

Microbiología predictiva: una ciencia en auge

Predictive microbiology: a rising science

Cristhian J. Yarce*

ABSTRACT

In recent years, researchers on food microbiology started to use mathematical and statistical tools more frequently. These tools are important to obtain a mathematical model able to describe the evolution of microorganisms in food. Researchers have applied the models to food industries in order to determine a priori the process conditions that lead to the activation and deactivation of microorganisms. It is worth noting that microorganisms can be harmful both to consumers as well as the food's nutritional properties. Therefore, determining the susceptible conditions is important to prevent the consequences. The mathematical models frequently used include polynomials, logarithmic, exponential and differential equations. I distinguish three classes: primary models, secondary and tertiary. These models are important for reaching robust and reliable predictions regarding the behavior of microorganisms in food. This article presents a revision of microbiological predictive models, applied to the food field. The models presented often use the most studied parameters in predictive microbiology: temperature and pH.

Keywords: Food microbiology, predictive models, rising factors, APPCC, food security, risk analysis, PCC.

RESUMEN

En las últimas décadas, para el estudio de la microbiología de alimentos, se han incluido como herramientas de análisis el uso de la matemática y la estadística; tales conocimientos se combinan para desarrollar modelos matemáticos que describan la evolución de los microorganismos en los alimentos y para ilustrarlos existe una gran variedad de estudios aplicados en diferentes matrices e industrias alimenticias; estos buscan determinar a priori las condiciones de proceso o factores específicos, en los cuales hay activación, desactivación, crecimiento o muerte de los microorganismos que pueden ser perjudiciales tanto para el ser humano como para las propiedades organolépticas y nutricionales de un alimento, de esta manera establecer puntos de control que eviten tales



* Químico de la Universidad Santiago de Cali. Tecnólogo químico de la Universidad del Valle. *Universidad Santiago de Cali*, crijayar@gmail.com

resultados. Los modelos matemáticos incluyen ecuaciones de diversos tipos como las polinómicas, logarítmicas, exponenciales, y diferenciales, que se clasifican en modelos primarios, secundarios o terciarios; los cuales después de ser consolidados y aplicados, logran unas predicciones robustas y seguras sobre el comportamiento de los microorganismos en alimentos. En este artículo se presentará una revisión sobre modelos predictivos microbiológicos aplicados al sector alimenticio sin entrar a discutir sobre metodologías matemáticas incluidas en los modelos. Las ecuaciones mostradas, relacionan dos de los parámetros más estudiados en microbiología predictiva que son la temperatura y el pH como factores fundamentales en el crecimiento de microorganismos.

Palabras clave: Microbiología de alimentos, modelos predictivos, factores de crecimiento, algoritmos matemáticos, superficies de respuesta, APPCC, seguridad alimentaria, análisis de riesgos, PCC.

1. INTRODUCCIÓN

Desde hace algunos años, para el estudio de los alimentos y su inocuidad; una nueva herramienta en microbiología ha surgido, donde aplicando una serie de técnicas matemáticas y estadísticas al análisis de los alimentos [1-4], estas permiten predecir la respuesta de una población de microorganismos ante factores externos, a partir de condiciones estudiadas con anterioridad [5-10]. El término con el cual se le conoce es microbiología predictiva, definida científicamente, como el campo de estudio que combina elementos de la microbiología, matemáticas y estadística para desarrollar modelos que además de describir, también predigan matemáticamente el crecimiento o muerte de microorganismos cuando se ven sometidos a factores específicos como: pH, Temperatura (T), actividad de agua (aw), entre otros [11]. A partir del conocimiento de las respuestas microbianas ante tales elementos del entorno se formulan ecuaciones matemáticas que indican un comportamiento, ya sea de crecimiento, supervivencia o inactivación; a las cuales, se les identifica como modelos predictivos microbiológicos [12]. La microbiología predictiva está basada en la premisa que las respuestas de poblaciones de microorganismos a factores medioambientales son reproducibles y que por lo tanto es posible, interpolando entre puntos, predecir el comportamiento de esos microorganismos para condiciones que no han sido

ensayadas [13]. A la microbiología predictiva, también se le ha dado el nombre de ecología microbiana cuantitativa porque comprende todas aquellas técnicas que permiten cuantificar un proceso microbiológico en un ecosistema [14].

En Microbiología Alimentaria, los modelos predictivos constituyen un método rápido, relativamente económico y no invasivo para la determinación objetiva de la calidad de los alimentos [15].

Cuando se desarrolla un modelo microbiológico, es importante especificar claramente cuáles son las limitaciones del mismo, es decir, qué microorganismos, qué factores, los límites de cada factor y qué combinaciones de factores proporcionan respuestas válidas a los comportamientos y a la predicción de estos; ya que la presencia de factores adicionados a un alimento que no están presentes en el modelo, invalidan a éste o hacen necesario tener precaución en la interpretación de las predicciones, por ello cada vez es más aceptado que los modelos predictivos, no pueden ser generales, sino particulares para cada alimento y situación concreta.

La revisión presentada, trata sobre el estado del arte de modelos predictivos microbiológicos aplicados al sector alimenticio. Inicialmente se describirá la historia de los modelos predictivos. En las dos siguientes secciones se presentará la definición de los modelos y se realizará una men-

ción sobre las formas generales de clasificación para los mismos. . Posteriormente se indicaran los parámetros que se usan para la evaluación de estos; además de introducir el concepto de la utilidad que pueden tener los modelos, aplicados al análisis de peligros y puntos críticos de control en la industria alimentaria. Por último se darán futuras direcciones en el estudio y aplicación de la microbiología predictiva.

