

Tema 1

Fundamentos de microbiología

- ▶ **Historia de la microbiología de los alimentos**
- ▶ **Microorganismos importantes en la microbiología de los alimentos**
- ▶ **Fuentes de contaminación de los alimentos**

OBJETIVOS:

- Conocer la historia de la microbiología y todos los avances científicos que han tenido lugar
- Aprender lo que son los microorganismos, su nomenclatura, clasificación y metabolismo
- Bacterias: características, estructuras, clasificación e identificación
- Mohos: características, estructuras, clasificación e identificación
- Levaduras: características, estructuras, clasificación e identificación
- Estudiar las principales fuentes de contaminación de los alimentos
- Estudiar los factores intrínsecos y extrínsecos que influyen en la contaminación microbiana
- Aprender sobre influencias implícitas en las asociaciones alterantes primarias

INTRODUCCIÓN

La microbiología se define como el estudio de los microorganismos, que existen como células asiladas o asociadas, incluyendo a los virus, que son microscópicos pero no celulares.

Esta es la definición actual que empleamos cuando hablamos de microbiología, pero tuvieron que pasar muchos años y diferentes avances científicos para llegar a ella.

1. HISTORIA DE LA MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

Podemos decir que la microbiología es una ciencia moderna ya que no se desarrolló hasta el siglo XIX y

desde entonces ha crecido hasta originar diferentes campos relacionados entre sí la microbiología clínica, la industrial, la de alimentos, la biotecnología... Este avance ha permitido que la sociedad se beneficie de la existencia estos microorganismos para la elaboración de pan, cerveza, queso, antibióticos, vacunas, vitaminas, enzimas...

Durante muchos años se sospechó de la existencia de criaturas muy pequeñas, que no podían ser percibidas por el ojo humano. Tanto el filósofo Tomano Lucrecio (*circa* 98-55 a. C.) y el médico Girolamo Fracastoro (1478-1553) defendían que las enfermedades estaban causadas por criaturas vivas invisibles.

Pero no fue hasta la invención del microscopio cuando se pudo demostrar su existencia. En 1664 Robert Hooke empleando un microscopio compuesto fue capaz de observar los cuerpos fructíferos de mohos.



Microscopio empleado por Robert Hooke.

En 1684, Antony van Leeuwenhoek, fue la primera persona que observó y describió a los microorganismos, empleando microscopios simples con lentes de vidrio biconvexas, fabricadas por él.

Eran microscopios muy primitivos pero que mediante un buen enfoque podían aumentar de 50 a 300 veces el tamaño para ser capaz de ver microorganismos tan pequeños como los procariotas en muestras biológicas, sarro, vinagre, agua...

Leeuwenhoek escribió cartas a la *Royal Society* de Londres describiendo sus descubrimientos a los que denominó pequeños *animálculos* y gracias a esto, sabemos que fue capaz de ver tanto bacterias como protozoos.

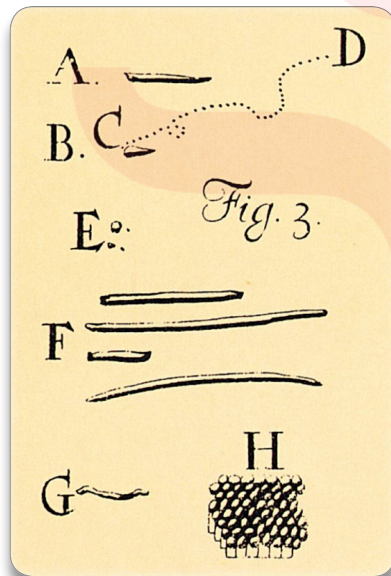


Microscopios de Antony van Leeuwenhoek



Retrato de Antony van Leeuwenhoek

Esto ha generado que a Antony van Leeuwenhoek se le considere el padre de la microbiología.



