- Debaryomyces*, 48
- Demanda bioquímica de oxígeno (DBO), 633
- Desecación, 177
 - factores que la regulan, 181
 - procedimientos, 179

- tratamientos previos, 181
- tratamientos posteriores, 182
- Desecadores para alimentos, tipos, 178
- Desperdicios de alimentos: tipos, 635
 - tratamiento y eliminación, 634
- Desulfotomaculum*, 57
- Dextrano, producción de, 519
- Dextranosacarasa, 529
- Dióxido de azufre, 199
- Dirección General de Alimentos y Fármacos, 650

- Efecto metabiótico, 94
- Electronvoltio, 217
- Eliminación de microorganismos, 115
- Embutidos, 316
- Encurtidos, 478, 484
 - defectos y alteraciones, 483
- Encurtidos blandos, 484
 - flotantes, 484
 - hinchados, 484
 - negros, 484
 - viscosos, 484
- Encurtidos con eneldo, 482
 - auténticos, 483
 - fermentados en una noche, 482
- Encurtidos salados, 479
 - fermentación controlada, 481
 - fermentación tradicional, 479
 - huecos, 483
- Encharcado, 635
- Endomyces*, 40
- Endoparásitos susceptibles de ser transmitidos por alimentos, 600, 601, 602
- Enfermedad de Newcastle, 596
- Enfermedades alimentarias de etiología bacteriana, 533, 534
 - interpretación y aplicación de los resultados, 615
 - investigación de brotes, 609
 - investigación sobre el terreno, 612
 - materiales y equipo necesarios, 611
 - medidas preventivas, 622
 - objetivos, 610
 - personal que participa en la investigación, 610
 - pruebas de laboratorio, 614
 - recogida de muestras de alimentos, 613
- Enfermedades parasitarias importantes transmitidas por alimentos, 598
- Enfermedades transmitidas por alimentos, caracteres generales, 568, 569

- Enlatado, 149
 - estéril de Martin, 153
 - sistema HTST, 150
 - técnica, 151
 - tratamiento térmico, 151
- Enterobacter*, 57
- Enterotoxina estafilocócica, 550
- Envasado en frío, 156
- Envasado, materiales de, 637
- Envenenamiento por agentes químicos, 604
- Enzimas de origen microbiano, producción, 511
- Enzimas pectolíticos, 526
 - aplicaciones, 526
- Enzimas, producción, 522
- Enzimas producidos por microorganismos, 429
- Enzimas proteolíticos, 527
 - aplicaciones, 528
 - de origen bacteriano, 527
 - de origen fúngico, 527
- Equilibrio redox, 14
- Equipo: limpieza, 638
 - desinfección, 639
- Ergotismo gangrenoso, 584
- Erwinia*, 57
- Escaldado, 166
- Escherichia*, 57
- Escherichia coli* enteropatógeno (EEC), 570
- Espicias, 202, 422
- Especificación microbiológica, 656
- Especificaciones microbiológicas internacionales, 665
- Espectro electromagnético, 212
- Esterigmatocistina, 591
- Esterilización fría, 211

- Fermentaciones de alimentos, 443
- Fermento del yogurt, 436
- Fermento láctico, 436
- Filtros de goteo, 635
- Flavobacterium*, 58
- Flores del vino, 460
- Formaldehído, 201
- Frutas desecadas, 185
- Frutas y productos derivados, alteración, 276
 - tipos generales de alteraciones microbianas, 277
 - antracnosis, 278
 - podredumbre azul por mohos, 279