2. HISTORIA

El concepto de microbiología predictiva está próximo a cumplir 100 años, ya que se pueden encontrar referencias al uso de tal herramienta en literatura de los años 20, cuando Esty y Meyer [16] establecieron la metodología predictiva para un enlatado seguro de alimentos bajos en acidez para prevenir la aparición de *Clostridium Botulinum*. Estos, proponen el concepto de las 12 reducciones decimales o 12D. El factor D es el tiempo de calentamiento necesario en un alimento para reducir la población microbiana en una unidad decimal [17]

Estos valores D eran predichos a partir de modelos matemáticos. Años después, en 1930, Scott escribió sobre la industria de la carne de buey y como se afectaba la población microbiana en estos alimentos cuando se aumentaba la temperatura [18]. En la temática tratada, este investigador pone de manifiesto conocimientos claros en la identificación de la relación subyacente entre la temperatura y la cinética de crecimiento de los microorganismos [19]. A partir de ahí, los conceptos de microbiología predictiva se fueron estableciendo en procesos productivos de fermentación de alimentos y conservación de los mismos mediante tratamientos térmicos.

Para la década de los sesenta, la microbiología predictiva logro grandes avances en diferentes campos, se dieron innovaciones en:

- El control de procesos en la industria del pescado, para lo referente a la alteración del mismo, ocasionada por microorganismos [20].
- La prevención del botulismo y otras intoxicaciones Microbianas [21].



Grupos de investigación como el Genigeorgis en la Universidad de California buscaron encontrar combinaciones de factores que podrían prevenir el crecimiento de patógenos y la formación de toxinas [22]; estos investigadores encontraron expresiones matemáticas para relacionar la reducción del factor D, estudiado anteriormente como consecuencia de elementos intrínsecos y extrínsecos de los procesos, como la temperatura, el pH, la concentración de NaCl, etc. De ahí que la reducción decimal D fue entonces relacionada con la probabilidad de crecimiento bacteriano o de producción de toxinas. Estos estudios desarrollaron los llamados modelos matemáticos, basados en un cálculo de probabilidades: de iniciación de crecimiento de un microorganismo o de producción de una toxina a partir de una célula [23].

En la década de los 80, la microbiología predictiva, despertó un nuevo interés [24], debido a algunos factores tanto científicos como sociales, tales como:

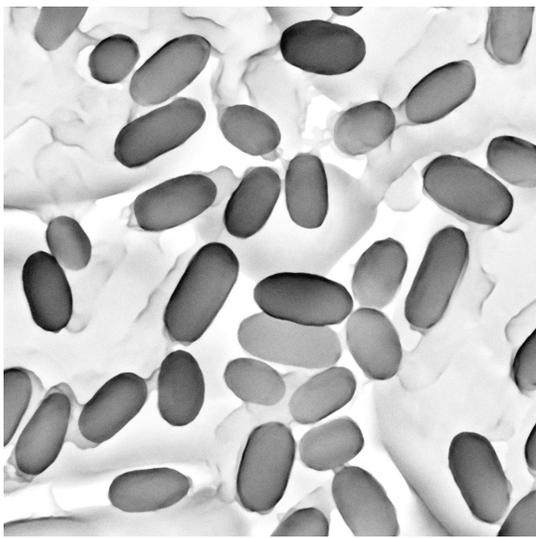
- El desarrollo de la informática.
- La alta demanda de alimentos con mejores procesos de higiene y seguridad.

- La restricción tanto científica como económica, de tener la información cuantitativa microbiológica de todos los alimentos para toma de decisiones sobre la seguridad para producción de los mismos.

Desde esa época, la microbiología predictiva ha tratado de dar respuesta a los intereses en materia de seguridad alimentaria y compensa tales situaciones por su aporte a la identificación de un número limitado de factores clave responsables en gran parte del comportamiento de los microorganismos en los alimentos; a su vez que no solo se comienza a estudiar el efecto de los factores individualmente, sino también los efectos sinérgicos que tendrían sobre un proceso de producción de alimentos inocuos, la combinación de ellos[25-26].

Es decir que a través de la cuantificación y la comprensión del impacto de estos factores en el comportamiento de los microorganismos, es posible generar modelos efectivos que estimen el comportamiento microbiano en un rango amplio de productos [27].

Siguiendo esta línea de desarrollos, vale la pena mencionar, que uno de los aspectos fundamentales que ha contribuido al rápido progreso de la microbiología predictiva en los últimos años ha sido la identificación de modelos que describen



Bacillus Stearotherophilus Bacteria

las curvas del crecimiento bacteriano ejemplificada por los llamados modelos cinéticos, los cuales bajo condiciones ambientales determinadas, describen curvas sigmoideas mediante parámetros con significado biológico para los microorganismos como la duración de la fase de latencia, la velocidad máxima de crecimiento, la densidad máxima de población, entre otros. [28].

En términos generales, el desarrollo histórico de la microbiología predictiva, ha estado enmarcado, para los diversos investigadores, bajo la búsqueda de factores o combinación de estos, que describan situaciones de control en términos de la presencia de diversos microorganismos que podrían llegar a ser perjudiciales si no se identifican a tiempo al producir un alimento

MODELOS PREDICTIVOS

Los modelos predictivos, han sido propuestos desde hace algunos años y la literatura científica sobre esta temática, describe diversos modelos matemáticos o probabilísticos, que tratan de relacionar el valor D, con la temperatura y algún factor medioambiental, ejemplo pH, para predecir el comportamiento de algún tipo de microorganismo en un alimento. [29].

En 1994, se plantea un modelo de inactivación de *Escherichia coli* en alimentos procesados teniendo en cuenta la actividad de agua, y el factor D; sin embargo este modelo presenta inconvenientes porque requiere conocer de forma anticipada la concentración de iones H^+ y OH^- .

También los investigadores Reichart y Mohácsi-Farkas en 1994 [30] plantearon modelos para explicar la relación entre factores como el pH, la actividad de agua, la temperatura y el potencial redox con el factor de reducción decimal D, en siete microorganismos no esporulados.