Dibujos de bacterias realizados por Antony van Leeuwenhoek

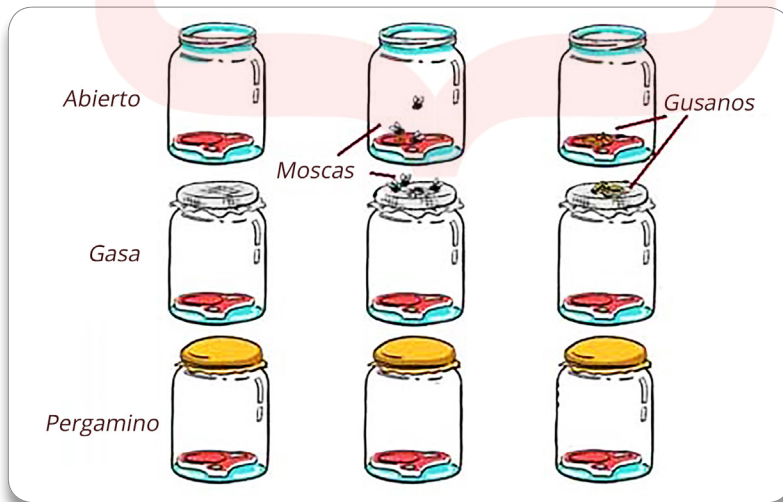


A pesar de los aportes de Leeuwenhoek, la microbiología no se desarrolló como ciencia hasta que las mejoras en microscopía permitieron una mejor observación de las bacterias y hasta que se desarrollaron métodos de laboratorio para mejorar la observación.

En el siglo XIX se desarrolló, una teoría, fundamentada en una idea que desde tiempos primitivos había inquietado a la gente. Era la teoría de la generación espontánea que defendía que los organismos vivos podían originarse a partir de materia no viva. Incluso Aristóteles pensaba que los invertebrados más sencillos podían originarse por generación espontánea.

Esta teoría fue desafiada por Francesco Redi, quién, en 1665, llevo a cabo una serie de experimentos con carne putrefacta sobre la que se producían espontáneamente gusanos.

Sus experimentos consistieron en colocar la carne en tres recipientes distintos, uno descubierto, otro cubierto con papel y un tercero cubierto con una gasa fina para evitar que pasaran las moscas. Solo la pieza de carne que estaba descubierta desarrollaba gusanos, ya que las moscas depositaban sus huevos en ella. Con esto demostró que la generación de gusanos no se producía de forma espontánea, sino por el depósito de los huevos de las moscas.

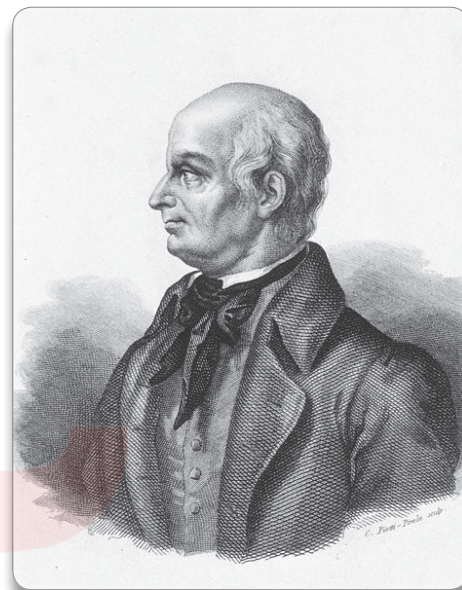


Experimentos de Francesco Redi.

Los descubrimientos de Leeuwenhoek hicieron que volvieran a aparecer dudas sobre la teoría de la generación espontánea. En 1748, el sacerdote inglés John Needham publicó sus experimentos acerca de esta teoría. Hirvió caldo de cordero en unos matraces y los cerró fuertemente. Observó que, tras un periodo de incubación, muchos matraces estaban turbios porque habían crecido microorganismos. Pensó que la materia orgánica poseía una fuerza vital que podía conferir propiedades vitales a la materia muerta.