- blanda acuosa, 279
- blanda por bacterias, 278
- blanda por *Rhizopus*, 278
- de los pedúnculos, 279
- gris por mohos, 278
- negra, 280
- negra por mohos, 279
- parda, 280
- por *Alternaria*, 279
- rosa por mohos, 280
- verde por mohos, 280
- podredumbres por *Fusarium*, 280
- roya lanosa, 279
- viscosidad o agriado, 280
- conservación, 270
 - asepsia, 271
 - atmósfera controlada, 272
 - atmósfera modificada, 273
 - calor, 271
 - congelación, 274
 - conservadores, 275
 - deseccación, 275
 - perfil microbiológico, 262
 - refrigeración, 272
- Fuga, 169
- Fungi imperfecti*, 57
- Fusarium*, 40
- Gastroenteritis por *Clostridium perfringens*, 564
 - alimentos implicados, 565
 - enfermedad, 566
 - microorganismo, 565
 - prevención de los brotes, 566
- Geotrichum*, 37
- Gluconobacter*, 58
- Glucosaisomerasa, 529
- Glucosaoxidasa, 528
- Gonyaulax catenella*, 603
- Gonyaulax tamaurensis*, 603
- Goteo, 168
- Granos de cereales y sus harinas, alteración, 236
- Grasas de origen microbiano, síntesis, 517
 - materias primas, 518
 - microorganismos utilizados, 517
- Grasas y aceites, 418
- Gray, 217
- Halobacterium*, 58
- Halógenos, 203
- Hamburguesas, 314
- Hanseniaspora*, 48
- Hansenula*, 48
- Harinas, alteración, 237
- Hediondez por sulfuros, 408
- Helminthosporium*, 39
- Hepatitis infecciosa, 594
- Hidromiel, 463
- Hongos, 583
- Hongos levaduriformes, 41
- Hortalizas desecadas, 186
- Hortalizas fermentadas, 473, 474, 488
- Hortalizas y frutas, alteración, 276
 - tipos generales de alteraciones microbianas, 277
 - conservación, 263
 - asepsia, 263
 - calor, 264
 - conservadores, 268
 - congelación, 265
 - deseccación, 267
 - esponjamiento explosivo, 267
 - irradiación, 270
 - refrigeración, 265
 - hidroenfriamiento, 265
 - contaminación, 259
 - defectos comerciales, 281
 - perfil microbiológico, 262
- Huevos, 341
 - alteración, 352
 - conservación, 343
 - asepsia, 344
 - congelación, 347
 - conservadores, 350
 - deseccación, 349
 - eliminación de microorganismos, 344
 - por calor, 345
 - radiaciones, 352
 - refrigeración, 346
 - contaminación, 341
 - tipos de microorganismos aislados, 342
 - defectos de los frescos, 352
 - deseccados, 186
 - modificaciones durante su almacenamiento, 352
 - tipos de putrefacción, 354
- Huevos desecados, 186
- Humedad, 6
- Humedad relativa (RH), 6
- Humo de madera, 201
- Husmo, 311, 313, 355, 367

- Idli, 501
 Industrias alimentarias, 653
 Infección por *Vibrio parahaemolyticus*, 567
 Infecciones alimentarias bacterianas, 534, 577
 por otras especies de *Vibrio*, 567
 Ingredientes de productos alimentarios, 637
 Intoxicación alimentaria bacteriana, 534
 Intoxicación alimentaria por *Staphylococcus*, 547, 554
 alimentos implicados, 554
 enfermedad, 554
 enterotoxina, 552
 incidencia, 552
 síntomas, 555
 Intoxicación por ciguatera, 603
 Intoxicación por escómbridos, 603
 Intoxicación por mariscos, 603
 Invertasa, 525
 aplicaciones, 526
 Iones hidrógeno, concentración de, 4
 Irradiación de alimentos, aplicaciones, 165, 224
 Irrigación, 634
- Jamón, 319
 Jarabes, alteración, 254
 Jugos de frutas y hortalizas, alteraciones, 284
- Kefir, 489, 490
Klebsiella, 58
Kloeckera, 49
Kluyveromyces, 48
 Koji, 441
 Kumis, 489, 490
- Lactasa, 529
 Lacteninas, 18
Lactobacillaceae, 58
Lactobacillus, 58
 Lámparas germicidas, 213
 Lao-chao, 501
 Leche acidófila, 490
 Leche, alteración a diferentes temperaturas, 394
 Leche, alteración de la, 386
 modificaciones de olor, 393
 modificaciones de sabor, 391
 modificaciones en la grasa, 391
 mucosidad, 389
 producción de álcalis, 391
 producción de gas, 387
 proteólisis, 388
 sabores anormales diversos, 392
 viscosidad, 389
 Leche condensada a granel, 395
 Leche condensada azucarada, 396
 esterilizada, 377
 evaporada, 396
 Leche, contaminación de la, 371
 durante su transporte y elaboración, 373
 en la granja, 371
 Leche en polvo, 187
 Leche y productos lácteos, alteración, 385
 Leche y productos lácteos, conservación, 374
 asepsia, 374
 centrifugación, 375
 congelación, 380
 deseccación, 381
 empleo de conservadores, 383
 pasteurización, 376
 rayos ultravioleta, 384
 refrigeración, 380
 ultracentrifugación, 373
 ultrapasteurización, 376
 Leches fermentadas, 492
 Lechuga agria, 489
Leuconostoc, 60
 Levadura activa desecada, 438
 Levadura de los destiladores, 440
 de los panaderos, 438
 Levaduras, 41
 caracteres de los cultivos, 43
 caracteres generales, 4
 clasificación e identificación, 45
 de importancia industrial, 46
 grupos de, 49
 propiedades fisiológicas, 43
 Levaduras del vino, 439
 Levaduras falsas, 48
 Levaduras, grupos de, 49
 Levaduras para bebidas de malta, 439
 Ley de Raoult, 8
 Licor de malta, 453
 Licores destilados, 463
 Limpieza «in situ», sistemas de, 640
 Liofilización, 180
 Lipasa, 529
 Líquido metacriótico, 168
Listeria, 61
Listeria innocua, 576

