

ESPACIO CURRICULAR: MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

PROFESORA: SANDRA RIVEROS

CURSO: 5TO AÑO 3° Y 4° DIVISION CICLO ORIENTADO TURNO: TARDE

FECHA: 11 de MAYO

TEMA: **Clasificación según factores de crecimiento : Temperatura**

## **1-INTRODUCCION: EFECTO DE LOS FACTORES AMBIENTALES SOBRE LOS PROCARIOTAS**

Hasta ahora hemos venido considerando el crecimiento de las bacterias en función de su fondo genético, en relación con los nutrientes, y en unas hipotéticas condiciones ideales (óptimas). Sin embargo, el trabajo experimental con microorganismos ha de tener en cuenta los **factores ambientales**, es decir, una serie de agentes físicos y químicos que

Los principales tipos de factores a considerar se pueden desglosar de la siguiente manera:

## **2 EFECTO DE LA TEMPERATURA**

### **2.1 EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE EL CRECIMIENTO**

La temperatura es uno de los parámetros ambientales más importantes que condicionan el crecimiento y la supervivencia de los microorganismos.

La temperatura afecta a la velocidad de crecimiento (y, por lo tanto al tiempo de generación, **g**). Cada bacteria (y suponiendo que el resto de condiciones ambientales se mantienen constantes) muestra una **curva característica** de tasa de crecimiento en función de la temperatura, donde podemos distinguir tres puntos característicos llamados **temperaturas cardinales**:

El margen entre la temperatura mínima y la máxima se suele llamar margen de crecimiento, y en muchas bacterias suele comprender unos 40 grados.

La **temperatura mínima** se puede explicar en función de un descenso de la fluidez de la membrana, de modo que se **detienen los procesos de transporte** de nutrientes y **el gradiente de protones**.

Por encima de la temperatura mínima la tasa de crecimiento va aumentando proporcionalmente hasta alcanzar la **temperatura óptima**, debido a que las reacciones metabólicas catalizadas por enzimas se van aproximando a su óptimo. En dicha temperatura óptima las enzimas y reacciones se dan a su máxima tasa posible.

A partir de la temperatura óptima, si seguimos subiendo la temperatura se produce un descenso acusado de la tasa de crecimiento hasta alcanzar la **temperatura máxima**. Dicha temperatura refleja **desnaturalización e inactivación de proteínas** enzimáticas esenciales, **colapsamiento de la membrana** citoplásmica y a veces lisis térmica de la bacteria.

Obsérvese en el gráfico que la temperatura óptima está más cerca de la máxima que de la mínima.

## 2.2 CLASES DE MICROORGANISMOS SEGÚN LA TEMPERATURA: ADAPTACIONES EVOLUTIVAS

Cada especie o cepa bacteriana tiene temperaturas cardinales distintas, de modo que una bacteria puede presentar una temperatura óptima superior a la temperatura máxima de otra, o inferior a la temperatura mínima de una tercera. Según el rango de temperaturas al que pueden crecer las distintas bacterias, se pueden establecer tres tipos principales:

### 2.2.1 MICROORGANISMOS PSICRÓFILOS

Las **psicrófilas o criófilas**: crecen a partir de entre -5 a 5°C.

- a) Las llamadas psicrófilas obligadas tienen temperatura óptima a 15-18°C, como por ejemplo *Flavobacterium*. La bacteria *Polaromonas vacuolata*, recientemente aislada en aguas heladas de la Antártida es lo que pudiéramos llamar un psicrófilo extremo: tiene su óptimo de crecimiento en 4°C, y es incapaz de crecer a 14°C (¡se muere de calor!).
- b) Las psicrófilas facultativas o psicrotolerantes (también llamadas psicrotrofas) presentan temperatura óptima en torno a los 20-30°C y máximas a los 35°C. Las bacterias y hongos psicrotrofos son los responsables de que los alimentos guardados en nevera se estropeen al cabo del tiempo.

Ejemplos de medios **permanentemente fríos** son la mayor parte de las aguas oceánicas (cuya temperatura media es de unos 5°C, pero que en las profundidades alcanzan sólo 1-2°C por encima de cero) y las áreas permanentemente heladas del Ártico y de la Antártida. En los medios helados existen pequeñas bolsas o microcavidades de agua líquida, donde pueden medrar algunos microorganismos. Un ejemplo no bacteriano muy característico es el alga de las nieves (*Chlamydomonas nivalis*), que llega a conferir color rojo a la nieve en algunas zonas de montaña a mitad de la estación estival.