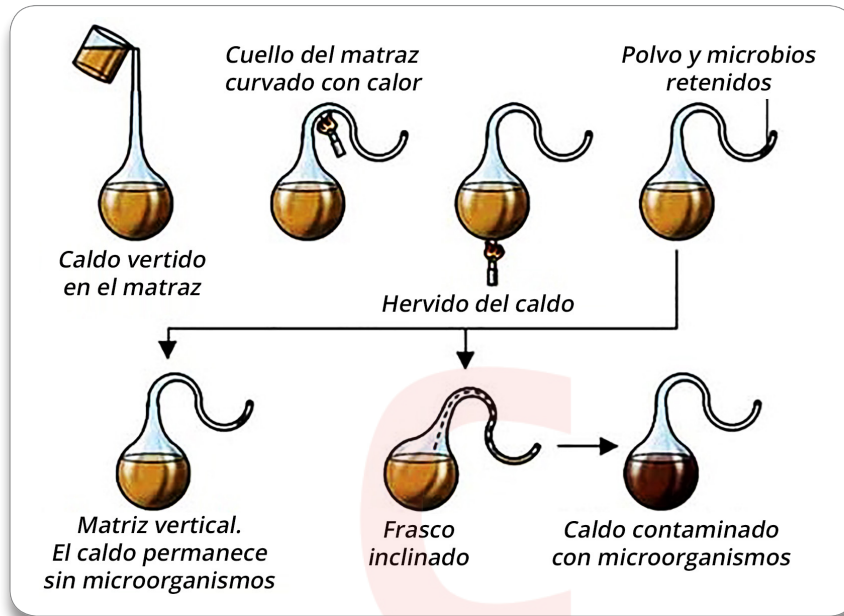
Años más tarde, otro sacerdote, Lazzaro Spallanzani, naturalista, mejoró el experimento de Needham cerrando primero herméticamente matraces de vidrio que contenían agua y semillas e introduciendo posteriormente agua hirviendo. Observó que no se producía crecimiento microbiano, siempre que estuviesen cerrados herméticamente. Propuso dos teorías, que el aire exterior transportaba a los microorganismos o que los microorganismos presentes en el cultivo necesitaban del aire exterior para vivir y con esto rechaza la teoría de la generación espontánea. Sin embargo, los defensores de esta teoría rechazaban estos resultados indicando que el calentamiento destruía a los microorganismos.

Después de que varios investigadores intentaran refutar estos argumentos, fue el francés Louis Pasteur quien puso fin a la teoría de la generación espontánea en 1861. Pasteur demostró que en el aire había estructuras similares a las de los microorganismos que aparecían en los alimentos putrefactos. Para ello calentaba el cuello de un matraz, lo estiraba y contorneaba. Añadía el caldo o solución nutritiva y lo calentaba hasta llevarlo a ebullición. Al calentar este caldo conseguía una esterilización, es decir, mataba a todos los microorganismos presentes. Si los microorganismos del aire entraban, se quedaban atrapados en el cuello del matraz. Bastaba con que el matraz se in-



Lazzaro Spallanzani

clinara lo suficiente como para permitir que el caldo entrara en contacto con el cuello del matraz para que se produjera la putrefacción del líquido.



Experimento de Louis Pasteur

Esta técnica de esterilización se ha mejorado mucho, pero se usa actualmente para tratar a los alimentos. La microbiología de los alimentos está en deuda con Pasteur, ya que sus principios son los que se emplean en el envasado y conservación de los alimentos.

Además de esta demostración, también estudió las alteraciones que se producían en las fermentaciones industriales. Consiguió demostrar que todas las fermentaciones se deben a la presencia de microorganismos.

Esto ocurrió debido a que un grupo de comerciantes franceses le solicitó a Pasteur que investigara la razón de la acidez del vino y de la cerveza para poder desarrollar un método que evitara el deterioro de estas bebidas cuando se transportaban a largas distancias. Pasteur descubrió que los microorganismos conocidos como levaduras convertían los azúcares en alcohol en ausencia de aire. A este proceso lo denominó fermentación. La acidez y el deterioro eran causados por bacterias. En presencia de aire las bacterias modifican el alcohol de las bebidas y lo convierten en vinagre (ácido acético). La solución que propuso Pasteur para evitar este problema fue someter a la cerveza y al vino a calor durante un tiempo suficiente que permita destruir las bacterias presentes. Es el proceso denominado pasteurización.