- Listeria monocytogenes*, 575
 Listeriosis, 575
 Lodo residual activado, 635
 Luteosquirina, 591
Lyngbya majuscula, 603
- Macarrones, 243
 Mantequilla, 397
 colores anormales, 399
 sabores anormales, 398
 Marisco, alteración, 338
 Masas preparadas, 244
 Megarad, 217
 Megarep, 217
 Melazas, alteración, 254
 Métodos correctos de fabricación (GMPs), 643
 Micotoxicosis, 584
 Micotoxinas, 583
 de posible importancia en los alimentos, 585
Microbacterium, 61
Micrococcus, 61
 Microondas, tratamiento de los alimentos, 223
 Microorganismos de los alimentos: factores que influyen en la multiplicación, 93
 efectos combinados de factores que influyen en su crecimiento, 19
 factores que influyen en el número y tipo, 92
 Microorganismos indicadores, 72
 Miel, 250, 255
 alteración, 253
 contaminación, 250
 Miel de meple, 249, 254
 alteración 254
 conservación, 252
 contaminación, 249
 Minchin, 501
 Ministerio de Agricultura de los Estados Unidos, 651
 Miso, 499
 Modificaciones químicas de los alimentos por microorganismos, 100
 de compuestos no nitrogenados, 101
 de compuestos orgánicos nitrogenados, 100
 Mohos, 23
 caracteres generales, 24
 clasificación e identificación, 30
 cultivos, 28
 de importancia industrial, 31
 propiedades fisiológicas, 29
Monascus, 40
Monilia, véase *Neurospora*
 Mosto de cerveza, 449
Mucor, 31
 Muerte térmica mayoritaria, 125
 Muerte térmica total, 125
Mycobacterium, 62
- Nabos agrios, 489
 Nata, 386
 esterilizada, 377
 Natto, 500
Neurospora, 37
 Nitratos, 198
 Nitritos, 198
 Nomenclatura bacteriana, 659
 Nueces desprovistas de cáscara, 423
 Nutrientes, cantidad de, 14
- Ocratoxina, 590
Oidium, véase *Geotrichum*
Oospora, véase *Geotrichum*
 Organismos estatales, 652
 Organismos federales, 650
 Organismos internacionales, 649
 Organismos mercantiles, 652
 Organismos particulares, 653
 Ormitosis, 596
 Oxido de etileno, 199
 Oxido de propileno, 199
 Oxido-reducción, potencial de, 12
- Pan, 238, 443
 alteración, 238
 de centeno, 447
 de San Francisco, 448
 enmohecimiento, 239
 fabricación continua, 446
 fermentación, 443
 producción de sabor, 446
 viscosidad, 241
 Pan rojo, 242
 Pan yesoso, 242
 Papaína, 527
 Parásitos transmitidos por alimentos, 597
 Pasta, 243
 Pasteurización, 145