En el año de 1998, Periago y sus colaboradores [31] proponen una ecuación cuadrática de segundo orden para describir el efecto del pH y el NaCl en la resistencia térmica de esporangiosporas de *Bacillus stearotherophilus*, pero por la complejidad del modelo, al contener nueve va-

riables explicativas, fue muy difícil de demostrar y limitado en su aplicación.

De varios reportes en microbiología predictiva, se ha concluido que el pH es el factor medioambiental más interesante por su importante papel sobre la resistencia a la temperatura de los microorganismos, parámetro que ha sido ampliamente estudiado. El primer modelo para predecir el efecto combinado de la temperatura y el pH en la cinética de destrucción térmica de los microorganismos fue publicado por Davey y colaboradores [32], basándose en datos publicados de la inactivación del *Clostridium botulinum*, el modelo tenía cuatro parámetros definidos con la ecuación de Arrhenius. Otros autores se han basado en la ecuación de Bigelow para desarrollar sus modelos [33] y otros han usado modelos polinomiales de primer y segundo grado [11, 31, 34], debido quizás a que estos modelos polinomiales (principalmente el de segundo grado) también han sido ampliamente utilizados para describir la cinética de crecimiento de los microorganismos.

Para generar predicciones confiables y efectivas en cuanto a diagnóstico, es necesario que los modelos se ajusten a las condiciones reales del proceso; esto se logra cuando la experimentación y la recolección de los datos para el desarrollo del mismo, es representativa de toda la variabilidad.

El modelado de datos es un tema de cuidado ya que por las diferentes conductas que presenta el crecimiento microbiano, puede tener limitaciones causadas tanto por factores intrínsecos como extrínsecos.

Se debe tener en cuenta que los experimentos controlados en laboratorio pueden no reflejar la complejidad del comportamiento de los microorganismos en los alimentos [35]. La flora microbiana de un alimento es un sistema complejo: Las respuestas microbianas se ven afectadas tanto por condiciones del entorno, como por condiciones fisiológicas previas del microorganismo, lo cual puede ocasionar que los microorganismos no se adapten a nuevos ambientes.

Con lo anterior, se evidencia que los modelos pueden abarcar desde investigaciones básicas de laboratorio, hasta aplicaciones industriales; por

ello debe destacarse que estos son herramientas valiosas para hacer predicciones y establecer programas de análisis de peligros y puntos críticos de control (APPCC) [36, 37]; ya que con una herramienta tal, se pueden tomar conclusiones apropiadas sobre establecimiento de límites críticos de proceso y también la identificación de puntos críticos, la premisa más importante es que si se puede identificar un error y solucionarlo, también se puede predecir y evitar con el estudio de la ecología microbiana.

CLASIFICACIÓN DE LOS MODELOS PREDICTIVOS

Se encuentran diferentes formas de clasificación de los modelos predictivos, las cuales no son excluyentes entre sí. Las principales de manera general son las siguientes [38]:

De acuerdo al evento de comportamiento que describen, se encuentran [39]:

- **Modelos de crecimiento:** Estudian el aumento en la población de microorganismos.
- **Modelos de inactivación:** Estudian la muerte de los microorganismos bajo condiciones especiales o la inactivación de los mismos o de sus toxinas.

De acuerdo al tipo de expresión matemática o aproximación estadística que los define:

- **Modelos probabilísticos:** Como su nombre lo indica, se basa en el estudio de probabilidades de que ocurra un evento en la población microbiana, ya sea crecimiento, supervivencia, activación e inactivación de esporas, incluso muerte.
- **Modelos cinéticos:** Estudian las velocidades o cinética de eventos o respuestas específicas de microorganismos frente a los factores activadores del medioambiente [40].

De acuerdo al diseño experimental o metodología llevada a cabo para su formulación, se clasifican en:

- **Modelos empíricos:** Son el resultado de modelaciones de ensayo y error, suelen no

dar información de respuestas implícitas de los microorganismos, porque no tienen en cuenta los procesos conocidos, sino los experimentados in situ.

- **Modelos mecanicistas:** Son aquellos que buscan comparar a través de experimentos, las respuestas de los microorganismos, frente a ciertos factores, para validar los modelos ya establecidos teóricamente.

De acuerdo a la cantidad y tipo de variable que explican, esta clasificación es la más utilizada y aceptada:

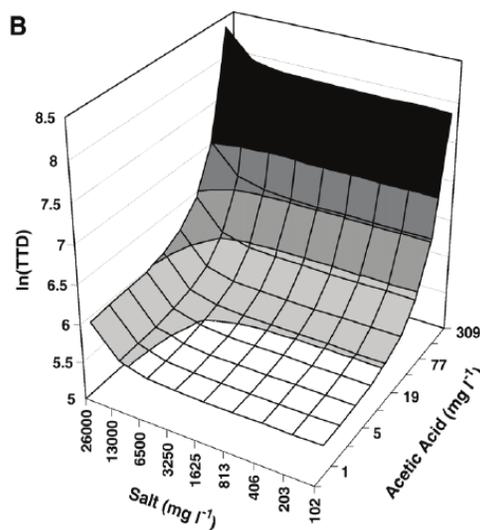
- **Modelos primarios:** Estudian las respuestas de los microorganismos frente al tiempo, generalmente son datos primarios sobre el aumento o descenso en cierta población o la producción de una toxina o metabolito. Según la anterior definición, el modelo puede cuantificar las unidades formadoras de colonias por mililitro o gramo de alimento (UFC/mL ó UFC/g), la formación de toxina, o los niveles de substrato como medidas directas de la respuesta, y también se estudian medidas indirectas de la respuesta, registradas principalmente con equipos instrumentales, como lo es la turbidez generada en un medio, la absorbancia, la impedancia, la conductancia, entre otras señales que se pueden identificar con instrumental especializado.
- **Modelos secundarios:** Relacionan las respuestas de los modelos primarios frente a las variables ambientales estudiadas, es decir ya las respuestas no se dan en el tiempo, sino que los aumentos o descensos de población son correlacionados con el pH, la temperatura, la actividad de agua, la concentración de sales, y demás. Se representan también en modelos con gráficos de superficie de respuesta; tal como lo muestra Lambert, en la figura 1. [49].
- **Modelos terciarios:** Se generan como el resultado de combinar los modelos primarios y secundarios, para llevarlos a herramientas informáticas que muestran las diferentes predicciones en relación al crecimiento, supervivencia o muerte de los microorganismos en los alimentos cuando se combinan diferentes condiciones ambientales; estos son progra-