En 1887 el físico inglés John Tyndall demostró que el polvo transportaba microorganismos, y que si este polvo no caía en los alimentos, estos se mantenían estériles.

Se desarrolló el método denominado tindalización basado en la aplicación de calor para la destrucción de esporas que al germinar serán destruidas con el siguiente tratamiento de calor.

Otros avances que permitieron el desarrollo de la microbiología de alimentos son:

- Nicholas Appert (1805): confitero que desarrolló un método de conservación de alimentos empleando un frasco de vidrio de boca ancha cerrado con tapón de corcho y que calentaba al baño maría.
- P. Durand (1819): empleaba latas de hojalata para alimentos procesados por calor.
- H. Benjamin (1842): empleó una mezcla de hielo y salmuera para congelar alimentos más rápido.
- Mechnikov (1845-1916): aisló *Lactobacillus bulgaricus*, responsable de la formación del yogur.
- R. Chevalier-Appert (1853): consiguió la esterilización de alimentos usando vapor de agua a presión en un autoclave.
- Theodore Schwann (S. XIX): relacionó las levaduras con la fermentación alcohólica.
- Van Hessling (S. XIX): relacionó los microorganismos con las fermentaciones del queso.
- I. Solomon (1860): era un conservero que mejoró la técnica de N. Appert añadiendo cloruro cálcico para subir la temperatura de ebullición del agua.
- E. Piper (1861) y Clarence Birdseye (1915): consiguieron una congelación más rápida de los alimentos.
- E. Klein (1885): descubrió la toxiinfección alimentaria por *Clostridium perfringens*.
- A. Gartner (1888): aisló en muestras de carne *Salmonella enteritis*.
- Van Ermengen (1890): descubre *C. botulinum*.
- N. A. Barber (1914): descubrió que la presencia de estafilococos en la leche provocaba el vómito.
- F. Ludwig y H. Hopf (1925): empleaban radiaciones ionizantes para conservar los alimentos.
- G. M. Dack *et al.* (1930): descubrió la presencia de una exotoxina en pasteles de navidad rellenos de crema.
- J. Schleifstein y M. B. Coleman (1939): descubrieron que la gastroenteritis estaba causada por bacterias (*Yersinia enterocolitica* en 1965).

- B. Nileln (1969): detectó un brote de transmisión alimentaria por *Clostridium perfringens*.
- En 1971 se hace público el APPCC: Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos.

Con esos avances queda definida la microbiología de los alimentos como una rama de la microbiología que garantiza la calidad sanitaria de los alimentos. Se encarga de estudiar los microorganismos presentes en el agua y los alimentos que afectan a su calidad y pueden causar enfermedades en los consumidores.

2. MICROORGANISMOS IMPORTANTES EN LA MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

1.1 Microorganismos

Los microorganismos son seres vivos diminutos, microscópicos, que no pueden observarse a simple vista de manera individual. Este grupo incluye a las bacterias, hongos (levaduras y mohos), los protozoos y las algas microscópicas. Los virus, a pesar de que son organismos no celulares, también están incluidos.

Cuando hablamos de microorganismos que pueden contaminar el alimento, las bacterias van a ser la principal causa de contaminación ya que se encuentran en cualquier lugar: personas, animales, agua, aire, suelo..., pero el resto también van a estar implicados.

No todos los microorganismos van a causar enfermedades infecciosas en el consumidor, solo algunos son patógenos y muchos de ellos solo alteran la calidad del alimento como cuando se corta la leche o la fruta podrida. Son los denominados deteriorantes, que nos avisan de que el alimento no está en buenas condiciones. Pero la mayoría son microorganismos perjudiciales que contaminan y alteran el alimento pudiendo causar enfermedades. Son los denominados microorganismos patógenos.