- Patrón microbiológico, 656
 Patulina, 588
 Pauta microbiológica, 656
 Pectinasa, 526
 Pectinesterasa, 526
Pediococcus, 62
 Penetración del calor en los alimentos, 139
Penicillium, 34
Penicillium expansum, 589
Penicillium islandicum, 591
Penicillium roqueforti, 592
 Peptidasas, 527
 Peróxido de hidrógeno, 204
 Perry, 462
 Pescado fermentado, 501
 Pescado y otros alimentos marinos, alteración, 334, 338
 bacterias que alteran el pescado, 337
 factores que influyen en el tipo y velocidad de alteración, 335
 signos de alteración, 336
 conservación, 326
 contaminación, 325
 ahumado, 332
 con antioxidantes, 334
 congelación, 329
 conservadores, 331
 que se incorporan al hielo, 333
 deseccación, 330
 por calor, 327
 radiaciones, 330
 refrigeración, 328
 signos de alteración, 336
 Pescados enlatados, alteración, 412
 pH, 4
Photobacterium, 62
Plesiomonas shigelloides, 574
Pichia, 48
 Pidan, 501
 Poi, 502
 Poligalacturonasa, 526
 Poliomiélitis, 594
 Postres congelados, 397
 Potencial de óxido-reducción, 12
 Productos alimenticios, microbiología, 637
 equipo, 638
 ingredientes, 637
 materiales que se emplean en el envasado, 637
 Productos lácteos condensados y en polvo, 382, 395
 Productos lácteos desecados, 382
 Productos lácteos fermentados, 489
 alteración y defectos, 492
 cultivos que se utilizan, 490
 Programas cooperativos, 653
 Propionatos, 196
Propionibacterium, 62
 Proteasas, 527
 Proteína unicelular (SCP), 511
 materias primas que se utilizan como sustratos, 515
 microorganismos utilizados, 514
 valor nutritivo y utilización, 516
 Proteinasa, 527
Proteus, 63
Pseudomonas, 63
 Pulque, 455
Pullularia, 39

 Quemadura del congelador, 168
 Queso de soja, 500
 Queso, defectos y alteraciones, 492
 cáncer, 495

 Rad, 217
 Radapertización, 218
 Radiación ultravioleta, 213
 actividad sobre los microorganismos, 215
 aplicaciones en la industria alimentaria, 216
 efectos en las personas y en los animales, 214
 factores que influyen en su eficacia, 213
 Radiaciones ionizantes, 216
 clases, 216
 dosis letales, 221
 efectos en los alimentos, 222
 Radicación, 218
 Radurización, 218
 Rancidez, 418
 cetónica, 418
 hidrolítica, 418
 oxidativa, 418
 Raoult, ley de, 8
 Rayos beta, 217
 Rayos catódicos, 217
 Rayos gamma, 218
 Rayos X, 216, 218
 Refrigeración, 162
 Reversión del sabor, 418
Rhizopus, 31
Rhodotorula, 49
 Rickettsiosis, 597

