

# UNA SOLUCIÓN PARA ALICYCLOBACILLUS SPP.

## Filtración de zumos y concentrados con placas de filtración en profundidad

*En la industria actual de los zumos de frutas, el concepto de seguridad está estrechamente relacionado con la calidad de los productos de una empresa.*

*En este caso, la calidad del producto depende en gran medida de la fruta y del método de tratamiento, ya que los microorganismos que entran en el zumo (por ejemplo, a través de las frutas sucias durante la cosecha) procedentes del entorno del proceso o durante el almacenamiento y el transporte pueden estropear el producto. Sin embargo, esta exposición no tiene por qué dar lugar a una infección. Los diversos factores de selección en los zumos de frutas, como los valores de pH y la presión osmótica, tienen un efecto inhibitor del crecimiento en la mayoría de la microflora natural y, por tanto, evitan la proliferación masiva de estos organismos de forma natural. Sin embargo, hay microorganismos cuya proliferación no se puede prevenir, lo que a su vez puede implicar un cambio negativo en el sabor o el deterioro del producto.*

La mayoría de los zumos de frutas tienen un valor de pH ácido de entre 3,0 y 4,0. Dado que la mayoría de las bacterias prefieren hábitats neutros o alcalinos, esto proporciona una protección natural a la mayoría de los zumos. Como complemento a esto y para mejorar la vida útil, los zumos de frutas claras y los concentrados de zumo de fruta suelen someterse a un proceso de pasteurización que debería evitar la proliferación de las

esporas. En este proceso, el zumo de fruta se calienta entre 90 y 95 °C durante un período de 15 a 20 segundos, lo que mata la mayoría de las bacterias y, por tanto, estabiliza el estado microbiológico.

En la mayoría de los casos, el proceso de llenado en caliente se utiliza para continuar la conservación, durante el cual se llenan botellas o cajas de cartón estériles con el zumo recién pasteurizado a una temperatura de aproximadamente

entre 82 y 92 °C. Aquí, la temperatura se mantiene durante unos dos o más minutos antes de que el envase final se selle y se enfríe.

### ***Alicyclobacillus* spp. – un reto particular**

Una excepción son las endosporas de la especie *alicyclobacillus acidoterrestris*, que están registradas en la Unión Internacional de Zumos de Frutas (IFU, International Fruit Juice Union) con el acrónimo TAB (bacterias termoacidófilas). Los representantes de las especies de *alicyclobacillus* spp. son bacterias grandes, inmóviles y creadoras de esporas. A diferencia de la mayoría de las otras bacterias, las TAB son tanto termófilas como acidófilas, es decir, la duración, la temperatura y los períodos de retención de la pasteurización no son suficientes para eliminar las esporas (cuerpo inactivo resistente) de la bacteria. Sin embargo, un enfoque práctico para desactivar las esporas es extender el tratamiento térmico varias veces (entre uno y cinco minutos y medio), pero esto supone dos inconvenientes importantes: En primer lugar, la



calidad del zumo/concentrado se ve afectada cuanto más tiempo se calienta. En segundo lugar, que el tratamiento térmico dure más tiempo no garantiza que tenga éxito, lo que significa que las altas temperaturas pueden estimular la germinación de las esporas en el microorganismo termófilo. En este caso, tiene un efecto de tratamiento de choque térmico sobre las esporas [1].

La alta resistencia a los ácidos de las esporas también contribuye a un recuento constante o creciente de esporas en los zumos contaminados, incluso en caso de almacenamiento prolongado (> 40 días) [2]. Hasta la fecha no se ha demostrado en el laboratorio que el producto tenga un impacto negativo en la vitalidad de las esporas debido a su bajo valor de pH. En productos almacenados sin refrigeración y especialmente a temperaturas ambiente más altas, los gérmenes crecen rápidamente después de la germinación de las esporas [3]. Al hacerlo, un contenido inicial muy pequeño de gérmenes de 1 espora/ml puede ser suficiente para que las células vegetativas germinen y proliferen. Dado que esto se traduce en última instancia en que los productos afectados se estropearán, en la industria de las bebidas se hacen repetidos llamamientos a la tolerancia cero.