Además, en la industria alimentaria se emplean muchos microorganismos para la producción de productos como el vinagre, el chucrut, bebidas alcohólicas, aceitunas verdes, queso, yogurt, pan, etc.

A. Tipos y clasificación de microorganismos

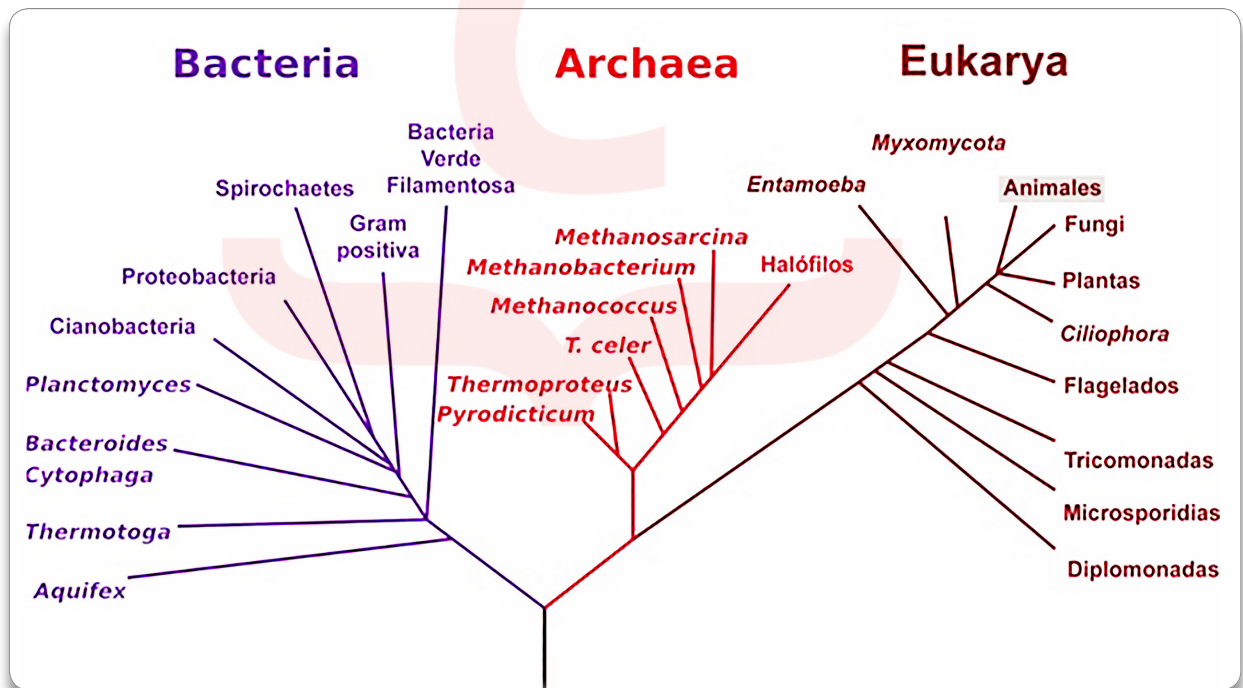
a. En función de su complejidad, se dividen en dos categorías:

- Microorganismos celulares: tienen una estructura más o menos compartimentada por lo que se definen como células.

- Microorganismos acelulares: presentan estructuras que no son típicas como es el caso de los virus.

b. Para clasificar a estos microorganismos nos basamos en su organización celular, lo que hace que se agrupen en tres dominios:

- Bacterias: las paredes celulares presentan peptidoglicano.
- Archaea: las paredes celulares carecen de peptidoglicano.
- Eukarya: incluye a:
 - Protistas: mohos mucosos, protozoos y algas.
 - Hongos: levaduras unicelulares, mohos multicelulares y setas.
 - Vegetales: musgos, helechos, coníferas y plantas con floración.
 - Animales: esponjas, parásitos, insectos y vertebrados.



Árbol filogenético con los 3 dominios de la naturaleza.



La temperatura mínima de crecimiento es la temperatura más baja a la que pueden crecer los microorganismos.