Las principales **adaptaciones bioquímicas a medios fríos** exhibidas por estos microorganismos psicrófilos son:

Los psicrotrofos (psicrófilos facultativos) son más abundantes, ya que están adaptados a soportar grandes oscilaciones térmicas, y en verano pueden crecer a unos 30°C-40°C. Algunas bacterias y hongos pueden crecer en alimentos (carne, leche, frutas y hortalizas) que se guardan en frigoríficos, alterando las cualidades organolépticas e incluso, echándolos a perder (una experiencia que casi todos hemos tenido).

### 2.2.2 MICROORGANISMOS MESÓFILOS

Los **mesófilos** presentan temperaturas óptimas a los 25-40°C y máximas entre 35 y 47°C. La mayor parte de las eubacterias (incluyendo las patógenas) pertenecen a esta categoría. La mayor parte de los microorganismos que viven en ambientes templados y tropicales, incluyendo los simbioses y parásitos, pertenecen a esta categoría.

### 2.2.3 MICROORGANISMOS TERMÓFILOS

Las únicas formas de vida capaces de vivir por encima de 65°C son todas procariotas. Los **termófilos** presentan óptimos a 50-75°C y máximos entre 80 y 113°C. Dentro de esta categoría se suele distinguir las termófilas extremas (=hipertermófilas), que pueden llegar a presentar óptimos cercanos a los 100°C, y que taxonómicamente pertenecen al dominio de las *Archaea*.

Los hábitats naturales con **temperaturas permanentemente altas** (por encima de 45-50°C) están restringidos a unas pocas zonas de la biosfera, normalmente relacionadas con fenómenos volcánicos:

Como ejemplo “clásico”, muy conocido por documentales de divulgación, recordemos que en el famoso Parque Nacional de Yellowstone, en EE UU, existe la mayor concentración mundial de fuentes volcánicas, con géiseres que emiten a más de 100°C, siendo esta temperatura bastante constante, con oscilaciones de +/- 1 ó 2°C. Cuando esta agua sale, lo hace a punto de ebullición. El riachuelo que genera va bajando su temperatura en su recorrido, de modo que se genera un gradiente de temperatura en el que se pueden estudiar fascinantes comunidades microbianas adaptadas a esas diversas temperaturas. Allí fue donde T.D. Brock descubrió la eubacteria termófila *Thermus aquaticus*, de la que se extrae la ADN polimerasa termorresistente (Taq) empleada en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) automatizada. Recientemente se está recurriendo a usar la polimerasa de una arquea hipertermófila, *Pyrococcus furiosus*, que funciona muy bien a 100°C.

Se han aislado bacterias termófilas en medios artificiales, como calentadores de agua domésticos e industriales.

## 2.3 EFECTO LETAL DEL CALOR

Al subir la temperatura por encima de la temperatura máxima de crecimiento, se dejan sentir los efectos sobre la viabilidad: la pérdida de viabilidad significa que las bacterias dejan de ser capaces de crecer y dividirse, aun cuando las transfiramos a un medio idóneo. La muerte por calor es una función exponencial de primer orden:

$$dN/dt = -K_T \cdot N$$

O sea, y como se puede constatar en el gráfico adjunto, la acción del calor supone la muerte de una fracción constante ( $K_T$ ) de la población sobreviviente en cada momento.

La cinética de primer orden sugiere que no existen efectos acumulativos, sino que la muerte se debe a la destrucción o inactivación irreversible de una molécula o estructura esencial (como p. ej. el ADN cromosómico o por creación de un daño irreparable en la membrana).

Estos tres parámetros se emplean frecuentemente en industrias alimentarias, como en las de fabricación de conservas, centrales lecheras, etc.

Antes de seguir adelante, es importante tener claro que, dependiendo de la temperatura y el tiempo a que sometamos un material a tratamiento térmico, lograremos **inactivación parcial** de la población microbiana (es decir, queda una fracción de células viables) o bien **esterilización (=inactivación total)**.