mas de software como el Pathogen Modelling Program, creado por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América (USDA). Tales modelos de nivel terciario (programas de ordenador) de fácil manejo por parte de los operarios de la industria de alimentos para evaluar la respuesta microbiana, logran ahorrar energía y recursos, ya que la mayor parte del trabajo de laboratorio se ve reducido considerablemente y se logran mayores controles en seguridad alimentaria; también son uno de los grandes avances en microbiología predictiva y actualmente los desarrollos de un modelo predictivo buscan tener herramientas informáticas como las mencionadas para simplificar la dimensionalidad de los cálculos matemáticos [41].

Parámetros para la evaluación de modelos predictivos

Los modelos de predicción utilizados en microbiología de alimentos, comprenden desde ecuaciones simples, de primer orden; hasta ecuaciones y expresiones matemáticas complejas; a continuación se presentan algunos tipos de

Figura 1. Gráfico de modelo secundario en superficie de respuesta para la relación entre la concentración de NaCl y el pH en función de la población microbiana de *A. hydrophila* (Tomado de Ronald J.W. Lambert, 2006)[49].



ecuaciones y la expresión general para evaluar los modelos predictivos generados por ellas:

Se han reportado cuatro modelos de regresión, que han sido propuestos para explicar la termo-resistencia de los microorganismos en función de la temperatura y del pH del medio de calentamiento [42]. Estos modelos son:

a. Modelo basado en la ecuación de Arrhenius. (Ecuación 1)

$$\text{Ln}k = C_0 + \left(\frac{C_1}{T}\right) + C_2pH + C_3(pH)^2 + \epsilon$$

b. Modelo basado en la ecuación de Bigelow. (Ecuación 2).

$$\text{Log}D = \text{Log}D^* \left(\frac{-1}{zT}\right) (T - T^*) - \left(\frac{1}{z\text{pH}}\right)^2 (pH - \text{pH}^*)^2 + \epsilon$$

c. Modelo cuadrático polinomial (Ecuación 3).

$$\text{Log}D = C_1 + C_2 T + C_3 \text{pH} + C_4 (T\text{pH}) + C_5 T^2 + C_6 (\text{pH})^2 + \epsilon$$

d. Modelo básico (Fernández y col., 1996). (Ecuación 4).

$$\text{Log}D = C_1 + C_2 T + C_3 \text{pH} + \epsilon$$

Donde:

LogD = logaritmo decimal del factor D;

Lnk = logaritmo natural de la constante de reacción del modelo de Arrhenius ($k = \frac{\text{ln}10}{D}$);

T = temperatura de calentamiento;

pH = pH del medio de calentamiento;

$C_0 - C_6$ = coeficientes que han de ser estimados;

T^* = temperatura de referencia (generalmente 121°C);

pH^* = pH de máxima resistencia de las endosporas (generalmente 7);

D^* = D cuando $T = T^*$ y $\text{pH} = \text{pH}^*$;

zT = el valor de z convencional (cambio necesario en la temperatura para que el valor de D disminuya 10 veces);

$z\text{pH}$ = cambio necesario en el pH, a partir del pH de referencia, para que el valor de D disminuya 10 veces.

Al modelo (d), ecuación 4, se le ha llamado modelo básico porque se utilizan como variables explicativas las variables básicas sin ninguna transformación.

El presente artículo, no tiene como objeto discutir las metodologías matemáticas para llegar a las expresiones dadas por los modelos predictivos, lo que se pretende resaltar, es que tales ecuaciones o modelos, como los indicados con anterioridad, relacionan dos parámetros que son los más estudiados en microbiología predictiva tales como la temperatura y el pH, por ser factores fundamentales en el crecimiento de microorganismos; la escogencia de estos se debe en gran manera a la facilidad relativa que tienen para ser determinados, al no requerir demasiado tiempo o equipos instrumentales avanzados; además que ellos están siempre presentes en cualquier proceso de producción de alimentos. Para mayor información, por favor remitirse a la bibliografía citada [43][44].

En el orden de ideas anterior, se encuentra que en un análisis de los diferentes modelos reportados en la bibliografía, donde se tiene que se han estudiado y definido niveles de temperatura y pH para realizar un control de microorganismos, en los procesos de empaque de alimentos enlatados; evaluando los factores mencionados para el *Clostridium botulinum* [45] en el intervalo de temperaturas de 110°C a 118.3°C y pH de 4 a 7; para *Clostridium sporogenes* [46] en temperaturas de 110°C a 121°C y pH de 5 a 7; y para *Bacillus stearothermophilus* [47] en el intervalo de temperaturas de 115°C a 125°C y pH de 4,6 a 6,2. Datos que corresponden a estudios en condiciones de calentamiento isotérmicas y se observa y concluye que en la activación o desactivación de tales microorganismos las variables básicas son la temperatura en el intervalo de 115°C a 125°C y el pH en el intervalo de 5.00 a 5.82.