La temperatura óptima de crecimiento es aquella en la que los microorganismos crecen mejor.

La temperatura máxima de crecimiento es la temperatura más elevada a la que es posible el crecimiento.

c. Los microorganismos se clasifican en tres grupos en función de la temperatura a la que son capaces de crecer

- Mesófilo: microorganismos que crecen a temperaturas moderadas entre 25 y 30°.
- Psicrófilo: microorganismos que crecen a temperaturas bajas, frías y refrigeración.
- Termófilo: microorganismos capaces de sobrevivir a elevadas temperaturas.

1.2 Nomenclatura de los microorganismos

Los microorganismos y todos los seres vivos se clasifican por sus semejanzas y sus diferencias en grupos taxonómicos. Los microorganismos que tienen un genoma similar se agrupan en especies. Un conjunto de especies semejantes forman el género y varios géneros componen una familia. A cada grupo se le asigna un nombre científico.

Actualmente, el sistema de nomenclatura que se emplea para nombrar a los microorganismos fue el que estableció el naturalista, botánico y zoólogo sueco Carolus Linnaeus (Carl von Linné) en 1735 : la nomenclatura binomial.

En esa época, el latín era el idioma que utilizaban los estudiosos, por eso todos los nombres científicos están en latín. La nomenclatura científica se compone de dos nombres que se asignan a cada microorganismo; el primero hace referencia al género y siempre se escribe con mayúscula,

y el segundo es el epíteto específico que corresponde al nombre de la especie y se escribe en minúscula.

Siempre se tienen que usar los dos nombres para describir a un microorganismo y se indicarán en cursiva o con subrayado. El subrayado se usa para la escritura a mano y la cursiva para cuando empleamos ordenador.

Generalmente, después de haber escrito el nombre científico completo una vez, se puede abreviar empleando solo la inicial del género seguido del epíteto específico. Veamos un ejemplo:

La bacteria *Escherichia coli* pertenece al género *Escherichia* expresado en mayúscula, y su epíteto específico es *coli*, en minúscula, y todo ello en cursiva. Puede abreviarse como *E. coli*.

El nombre científico de un microorganismo muchas veces nos puede aportar más información, por ejemplo: *Staphylococcus aureus*, es una bacteria que se encuentra presente en la piel humana. *Staphylococcus* hace referencia al género, *Staphylo-* indica que las células se encuentran en racimos y *-coccus* que esas células tienen forma de esfera. El término *aureus* corresponde al epíteto específico y en latín significa “dorado”, que es el color que tienen muchas colonias de esta bacteria.

En el caso anterior de *Escherichia coli*, *Escherichia* hace referencia al científico que la nombró, Theodor Escherich, y *coli* a su localización, que es el colon o intestino grueso.

Algunas especies se pueden denominar con nombres coloquiales que están aceptados, como sería el caso de *Neisseria meningitidis*, comúnmente conocido como meningococo.

Estos criterios de nomenclatura se emplean tanto para bacterias como para el resto de seres vivos, excepto para los virus donde se emplea otro sistema.

TOMA NOTA

La taxonomía es la parte de la biología que se ocupa de la clasificación de los individuos en grupos. Está relacionada con tres áreas:

- Clasificación: es la disposición de los organismos en grupos taxonómicos o taxones considerando sus relaciones, similitudes o parentesco evolutivo.
- Nomenclatura: es la denominación de grupos taxonómicos de acuerdo a un conjunto de reglas internacionales.
- Identificación: es un proceso cuyo objetivo es determinar si un nuevo aislamiento pertenece a uno de los taxones ya establecidos o no.

La sistemática es el estudio de la diversidad y de las relaciones entre los organismos.

“Especie” se define como la unidad básica de diversidad en la naturaleza. Las especies bacterianas se caracterizan por:

- Presentan tiempos de reproducción muy rápidos.
- Tienen tiempos de generación muy cortos, es decir, se obtienen muchas generaciones en poco tiempo.
- Es un grupo muy antiguo.
- Es frecuente que se den casos de mutaciones y transferencia genética.