- Roentgen, 217
 Roentgen equivalente físico, 217
 Ron, 463
 Roquefortina, 592
- Sacarosa, alteración, 253
 conservación, 251
 contaminación, 247
Saccharomyces, 47
 Sake, 454
 Sal, 422
 Salmonelosis, 556
 alimentos implicados, 562
 enfermedad, 563
 incidencia, 562
 microorganismo, 559
 prevención de los brotes, 564
 síndromes salmonelósicos, 557, 558
 síntomas, 563
Salmonella, 63, 559
 fuentes, 560
 Salsa de soja, 497
 Salsa de tamari, 499
 Salsas para ensaladas, 419
 Salud de los empleados, 646
 Saneamiento, control, e inspección de ali-
 mentos, 627
 microbiología del saneamiento, 629
 Saneamiento de alimentos, 629
 Sangría, 168
 Sauerkraut, 473
 defectos y alteración, 477
 procedimiento general de producción, 473
 Savia de mepile, 254
 alteración, 254
Sclerotinia, 40
Schizosaccaromyces, 47
Scopulariopsis, 38
 Semisólidos del suero de leche, 382
Serratia, 63
 Servicio Nacional de Pesca Marítima
 (NMFS), 652
 Shigelosis, 571
Shigella, 63, 571
 Sidra fermentada, 462
 Skyr, 489, 490
 Sociedades de profesionales, 653
 Sonti, 454
 Sorbatos, 197
Sporolactobacillus, 63
Sporosarcina, 64
Sporotrichum, 37
Staphylococcus, 64
Staphylococcus aureus, 547
Stemphylium, 39
Streptococcus, 64
Streptococcus faecalis, 577
Streptococcus pyogenes, 577
Streptomyces, 66
 Suero de mantequilla búlgaro, 490
 Suero de mantequilla semisólido, 382
 Sulfitos, 199
 Sustancias accesorias de los alimentos, 17
 Sustancias inhibidoras, 18
- Taette, 489, 490
 Tapioca, 243
 Té, 495
 Tempeh, 499
 Temperaturas bajas, conservación de ali-
 mentos, 159
 multiplicación de los microorganismos,
 161
 Temperaturas de congelación e inferiores,
 efectos sobre los microorganismos,
 170
 Tentempiés a base de cereales, 243
 Termófilos anaerobios (TA), alteración de
 alimentos enlatados, 406
 Termorresistencia, determinación, 129
 de las bacterias y sus esporas, 127
 de las levaduras y sus esporas, 126
 de los enzimas, 128
 de los mohos y sus esporas, 126
 factores que influyen en la, 119, 125
Thamnidium, 31
 Tiempo de muerte térmica (TDT), 119, 125,
 129
 gráficas, 132
 Tofu, 500
 Tortas de levaduras, 512
 Tortas y productos de panadería, 243
Torulopsis, 48
 Tou-fu-ju, 500
 Tourne del vino, 461
 Tóxicos de los alimentos marinos, 603
 Tratamientos térmicos, métodos de cálculo,
 142
 concepto 12 D, 136
 empleados en la conservación de alimen-
 tos, 145
 método de la fórmula matemática, 144
 método del nomograma, 144
 método gráfico, 144

- Trichinella spiralis*, 597
Trichoderma, 38
Trichosporon, 49
Trichothecium, 35
Triquinosis, 597
- Vacación, 378
Vibrio, 66
Vibrio cholerae, 567
Vibrio parahaemolyticus, 567
Vibrio vulnificus, 570
Viabilidad, prueba de, 131
Vinagre, 463
 acabado, 471
 clases de, 464
 defectos y enfermedades, 472
 definición, 464
 fermentación, 464
 generador de Frings, 469
 granos, 471
 procedimientos de fabricación, 465
 sistema Mackin de fabricación, 469
Vino de uva, 455
 almacenamiento, 456
 envejecimiento, 456
 fermentación, 456
 preparación del zumo, 455
Vinos, 455
 carbonatados, 458
 de mesa, 458
 de postre, 458
 defectos y alteraciones por microorganismos, 458
 dulces, 458
 espumosos, 458
 no espumosos, 457
 reforzados, 458
Virus, 592
 significación en los alimentos, 597
Virus diversos, 462
Virus ECHO, 596
Virus implicados en brotes de enfermedades alimentarias, 595
Virus Norwalk, 596
Viscosidad de la leche, 389
Vitaminas, 17
- Whiskys, 463
- Xantano, producción de, 519
Yersinia enterocolitica, 572
Yersinia pseudotuberculosis, 573
- Zygorrhyncus*, 31
Zygosaccharomyces, 48

00310

Otras obras de Editorial ACRIBIA, S. A., sobre CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