Ya que la *alicyclobacillus spp.* no supone un peligro para la salud, que se estropee en este caso se refiere a la formación de sabores desagradables [4]. La contaminación de los zumos y concentrados

de frutas con *alicyclobacillus spp.* es más evidente con los sabores desagradables guaiacol, 2,6-diclorofenol y 2,6-dibrofenol. Estos sabores desagradables se describen como médicos, desinfectantes, antisépticos, fenólicos o ahumados [5].

Sin embargo, no todas las *alicyclobacillus spp.* producen sabores desagradables. En total, se conocen 18 especies diferentes de *alicyclobacillus spp.* Sin embargo, se ha demostrado que la creación de sabores desagradables era más frecuente en la *alicyclobacillus acidoterrestis*, así como con otras especies como la *alicyclobacillus acidophilus* y la *alicyclobacillus herbarius* [5]. La *alicyclobacillus acidoterrestis* es la más significativa en cuanto a la frecuencia y la capacidad de crear sabores desagradables. En caso de contaminación con esta bacteria, los productos del metabolismo mencionados anteriormente hacen que el zumo no se pueda beber, pero no representan un peligro para la salud. El cambio en la calidad es imperceptible, ya que no hay ningún cambio en el color ni en la formación de gas.

### Solución: separación de esporas

La pasteurización y la ultrafiltración tradicionales no son suficientes para detener la producción en el zumo de *alicyclobacillus acidoterrestis*. En la búsqueda de alternativas, la Universidad de Lippe ha llevado a cabo varias pruebas de suspensión de esporas siguiendo

las instrucciones del laboratorio de servicios de Eaton Technologies en Langenlonsheim, Alemania. El objetivo inicial era mostrar la eficacia de las placas de filtración en profundidad y después hacer recomendaciones para la eliminación segura de TAB de los zumos de frutas o de sus concentrados semicristalinos y completos.

Para lograr ambos objetivos, se deben determinar el LRV (valor de reducción del logaritmo) de las tasas de retención de gérmenes de las esporas de TAB en las placas de filtración en profundidad. La verificación del LRV es un proceso engorroso que dura cinco días. En este sistema de prueba, Eaton Technologies define la filtración con una placa de filtración en profundidad y un LRV  $\geq 5$  como esterilización para TAB. Esto significa que con un LRV de 5 y una contaminación germinal inicial de  $\geq 10^5$  cfu (unidades formadoras de colonias) por ml en el líquido sin filtrar no se pueden probar más esporas en el filtrado.

### La prueba: estructura y resultados

En la prueba se realizaron filtraciones de laboratorio con suspensiones de esporas de *alicyclobacillus acidoterrestis*. En este proceso se probaron un total de cinco placas de filtración en profundidad con tres índices de retención diferentes:

