

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**



**“MODELOS SUGERIDOS COMO HERRAMIENTAS PARA LA MICROBIOLOGÍA
PREDICTIVA EN LA INDUSTRIA DE LOS ALIMENTOS”**

MYRIAM EVELYN GUTIÉRREZ BARBERENA

**MAESTRÍA EN GESTIÓN DE LA CALIDAD CON ESPECIALIDAD EN INOCUIDAD DE
ALIMENTOS**

GUATEMALA, MARZO 2011

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**



**“MODELOS SUGERIDOS COMO HERRAMIENTAS PARA LA MICROBIOLOGÍA
PREDICTIVA EN LA INDUSTRIA DE LOS ALIMENTOS”**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR
MYRIAM EVELYN GUTIÉRREZ BARBERENA**

**PARA OPTAR AL GRADO DE
MAESTRÍA EN GESTIÓN DE LA CALIDAD CON ESPECIALIDAD EN INOCUIDAD DE
ALIMENTOS**

GUATEMALA, MARZO 2011

**JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

ÓSCAR MANUEL CÓBAR PINTO, Ph.D.	DECANO
LIC. PABLO ERNESTO OLIVA SOTO, M.A.	SECRETARIO
LICDA. LILLIAN RAQUEL IRVING ANTILLÓN	VOCAL I
LICDA. LILIANA VIDES DE URIZAR	VOCAL II
LIC. LUIS ANTONIO GALVEZ SANCHINELLI	VOCAL III
BR. JOSE ROY MORALES CORONADO	VOCAL IV
BR. CECILIA LISKA DE LEON	VOCAL V

**CONSEJO ACADÉMICO
ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

ÓSCAR MANUEL CÓBAR PINTO, Ph.D.
LICDA. ANNE MARIE LIERE DE GODOY, MSc.
DR. JORGE LUIS DE LEÓN ARANA
DR. JORGE ERWIN LÓPEZ GUTIÉRREZ
LIC. FÉLIX RICARDO VÉLIZ FUENTES, MSc.

AGRADECIMIENTOS

AGRADEZCO

A DIOS

A MIS PADRES Por su apoyo y paciencia.

A MI HERMANO Por estar siempre pendiente de mí.

A MI ASERORA Licda. Alma Patricia Maldonado Arriola, MSc.

A MI REVISOR M.V. Federico Joaquín Villatoro Paz, MSc.

A Mis compañeros y amigos de promoción David, Andrea, Aylin, Julia, Edwin, Mayra, Alejandra, Carol, Dennise, Any, Martita, Ade, Majo y Gloria

A Alexsander Garzona

A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE DE UNA U OTRA FORMA PARTICIPARON EN LA REALIZACIÓN DEL PRESENTE TRABAJO.

A TODOS USTEDES MIL GRACIAS

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. DEFINICIÓN DE PROBLEMA	3
3. JUSTIFICACIÓN	4
4. MARCO TEÓRICO.....	5
4.1. PRODUCTOS ALIMENTICIOS.....	5
4.2. VIDA DE ANAQUEL	8
4.3. MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS.....	8
4.3.1. <i>Condiciones ambientales y crecimiento bacteriano</i>	9
4.3.2. <i>Fases de crecimiento bacteriano</i>	9
4.4. PRINCIPALES MICROORGANISMOS QUE AFECTAN LOS ALIMENTOS	10
4.5. ¿QUÉ ES MICROBIOLOGÍA PREDICTIVA?	12
4.6. MICROBIOLOGÍA PREDICTIVA EN GUATEMALA	12
4.7. MODELOS PREDICTIVOS.....	13
4.8. APLICACIÓN DE LA MICROBIOLOGÍA PREDICTIVA.....	13
5. OBJETIVOS	14
6. DESARROLLO DEL TRABAJO.....	15
6.1. CLASIFICACIÓN DE LOS MODELOS	15
6.1.1. <i>Cinética y modelos de probabilidad</i>	15
6.1.2. <i>Modelos empíricos o matemáticos</i>	16
6.1.3. <i>Modelos primarios, secundarios y terciarios</i>	16
6.2. DESARROLLO DE DATOS, RECOLECCIÓN DE DATOS Y VALIDACIÓN DE LOS MODELOS....	19
6.2.1. <i>Desarrollo de datos</i>	19
6.2.2. <i>Recolección de datos</i>	19
6.2.3. <i>Validación</i>	19
6.3. APLICACIONES DE LA MICROBIOLOGÍA PREDICTIVA.....	20
6.3.1. <i>Análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP)</i>	20
6.3.2. <i>Evaluación de riesgos</i>	20
6.3.3. <i>Estudios microbiológicos de vida de anaquele</i>	21
6.3.4. <i>Diseño y desarrollo de productos</i>	21
6.4. ACCESO A MODELOS PREDICTIVOS.....	21
6.4.1. <i>ComBase</i>	22
6.4.2. <i>Pathogen modeling program (PMP) (Programa de modelado de patógenos)</i> ...	23
6.4.3. <i>Growth predictor & perfringens predictor (Pronosticador de crecimiento y pronosticador de Perfringens)</i>	24
6.4.4. <i>Seafood spoilage predictor software, Danish Institute for Fisheries Research (SSSP) (Pronosticador del deterioro de mariscos)</i>	25
6.4.5. <i>Sym'Previous (Base de datos y software predictivo integrado, en francés)</i>	26
7. METODOLOGÍA.....	27
8. RESULTADOS	28
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	29

10. CONCLUSIONES	30
11. RECOMENDACIONES.....	31
12. REFERENCIAS.....	32
13. ANEXOS.....	35
13.1. ANEXO 1	35
13.2. ANEXO 2	37

RESUMEN

La microbiología predictiva es la aplicación de modelos matemáticos que permiten predecir la vida de anaquel de un producto, al conocer su composición y condiciones bajo las cuales se maneja. Es una herramienta que permite determinar la vida de los productos en proceso de diseño y desarrollo, o si ha habido una modificación intencional o no en el proceso de los mismos.