Los modelos predictivos tienen validez, siempre y cuando sean sujetos a una evaluación y para hacerlo, estos al igual que en una regresión lineal, poseen algunos parámetros de juicio, que indican el rendimiento y ajuste de tales modelos a las situaciones a las cuales desean ser aplica-

dos. En microbiología predictiva las evaluaciones más comunes se refieren a los siguientes:

Coefficiente de determinación

Relaciona la bondad del ajuste entre las variables estudiadas y la respuesta observada. Por ejemplo, en las ecuaciones anteriores (a-d), este coeficiente es la proporción de variabilidad de las observaciones de la variable dependiente (Lnk en el modelo de Arrhenius de la ecuación 1 y LogD en los tres restantes) explicada por el conjunto de las variables independientes consideradas en cada caso.

Estudio de los residuos

Es la diferencia entre los valores predichos por un modelo y los observados en la experimentación [48][49].

Datos influyentes

Los datos influyentes son aquellos que tienen una exagerada influencia sobre el modelo ajustado. [50]

Multicolinealidad

Cuando en un modelo se determina que una de las variables puede estar implícita en otra y la respuesta que se supone depende de una combinación entre las variables explicativas

Índices para evaluar los modelos en microbiología de alimentos

El concepto de índice, hace referencia a la relación que se encuentra entre las predicciones que puede arrojar un modelo y las comprobaciones o validaciones del mismo; se conocen dos índices, ampliamente utilizados; como son el factor BIAS (B_f) y el factor de exactitud (A_f) [51]. El factor BIAS valora si el modelo es seguro *fail-safe* (en promedio el modelo predice por encima de los valores obtenidos experimentalmente), o si el modelo es peligroso *fail-dangerous* (en promedio el modelo predice por debajo de los valores obtenidos experimentalmente). El factor de exactitud proporciona una medida del promedio de precisión de los valores estimados. Estos índices están dados por las siguientes ecuaciones:

$$A_f = \left(\frac{\sum \left| \text{Log} \left(\frac{\text{Predicción}}{\text{Observación}} \right) \right|}{n} \right) \quad (5)$$

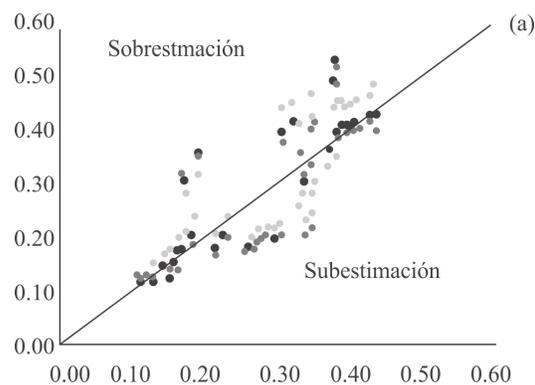
$$B_f = \left(\frac{\sum \left(\text{Log} \left(\frac{\text{Predicción}}{\text{Observación}} \right) \right)}{n} \right) \quad (6)$$

Donde, B_f es el factor BIAS, A_f es el factor de exactitud y n es el número de datos usados para el cálculo.

En la Universidad de Córdoba, Argentina se llevó a cabo un estudio para la evaluación de productos cárnicos y el crecimiento de microorganismos como *L. Mesenteroides* en ellos; se aplicaron los factores A_f y B_f para evaluación de los parámetros de crecimiento del microorganismo, tal como se observa en la figura 2. [52].

En donde PRED, hace referencia al eje de los valores predichos por el modelo desarrollado y OBS, hace referencia a los análisis de laboratorio llevados a cabo para la validación del modelo; la figura 2, también señala dos sectores en la gráfica con la categoría de subestimación y sobrestimación; esto se obtiene de aplicar los índices B_f y A_f ; si un punto de proceso entre la predicción y la observación se encuentra en el rango de sobrestimación, se puede decir que el modelo en cuanto

Figura 2. Gráfico de validación de un modelo predictivo para evaluar la tasa máxima de crecimiento de *L. Mesenteroides* a través de la correlación entre factores B_f y A_f (Tomado M^a del Rocío Rodríguez Pérez, 2003)[52].



a seguridad alimentaria está realizando unas buenas predicciones y se puede confiar en las decisiones que se tomen a partir de tal índice; pero si se encuentra en el rango de la subestimación, el modelo no es confiable porque no relaciona de una buena forma las predicciones dadas, con la realidad del proceso y es inseguro.

6. MICROBIOLOGÍA PREDICTIVA Y ANÁLISIS DE PELIGROS Y PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL (APPCC)

La comunidad científica y académica que estudia la microbiología de alimentos ha venido desarrollando, modelos predictivos que sean fácilmente adaptados a nivel industrial, ya que en ocasiones, la aplicación de la microbiología predictiva ha sido complicada, fuera de la academia; pero la generación y validación [53] de modelos predictivos con programas informáticos accesibles y con una interfaz amigable para el usuario potenciará en el futuro su utilización [54][55][56].

En cuanto a la gestión del riesgo y al análisis de peligros, la Microbiología Predictiva constituyen una buena herramienta para:

- Valoración de riesgo y utilidad para la toma de decisiones en relación a cada peligro asociado a los procesos de producción de alimentos, ya que se pueden tener bases de datos de tratamientos y eventos con el proceso que se está o se quiere estudiar [57].
- Determinación de puntos críticos de control (PCC) en un proceso y decisión sobre el estado del proceso [58], o el nivel aceptable / inaceptable de un peligro.
- Reevaluar límites críticos en proceso con un alto porcentaje de ahorro en recursos, tanto económicos como operativos [59-60]
- Establecer los niveles de seguridad requeridos para un producto nuevo y la definición de las formulaciones seguras para el consumidor del mismo [61].

Las ventajas de aplicar microbiología predictiva al APPCC para las industrias toca muchos campos, por ejemplo: La representación de las condiciones de un proceso en forma de gráficos que de-

muestre la estimación de tiempos de crecimiento o de inactivación para una población microbiana específica, puede ser una herramienta útil para personas no entrenadas en microbiología, y con las predicciones y formulación de ecuaciones se puede lograr; también se tienen que con la utilización de modelos se puede demostrar la importancia de mantener unas temperaturas de refrigeración adecuadas, así como los beneficios de usar materias primas de alta calidad, con poblaciones microbianas iniciales muy bajas.