En general, entendemos por **esterilización** todo tratamiento de un material con un agente físico (como el calor, que nos ocupa en este momento) o químico (como veremos en el capítulo 14) que acarrea la eliminación de toda forma de vida en él. Una vez estéril, el material sigue estéril indefinidamente con tal de que esté encerrado en un compartimento estanco, sellado y libre del contacto con microorganismos del ambiente exterior.

Centrándonos de nuevo en el calor, la inactivación parcial o la esterilización se pueden lograr por calor húmedo o por calor seco.

La inactivación (total o parcial) por calor se debe a la desnaturalización de proteínas y a la fusión de lípidos de membrana, debido a que se rompen muchos enlaces débiles, sobre todo los puentes de hidrógeno entre grupos  $-C=O$  y  $H_2-N-$ . Estos enlaces se rompen más fácilmente por calor húmedo (en atmósfera saturada de vapor de agua), debido a que las moléculas de agua pueden desplazar a los puentes de hidrógeno.

### 2.3.1 CALOR HÚMEDO

Por lo tanto, la inactivación por calor húmedo requiere menores temperaturas que la que se realiza en ausencia de agua. Veamos algunos ejemplos de condiciones de inactivación total por calor húmedo:

Veamos los métodos principales de lograr esterilización de materiales por calor húmedo:

**Autoclave** (introducido por Chamberland en 1884): Es un aparato que permite calentar muestras por calor húmedo a temperaturas superiores a las de ebullición del agua (sin que ésta hierva), debido a que el tratamiento se efectúa en un compartimento estanco saturado con vapor de agua y a presiones superiores a la atmosférica. (El funcionamiento del autoclave será oportunamente explicado en clases prácticas). Los parámetros de esterilización suelen ser: temperatura 121°C y 10-15 min. Como se puede deducir, estos parámetros vienen fijados por la resistencia de las esporas de especies saprofitas (ver última línea de la tabla anterior), que son las formas de vida que más aguantan el calor sin perder viabilidad.

(Hay que tener en cuenta que, en la práctica, a veces hay que emplear condiciones diferentes; por ejemplo: si queremos esterilizar grandes volúmenes de líquido, habrá que prolongar el tratamiento, 30 o 40 min, ya que el centro del recipiente donde va el líquido tarda más en alcanzar la temperatura de esterilización. Los medios de cultivo que incluyen glucosa deben esterilizarse a 115°C, ya que a temperaturas superiores la glucosa "carameliza"; por lo tanto, en estas ocasiones, el tiempo también es mayor: 30 min).

La acción rápida del calor húmedo depende en buena parte del alto valor de calor latente del agua (540 cal·g<sup>-1</sup>); ello hace que los objetos más fríos (como las muestras a esterilizar) se calienten rápidamente por condensación de agua en su superficie.

**Tindalización** (nombre en honor de John Tyndall): Es un método de esterilización fraccionada para materiales que se inactivan o estropean a más de 100°C. Consiste en someter el material a varios ciclos (normalmente 3 ó 4) de dos fases sucesivas cada uno:

- a) en la primera fase el material se calienta a una temperatura entre 50 y 100°C, durante 1 ó 2 horas;
- b) en la segunda fase el material se incuba en una estufa, a 30-37°C durante 24 horas.

Durante las fases de tipo a) mueren todas las células vegetativas de la muestra, pero permanecen viables las esporas, que quedan activadas para germinar. Durante las fases de tipo b) se produce la germinación de las esporas activadas en la respectiva fase anterior. En la siguiente fase de tipo a) morirán las células vegetativas procedentes de la germinación en la fase anterior; y así sucesivamente, hasta que al cabo de unos cuantos ciclos no queda ningún microorganismo en la muestra.

Como se puede ver, este método es bastante engorroso y consumidor de tiempo, por lo que en los últimos años ha sido reemplazado por otro método de esterilización, aunque ya no dependiente del calor: se trata de la esterilización por filtración. Consiste de hacer pasar una solución a través de una membrana o filtro de un tipo de material (normalmente nitrato de celulosa) que presenta poros de un tamaño inferior al de cualquier célula bacteriana (diámetro de poro = 0,22 µm).

**ACTIVIDADES:**

- 1- Realice un resumen del texto
- 2- Busque en internet ejemplos de microorganismos que se desarrollan en alimento: microorganismos psicrófilos, mesófilos y termófilos
- 3- Cuales son los microorganismos termoresistentes y cuales los termolábiles.