- dos placas de filtración en profundidad para filtración estéril

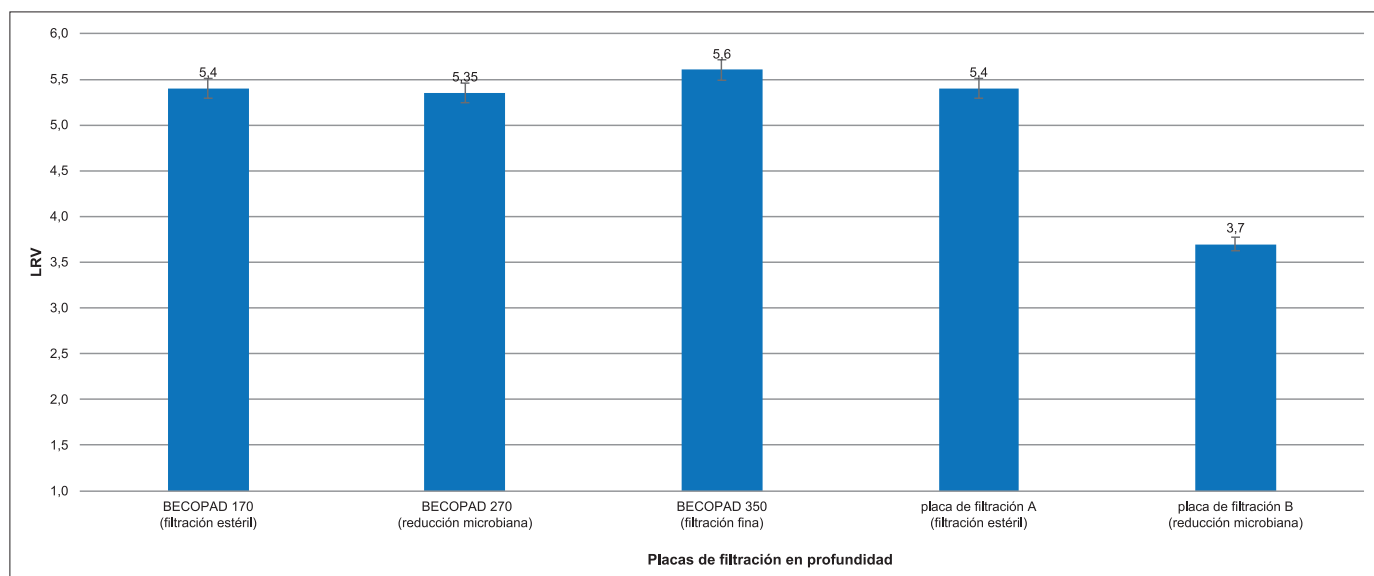


Figura 1: Comparación del LRV de soluciones de esporas de *alicyclobacillus acidoterrestis*

- (Becopad® 170 de Eaton así como una placa de filtración en profundidad A de un competidor),
- dos placas de filtración en profundidad para la reducción microbiana (Becopad 270 y una placa de filtración en profundidad B de un competidor), y
  - una placa de filtración en profundidad Becopad 350 para la filtración fina.

Cabe señalar que la definición de “estéril” en la industria de las bebidas se refiere exclusivamente a la retención de gérmenes nocivos para las bebidas. Las placas de filtración en profundidad A y B se seleccionaron para que fueran lo más parecidas posible a las placas de filtración en profundidad de Becopad para ofrecer una comparación justa. Todas las filtraciones de prueba se llevaron a cabo en una doble determinación. El flujo de filtración correspondió a la norma industrial de 500 l/m<sup>2</sup>·h.

Inicialmente, un tallo silvestre de *alicyclobacillus acidoterrestres* seleccionado del néctar de la fruta se cultivó en un caldo BAT (caldo bacillus acidoterrestres) de acuerdo con el método IFU 12 (2012) para determinar la concentración de esporas. Esta fue de entre 1,1 y 5,6 · 10<sup>5</sup> ufc/ml. Posteriormente, se determinó la tasa de retención de gérmenes de las diferentes placas de filtración en profundidad.

Los resultados de la prueba (Figura 1) fueron de lo más sorprendentes. Las dos placas de filtración en profundidad Becopad 170 y A para la filtración estéril e incluso las más abiertas Becopad 270 (reducción microbiana) y Becopad 350 (filtración fina) mostraron un LRV considerablemente superior a 5. Solo la placa de filtración en profundidad B para la reducción microbiana tuvo peores resultados, con un LRV de 3,7. Estos resultados respaldan las series anteriores de pruebas, durante las cuales las Becopad 270 y 350, más abiertas, ya alcanzaron altos valores de LRV y tasas de retención de gérmenes hasta 100 veces más altas en comparación con las placas de filtración en profundidad con componentes filtrantes activos, como la tierra de diatomeas [6]. Estos resultados son particularmente interesantes para el uso industrial, ya que muestran que las esporas de TAB se pueden eliminar con filtración de placas y permiten sugerir que no es necesariamente esencial

recurrir a placas de filtración en profundidad para la filtración estéril con el fin de lograr una filtración de TAB eficaz. Según la prueba, también se pueden utilizar placas de filtración en profundidad más abiertas, como Becopad 270 y 350, que permiten un mayor caudal.

La considerable diferencia en el rendimiento de reducción microbiana entre la placa de filtración en profundidad B (LRV 3,7) y la Becopad 270 (LRV 5,35) es sorprendente. Indica que la composición de las placas de filtración en profundidad, su procesamiento y su estructura también desempeñan un papel importante en la separación de las esporas de *alicyclobacillus acidoterrestres*.