- ADRIAN, J., y FRANGNE, R. — **La ciencia de los alimentos de la A a la Z**
- AMIOT, J., y otros. — **Ciencia y tecnología de la leche**
- ARTHEY, D. — **Procesado de hortalizas**
- BARTELS, H. — **Inspección veterinaria de la carne**
- BARTHOLOMAI, A. — **Fábricas de alimentos: Procesos, equipamiento y costos**
- BELITZ, H. D., y GROSCH, W. — **Química de los alimentos**
- BENDER, A. E. — **Nutrición y alimentos dietéticos**
- BENDER, A. E. — **Diccionario de nutrición y tecnología de los alimentos**
- BOARD, R. G. — **Introducción a la microbiología moderna de los alimentos**
- BOURGEOIS, C. M. — **Microbiología alimentaria:**
Vol. 1: **Aspectos microbiológicos de la seguridad y
calidad alimentaria**
Vol. 2: **Fermentaciones alimentarias**
- BREMNER, A. S. — **Higiene e inspección de la carne de aves**
- BRENNAN, J. G., y otros. — **Las operaciones de la ingeniería de los
alimentos (2ª ed.)**
- BUREAU, O. — **Embalaje de los alimentos de gran consumo**
- BUSS, D., y otros. — **Manual de nutrición**
- CAVAZZANI, N. — **Fabricación de vinos espumosos**
- CONNELL, J. J. — **Control de la calidad del pescado**
- COULTATE, T. P. — **Alimentos: química de sus componentes**
- COX, P. M. — **Ultracongelación de los alimentos**
- CHEFTEL, J. C. y H., y BESANCON, P. — **Introducción a la bioquímica y a la
tecnología de los alimentos (2 vols.)**
- CHEFTEL, J. C., y otros. — **Proteínas alimentarias**
- DEMETER, K. J. — **Elementos de microbiología lactológica**
- DILANJAN, S. Ch. — **Fundamentos de la elaboración del queso**

- DONATH, E. — **Elaboración artesanal de frutas y hortalizas**
- EARLE, R. L. — **Ingeniería de los alimentos (Las operaciones básicas del procesamiento de los alimentos) (2.^a ed.)**
- FELLOWS, P. — **Tecnología del procesamiento de los alimentos: Principios y prácticas**
- FENNEMA, O. R. — **Química de los alimentos**
- FIELDS, M. — **Métodos para el estudio de bacterias termófilas esporuladas**
- FORREST, S. C. — **Fundamentos de ciencia de la carne**
- FREY, W. — **Fabricación fiable de embutidos**
- GEORGE, H. — **Elaboración artesanal de licores**
- GIBNEY, M. J. — **Nutrición, dieta y salud**
- GROSSKLAUS, D. — **Inspección sanitaria de la carne de ave**
- GRUDA, Z., y POSTOLSKI, J. — **Tecnología de la congelación de alimentos**
- HART, F. L., y FISHER, H. J. — **Análisis modernos de los alimentos**
- HAWTHORN, J. — **Fundamentos de ciencia de los alimentos**
- HAYES, G. D. — **Manual de datos para ingeniería de los alimentos**
- HAYES, P. R. — **Microbiología e higiene de los alimentos**
- HEISS, R. — **Principios del envasado de alimentos**
- HERSOM, A. C., y HULLAND, E. D. — **Conservas alimenticias (3.^a ed.)**
- HOBBS, B. — **Higiene y toxicología de los alimentos (2.^a ed.)**
- HOLDSWORTH, S. D. — **Conservación de frutas y hortalizas**
- HOSENEY, R. C. — **Principios de ciencia y tecnología de los cereales**
- HOUGH, J. S. — **Biotecnología de la cerveza y la malta**
- ICMSF. — **Ecología microbiana de los alimentos (2 vols.)**
- ICMSF. — **Microorganismos de los alimentos (2 vols.)**
- ICMSF. — **El sistema de análisis de riesgos y puntos críticos**
- I.I.F. — **Alimentos congelados: procesado y distribución**
- JAGNOW, G., y DAVID, W. — **Biotecnología. Introducción con experimentos modelo**
- JAY, J. M. — **Microbiología moderna de los alimentos (3.^a ed.)**