CONCLUSIÓN

Los modelos de seguridad establecidos a través de la microbiología predictiva y el uso de software [62] son útiles para la industria [63] porque establecen y evalúan niveles aceptables, límites críticos y puntos de control en un proceso generalmente de elaboración de alimentos [64]. Estos modelos deben obtenerse después de un estudio exhaustivo de las condiciones medioambientales y la calibración bajo proceso de las mismas, relacionándolas con el nivel de afectación que puede alcanzar cada una en la respuesta de un microorganismo [65]. En algunos casos, los modelos predictivos pueden ser inexactos a causa de la falta de conocimiento de las propiedades físicas, químicas o microbiológicas del alimento, de forma que habrá que realizar igualmente pruebas de laboratorio para validar los puntos críticos de control a incluir en los modelos (PCC) [66]; pero las pruebas de validación son uno de los elementos más importantes de juicio para establecer la confiabilidad de algún modelo propuesto [67]. Así como se evidencio en el presente artículo, donde los factores de mayor importancia o más estudiados para el planteamiento de ecuaciones matemáticas de predicción, son el pH y la Temperatura, los modelos predictivos buscan, encontrar variables que sean sencillas de medir, para relacionar con estas el comportamiento de los microorganismos en los alimentos. Con todo y limitaciones, cada modelo desarrollado está en la capacidad y tiene el potencial de aportar información objetiva que permite realizar un análisis de peligros completo, no limitado únicamente a valoraciones cualitativas basadas en juicios subjetivos o en la experiencia personal de los individuos encargados de un proceso.

Proyecciones y Recomendaciones.

A pesar que la microbiología predictiva se viene estudiando desde hace algún tiempo; en la actualidad ha sido poco difundida; por ello es necesario que los organismos de control, las universidades y los investigadores, hagan más énfasis en el uso de esta herramienta para aplicarlo al análisis de los alimentos; ya sea para predecir los comportamientos de los microorganismos que pueden ser perjudiciales para el ser humano, como para predecir el comportamiento de los que pueden ser benéficos; lo anterior debe hacerse con objetivos fijos que apunten a la producción de alimentos inocuos y de calidad, enmarcados bajo el concepto de alimentación segura y funcional. el desarrollo de los modelos predictivos necesita ser establecido a través de la identificación de parámetros o factores que sean determinados como influyentes en la predicción de condiciones de proceso, ejemplos anteriores de ellos fueron el pH y la temperatura; los cuales han sido los parámetros más evaluados, pero es necesario encontrar otros, estudiarlos y demostrarlos, para que los modelos predictivos de nuestra época sean más robustos y puedan ser aplicables a la cuantificación ecológica microbiana, de una manera más amplia, la cual se integre con el avance del mundo actual en las tecnologías de información y comunicaciones; aprovechando la innovación que se viene presentando en los diferentes software informáticos, para que de esta manera la aplicación y validación de los modelos predictivos, sea accesible y útil en la construcción de mejores tecnologías de proceso, a su vez que elevan la confianza y seguridad de los productores y consumidores de alimentos.

REFERENCIAS

1. Dantigny, P., A. Guilmart, and M. Bensoussan, *Basis of predictive mycology*. International Journal of Food Microbiology, 2005. 100(1-3): p. 187-196.
2. Chemaly, R.F., et al., *Microbiology of liver abscesses and the predictive value of abscess gram stain and associated blood cultures*. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2003. 46(4): p. 245-248.
3. Cornu, M., et al., *Effect of temperature, water-phase salt and phenolic contents on Listeria monocytogenes growth rates on cold-smoked salmon and evaluation of secondary models*. International Journal of Food Microbiology, 2006. 106(2): p. 159-168.
4. Mafart, P., *Food engineering and predictive microbiology: on the necessity to combine biological and physical kinetics*. International Journal of Food Microbiology, 2005. 100(1-3): p. 239-251.
5. Dens, E.J. and J.F. Van Impe, *On the need for another type of predictive model in structured foods*. International Journal of Food Microbiology, 2001. 64(3): p. 247-260.
6. McClure, P.J., et al., *Predictive modelling of growth of Listeria monocytogenes The effects on growth of NaCl, pH, storage temperature and NaNO₂*. International Journal of Food Microbiology, 1997. 34(3): p. 221-232.
7. Armitage, N.H., *Use of predictive microbiology in meat hygiene regulatory activity*. International Journal of Food Microbiology, 1997. 36(2-3): p. 103-109.
8. McMeekin, T.A. and T. Ross, *Predictive microbiology: providing a knowledge-based framework for change management*. International Journal of Food Microbiology, 2002. 78(1-2): p. 133-153.
9. Jeyamkondan, S., D.S. Jayas, and R.A. Holley, *Microbial growth modelling with artificial neural networks*. International Journal of Food Microbiology, 2001. 64(3): p. 343-354.
10. Van Impe, J.F., et al., *Predictive microbiology in a dynamic environment: a system theory approach*. International Journal of Food Microbiology, 1995. 25(3): p. 227-249.
11. Fernández, P.S., et al., *Predictive model of the effect of CO₂, pH, temperature and NaCl on the growth of Listeria monocytogenes*. International Journal of Food Microbiology, 1997. 37(1): p. 37-45.
12. Baranyi, J. and T.A. Roberts, *Mathematics of predictive food microbiology*. International Journal of Food Microbiology, 1995. 26(2): p. 199-218.