## Placa por placa contra TAB

Las placas de filtración en profundidad Becopad de Eaton producidas sin adición de componentes minerales, como tierra de diatomeas, se han utilizado con éxito durante más de diez años en la industria de las bebidas, y también para separar TAB, como demuestran las pruebas de laboratorio.

Para que los resultados de laboratorio sean utilizables en la práctica, la estructura de la prueba se guía por los estándares usuales de la industria y la experiencia práctica de Eaton para la producción segura de zumos y concentrados: Un flujo de filtración de un máximo de 500 l/m<sup>2</sup>·h, una temperatura de filtración de un máximo de 80 °C y una diferencia de presión máxima de 1,5 bar. Inicialmente, la determinación de la concentración de esporas es vital. En una concentración inicial de esporas de *alicyclobacillus acidoterrestres* de 10<sup>5</sup> cfu/ml, ya no se pueden detectar residuos después de la filtración con las placas de filtración en profundidad Becopad 170, 270 y 350 probadas (LRV ≥ 5), lo que significa que son perfectamente adecuadas para esta aplicación.

Con una concentración inicial de esporas superior a 5,6 · 10<sup>5</sup> cfu/ml, existen dos opciones: o bien se puede reducir el flujo de filtración para separar más esporas, o bien llevar a cabo un proceso de filtración de dos niveles, siendo esta última la opción más segura. En este proceso se utiliza una placa de filtración en profundidad para el prefiltrado, con el objetivo de reducir

la bruma y la concentración al valor máximo de 10<sup>5</sup> cfu/ml. Por razones de coste y efectividad, se recomienda la prefiltración en función del grado de contaminación, por ejemplo, con placas de filtración en profundidad Becopad 550 (filtración gruesa), Becopad 450 (filtración clarificante) o incluso Becopad 350 (filtración fina). Después de una reducción efectiva de la turbidez 1 NTU (unidades de turbidez nefelométrica), se puede utilizar una de las placas de filtración Becopad probadas con un LRV de ≥ 5. Independientemente del método utilizado, debe garantizarse que el zumo o el concentrado filtrado no estén expuestos a ninguna otra contaminación en las fases posteriores del proceso, a fin de evitar cualquier reinfección durante el almacenamiento o el transporte. □

### Dra. Ilona Schneider

Dipl.-Oenologin,  
Jefe de equipo de gestión de productos, tratamiento de bebidas e I+D, Eaton Technologies GmbH, Langenlonsheim, Alemania  
IlonaSchneider@eaton.com



### Bibliografía

- [1] Keweloh, Heribert: Mikroorganismen in Lebensmitteln: Theorie und Praxis der Lebensmittelhygiene, segunda edición, Haan-Gruiten, 2008
- [2] Juan Martin Oteiza, Silvina Soto, Verónica Ortiz Alvarenga, Anderson S. Sant'Ana, Leda Giannuzzi: International Journal of Food Microbiology, Flavorings as new sources of contamination by deteriorogenic Alicyclobacillus of fruit juices and beverages, (2014) 172, páginas 119 – 124
- [3] Cerny G., Hennlich W., Poralla K.: Spoilage of fruit juice by Bacilli – isolation and characterization of the spoiling microorganism. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung (1984), 179, páginas 224 – 227
- [4] Juan Martin Oteiza, Gastón Ares, Anderson S. Sant'Ana, Silvina Soto, Leda Giannuzzi: Use of a multivariate approach to assess the incidence of Alicyclobacillus spp. in concentrate fruit juices marketed in Argentina: Results of a 14-year survey, International Journal of Food Microbiology (2011)151 (2), páginas 229 – 234
- [5] Yue Tianli, Zhang Jiangbo, and Yuan Yahong: Spoilage by Alicyclobacillus Bacteria in Juice and Beverage Products: Chemical, Physical, and Combined Control Methods, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2014, Volumen 13 (5), páginas 771 – 1123
- [6] Junker Rainer: Fruchtsaft Ein Kompendium, Eaton Technologies GmbH, 2014 – 2017, p. 97