- KAY, DAISY E. — **Legumbres alimenticias**
- KENT, N. L. — **Tecnología de los cereales** (2ª ed.)
- KUNZ, B. — **Cultivos de microorganismos para la producción de alimentos**
- LAWRIE, R. A. — **Ciencia de la carne** (2ª ed.)
- LEES, R. — **Análisis de alimentos** (2ª ed.)
- LERCHE, M. — **Inspección veterinaria de la leche**
- LEWIS, M. J. — **Propiedades físicas de los alimentos y de sus sistemas de procesado**
- LEWIS, M. J. — **Estárteres para quesos. Desarrollo y aplicación del sistema de Lewis**
- LÜCK, E. — **Conservación química de alimentos**
- LUQUET, F. M., y otros. — **Leche y productos lácteos:**
Volumen I: **Leche. De la mama a la lechería.**
Volumen II: **Productos lácteos. Transformación y tecnologías**
- MAFART, P. — **Ingeniería industrial alimentaria** (2 vols.)
- MANLEY, J. R. D. — **Tecnología de la industria galletera**
- MAIER, H. G. — **Métodos modernos del análisis de alimentos** (3 vols.)
- MÖHLER, K. — **El ahumado.** (11)
- MÖHLER, K. — **El curado.** (7)
- MOSEL, A. A., y MORENO, B. — **Microbiología de los alimentos**
- MÜLLER, G., y otros. — **Microbiología de los alimentos vegetales**
- MÜLLER, H. G. — **Nutrición y ciencia de los alimentos**
- MULLER, H. P. — **Introducción a la reología de los alimentos**
- MULTON, J. L. — **Aditivos y auxiliares de fabricación en las industrias agroalimentarias**
- NICKERSON, J. T. — **Microbiología de los alimentos y de sus procesos de elaboración**
- NOSKOWA, G. L. — **Microbiología de las carnes conservadas por el frío**
- OCKERMAN, H. W. — **Subproductos del procesado de los alimentos**
- OSBORNE, D. R. — **Análisis de nutrientes de los alimentos**

OTT, B. D. — **Manual de laboratorio de ciencia de los alimentos**

PEARSON, D. — **Técnicas de laboratorio del análisis de alimentos**

PORTER, J. W. G. — **Leche y productos lácteos**

POSKITT, E. M. E. — **Nutrición pediátrica práctica**

PRÄNDL, V. O., y otros. — **Tecnología e higiene de la carne**

PRICE, J. F., y SCHWEIGERT, B. S. — **Ciencia de la carne y de los productos cárnicos (2ª ed.)**

QUAGLIA, G. — **Ciencia y tecnología de la panificación**

RANKEN, M. D. — **Manual de industrias de los alimentos**

RAUCH, G. H. — **Fabricación de mermeladas**

REES, T. A. G. — **Procesado térmico y envasado de los alimentos**

REICHERT, J. E. — **Tratamiento térmico de los productos cárnicos**

REHBRONN, E., y RUTKOWSKI, F. — **Ahumado del pescado**

RHEINHEIMER, G. — **Microbiología de las aguas**

ROBERTS, H. R. — **Sanidad alimentaria**

ROBINSON, D. S. — **Bioquímica y valor nutritivo de los alimentos**

ROBINSON, R. K. — **Microbiología lactológica (2 vols.)**

SALFIELD, J. R. — **Prácticas de ciencia de los alimentos**

SCOTT, R. — **Fabricación de queso**

SCHIFFNER, E. — **Cultivos bacterianos en las industrias cárnicas**

SCHMIDT, K. F. — **Elaboración artesanal de mantequilla, yogur y queso**

SINELL, H. J. — **Introducción a la higiene de los alimentos**

SMITH, G. — **Introducción a la micología industrial**

SOKOLOW/TEPLY/MEYER. — **Fabricación de productos lácteos**

SOUTHGATE, D. — **Conservación de frutas y hortalizas (3ª ed.)**

SPREER, E. — **Cálculos para las industrias lácteas**

SPREER, E. — **Lactología industrial (2ª ed.)**

SUZUKI, T. — **Tecnología de las proteínas de pescado y krill**

TAMIME, A. Y., y ROBINSON, R. K. — **Yogur. Ciencia y tecnología**