13. Tejedor, W., Ruiz, P., Rodrigo M. y Martínez, A., *Microbiología Predictiva*. Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC), 2000. Apartado de Correos 73, 46100 Burjassot, Valencia, España: p. 31.
14. Vadasz, P. and A.S. Vadasz, *Predictive modeling of microorganisms: LAG and LIP in monotonic growth*. International Journal of Food Microbiology, 2005. 102(3): p. 257-275.
15. Zwietering, M.H., J.C. de Wit, and S. Notermans, *Application of predictive microbiology to estimate the number of Bacillus cereus in pasteurised milk at the point of consumption*. International Journal of Food Microbiology, 1996. 30(1-2): p. 55-70.
16. Graham, A.F., D.R. Mason, and M.W. Peck, *Predictive model of the effect of temperature, pH and sodium chloride on growth from spores of non-proteolytic Clostridium botulinum*. International Journal of Food Microbiology, 1996. 31(1-3): p. 69-85.
17. McMeekin, T.A., T. Ross, and J. Olley, *Application of predictive microbiology to assure the quality and safety of fish and fish products*. International Journal of Food Microbiology, 1992. 15(1-2): p. 13-32.
18. Baranyi, J.R., T.A., McClure, P.J. , *A non-autonomous differential equation to model bacterial growth*. Food Microbiology, (1993). 10: p. 43-59.
19. McMeekin, T.A., et al., *Predictive microbiology: towards the interface and beyond*. International Journal of Food Microbiology, 2002. 73(2-3): p. 395-407.
20. Ross, T., P. Dalgaard, and S. Tienungoon, *Predictive modelling of the growth and survival of Listeria in fishery products*. International Journal of Food Microbiology, 2000. 62(3): p. 231-245.
21. Augustin, J.-C., *Challenges in risk assessment and predictive microbiology of foodborne spore-forming bacteria*. Food Microbiology, 2011. 28(2): p. 209-213.
22. Swinnen, I.A.M., et al., *Predictive modelling of the microbial lag phase: a review*. International Journal of Food Microbiology, 2004. 94(2): p. 137-159.
23. Genigeorgis, C., *Avances en microbiología de los alimentos: significado para los problemas de salud alimentaria de la microbiología predictiva*. Simposium conmemorativo del Bicentenario de la Facultad de Veterinaria, 1993. Universidad Complutense, Madrid.: p. 34.
24. Buchanan, R.L., *Predictive food microbiology*. Trends in Food Science and Technology, 1993. 4p. 6-11.
25. Baranyi, J.R., T.A., *Mathematics of predictive food microbiology*. International Journal of Food Microbiology, 1995. 26: p. 199-218.
26. Buchanan, R.L., Whitting, R.C, *Risk assessment and predictive microbiology*. Journal of food Protection, 1996. 1996 supplement: p. 31-36.
27. Zwietering, M.H., Jongenburger, I., Rombouts, F.M., van't Riet, K, *Modelling of the bacterial growth curve*. Applied and Environmental Microbiology, 1990. 56: p. 1875-1881.
28. al, M.C.M.D.e., *Shelf life valuation of foods*. 1994. 4: p. 21-30.
29. Reichart, O., *Modelling the destruction of Escherichia coli on the base of reactions kinetics*. International Journal of Food Microbiology, 1994. 23: p. 449-465.
30. Reichart, O., Mohácsi-Farkas, C, *Mathematical modelling of the combined effect of water activity, pH and redox potential on the heat destruction*. International Journal of Food Microbiology, 1994. 24: p. 103-112.
31. Periago, P.M., Fernández, P.S., Salmerón, M.C., Martínez, A, *Predictive model to describe the combined effect of pH and NaCl on apparent heat resistance of Bacillus stearothermophilus*. International Journal of Food Microbiology, 1998. 44: p. 21-30.
32. Davey, K.R., Lin, S.H., Wood, D.G., *The effect of pH on continuous high temperature/short time sterilisation of liquids*. Journal of American Institute of Chemical Engineering, 1978. 24: p. 537-540.

33. Mafart, P.a.L., I, *Modelling combined effects of temperature and pH on heat resistance of spores by linear-Bigelow equation*. Journal of Food Science, 1998. 63: p. 6-8.
34. Fernández, P.S., Ocio, M.J., Rodrigo, F., Rodrigo, M., Martínez, A, *Mathematical model for the combined effect of temperature and pH on the thermal resistance of Bacillus stearothermophilus and Clostridium sporogenes spores*. International Journal of Food Microbiology, 1996. 32: p. 225-233.
35. Muñoz-Cuevas, M., A. Metris, and J. Baranyi, *Predictive modelling of Salmonella: From cell cycle measurements to e-models*. Food Research International, 2012. 45(2): p. 852-862.
36. Davies, S.C.y.B., J.G., *Predictive microbiology applications to chilled food microbiology*. Microbiologie prédictive et HACCP, 1992. Amgar, A. ASEPT, Laval. Francia.
37. Whiting, R.C.B., R.L., *Use of predictive microbial modeling in a HACCP program*. Microbiologie prédictive et HACCP, 1992. Amgar, A. ASEPT, Laval. Francia.
38. Universidad autonoma de Barcelona. *Metodos Rapidos y Automatizacion en microbiologia alimentaria VII Workshop*. Alimentaria Congressos. Publicación trimestral, 2009. 3: p.18-19.
39. Baranyi, J. ,Pin, C. *Primer curso teórico-práctico en Microbiología Predictiva de Alimentos*. Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid. 2001
40. Ratkowsky, D.A., Olley, J., McMeekin, T.A.,and Ball, A. *Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures*. Journal of Bacteriology, 1982. 142: p. 1-5.
41. Elliot, P. *Predictive microbiology and HACCP*. Journal of food Protection, 1996, suplement. p. 48-53.
42. Davey, K.R. *Extension of the generalized sterilization chart for combined temperature and pH*. Lebensmittel-Wissenschaft und – Technologie, 1993. 26: p. 476-479.
43. J.C. Fernández, C. Hervás, F.J. Martínez-Estudillo, P.A. Gutiérrez. *Memetic Pareto Evolutionary Artificial Neural Networks to determine growth/no-growth in predictive microbiology*. Applied Soft Computing, 2011: 11. p.534-550.
44. Thomas A. McMeekin; Thomas, Ross. *Shelf life prediction: status and future possibilities*. International Journal of Food Microbiology, 1996. 33: p. 65-83
45. Kezones, H. and Hutchings, I.S. *Thermal resistance of Clostridium botulinum (62A) spores as affected by fundamental food constituents. I. Effect of pH*. Food Technology, 1965. 30: p. 1003-1005.
46. Cameron, M.S., Leonard, S.J. and Barret, E.L. *Effect of moderately acidic pH on heat resistance of Clostridium sporogenes spores in phosphate buffer and in buffered pea puree*. Applied and Environmental Microbiology, 1980. 5: p. 943-949.
47. Fernández, P.S., Ocio, M.J., Sánchez, T. and Martínez A. *Thermal resistance parameters of Bacillus stearothermophilus spores heated in acidified mushroom extract*. Journal of Food Protection, 1994. 57: p. 37-41.
48. Peña, D. *Estadística. Modelos y Métodos. 2. Modelos lineales y series temporales*. Segunda edición. Alianza Editorial.
49. Ronald J.W. Lambert; Eva, Bidlas. *An investigation of the Gamma hypothesis: A predictive modelling study of the effect of combined inhibitors (salt, pH and weak acids) on the growth of Aeromonas hydrophila*. International Journal of Food Microbiology, 2007. 115: p. 12–28.
50. Amit Pal, Theodore, P. Labuza, Francisco Diez-Gonzalez. *Comparison of primary predictive models to study the growth of Listeria monocytogenes at low temperatures in liquid cultures and selection of fastest growing ribotypes in meat and turkey product slurries*. Food Microbiology, 2008. 25: p. 460-470.
51. Ross, T. *Indices for Performance Evaluation of Predictive Models in Food Microbiology*. Journal of Applied Bacteriology, 1996. 81: p. 501-508.
52. M^a del Rocio Rodriguez Perez. *Desarrollo y Validación de modelos matemáticos para la*

- predicción de vida comercial de productos cárnicos*. Facultad de veterinaria departamento de bromatología y tecnología de los alimentos. Tesis doctoral. Universidad de Cordoba, Cordoba 2003. p. 140-157
53. Jo 'zsef, Baranyi. Carmen, Pin. Thomas, Ross. *Validating and comparing predictive models*. International Journal of Food Microbiology, 1999. 48: p.159–166.
54. K. Bernaerts, K.P.M. Gysemans, T. Nhan Minh, J.F. Van Impe. *Optimal experiment design for cardinal values estimation: guidelines for data collection*. International Journal of Food Microbiology, 2005. 100: p.153– 165.
55. Ross, T., McMeekin, T.A.,. *Predictive microbiology – a review*. Int. J. Food Microbiol, 1994. 23: p. 241–264
56. Stanley Brul , Femke I.C. Mensonides a, Klaas J. Hellingwerf M. Joost Teixeira de Mattos. *Microbial systems biology: New frontiers open to predictive microbiology*. International Journal of Food Microbiology, 2008. 128: p. 16–21.
57. Patrice, Buche. Juliette, Dibia-Barthélemy. Ollivier, Haemmerlé. Rallou, Thomopoulos. *Fuzzy concepts applied to the design of a database in predictive microbiology*. Fuzzy Sets and Systems, 2006. 157: p. 1188 – 1200.
58. Codex Alimentarius Commission 1998 Draft *Principles and Guidelines for the Conduct of Microbiological Risk Assessment*. ALINOR99/13^a.
59. Lund, B. M. y S. H. W. Notermans. *Potential hazards associated with REPFEDs*, In A.H.W. Hauschild and K.L. Dodds (ed.), Clostridium botulinum: ecology and control in foods 1992. p. 279-301.. Marcel Dekker, Inc., New York.
60. Shapton D.A. and Shapton N.F. 1991. *Principles and practices for the safe processing of foods*. Ed. Shapton D.A. and Shapton N.F.. Butterworth Heinemann, Oxford, UK.
61. Jordi Ferrer, Clara Prats , Daniel López , Josep Vives-Rego. *Mathematical modelling methodologies in predictive food microbiology: A SWOT analysis*. International Journal of Food Microbiology, 2009. 134: p. 2–8.
62. B. Leporq, J.-M. Membre', C. Dervinb, P. Bucheb, J.P. Guyonnet. *The Sym PreviousQ software, a tool to support decisions to the foodstuff safety*. International Journal of Food Microbiology, 2005. 100: p. 231– 237.
63. Karl McDonald, Da-Wen Sun. *Predictive food microbiology for the meat industry: a review*. International Journal of Food Microbiology, 1999. 52: p.1–27.
64. Jeanne-Marie Membré a, Ronald J.W. Lambert. *Application of predictive modelling techniques in industry: From food design up to risk assessment*. International Journal of Food Microbiology, 2008. 128: p.10–15.
65. Régis Pouillot , Meryl B. Lubran. *Predictive microbiology models vs. modeling microbial growth within Listeriamonocytogenes risk assessment: What parameters matter and why*. Food Microbiology, 2011. 28: p. 720 -726.
66. Karina J. Versyck, Kristel Bernaerts, Annemie H. Geeraerd, Jan F. Van Impe. *Introducing optimal experimental design in predictive modeling: A motivating example*. International Journal of Food Microbiology, 1999. 51: p. 39–51.
67. Isabel Walls, Virginia N. Scott. Use of predictive microbiology in microbial food safety risk assessment. International Journal of Food Microbiology, 1997. 36: p. 97-102.