Según entrevistas efectuadas con varios especialistas en microbiología de los alimentos en Guatemala, se deduce que sí tienen conocimiento de la microbiología predictiva, pero no lo aplican como tal. Algunos de los especialistas mostraron interés en conocer estos modelos y saber en dónde acceder para hacer uso de estos modelos. Además, se determinó que varias empresas productoras de alimentos buscan soporte de los laboratorios de microbiología de alimentos en la realización de los análisis para la determinación de la vida de anaquel de sus productos. Dichos análisis conllevan tiempo y dinero.

La microbiología predictiva es una herramienta de apoyo que se puede aplicar en la implementación del sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP, por sus siglas en inglés), en la evaluación de riesgo para la elaboración de políticas alimentarias, en la capacitación, en la determinación de vida de anaquel, en el diseño y desarrollo de productos, entre otros. De esta manera, se reduce el tiempo y dinero invertidos en los análisis microbiológicos, lo que hace que se convierta en una herramienta invaluable.

En la actualidad existe gran disponibilidad de literatura relacionada con el tema, donde se describen variedad de modelos microbiológicos, los cuales se clasifican en primarios, secundarios y terciarios. Los recomendados para la aplicación en la industria son los modelos terciarios, dentro de los cuales se pueden encontrar varios paquetes de software que han sido desarrollados por organizaciones en Estados Unidos de Norteamérica y Europa, como una herramienta de apoyo a la industria de alimentos. Dentro de los paquetes disponibles se encuentran: ComBase, Pathogen Modeling Program, Growth Predictor & Perfringens Predictor, Seafood Spoilage Predictor Software, Danish Institute for Fisheries Research y Sym'Previus. Todos ellos disponibles en Internet.

1. INTRODUCCIÓN

A los estudios de estabilidad de los productos alimenticios se pueden aplicar modelos matemáticos que son una herramienta de la microbiología de alimentos. En la industria de alimentos, es una estrategia de mercadeo el realizar procedimientos de diseño y desarrollo de productos, otras veces se tienen que hacer modificaciones intencionales en el proceso o formulación de los mismos; por lo que contar con dichos modelos resulta de utilidad para agilizar la toma de decisiones.

Actualmente entre los profesionales entrevistados, quienes se dedican a la microbiología de los alimentos, tienen algún conocimiento del término microbiología predictiva, pero no se aplican como tal. Algunas empresas productoras de alimentos solicitan a los laboratorios de microbiología de alimentos la determinación del tiempo de vida de sus productos, para lo cual éstos han implementado diferentes metodologías. En algunos laboratorios se observa la utilización de cámaras de estabilidad donde el producto se somete a temperaturas más elevadas y de esta manera se provoca la aceleración de la vida de anaquel de los mismos. En general, las evaluaciones realizadas en la determinación de vida de anaquel se hacen en tiempo real.

Con el presente trabajo se pretende conocer algunos modelos predictivos aplicables en la microbiología predictiva en el ámbito mundial para poner a la disposición de los profesionales especializados en microbiología de alimentos una fuente de información que los ayude a implementar un sistema alternativo para la determinación de la vida de anaquel de los alimentos.

2. DEFINICIÓN DE PROBLEMA

La determinación de vida de anaquel de los productos alimenticios es un tema controversial. Son varios los productores de alimentos que buscan la microbiología para que les permita determinar la vida de anaquel de sus productos y de esta manera cumplir con la legislación. En el caso de productos para consumo interno en Guatemala, se utilizan como referencia las normas de especificaciones de productos de la Comisión Guatemalteca de Normalización (COGUANOR) y en el ámbito regional e internacional se trabaja con los Reglamentos Técnicos Centroamericanos (RTCA), *Codex Alimentarius* o la legislación del país destino de los productos. Al final, la gran mayoría de productores utilizan como referencia el tiempo de vida de productos similares a los propios.

En el medio guatemalteco es un poco aventurado mencionar la microbiología predictiva, debido a que existe la costumbre de trabajar en forma empírica. No se realizan investigaciones ni estudios sobre el tema que permitan inferir la determinación del tiempo de vida de los alimentos. Este tema se debe manejar por personas con experiencia y conocimientos amplios en microbiología de los alimentos.

Los modelos microbiológicos predictivos son una herramienta que puede orientar en el sentido propuesto, pero pueden ser susceptibles a error y ajuste, por lo que es muy importante comprender que éstos requieren de validación y no eliminando en su totalidad los estudios microbiológicos de vida de anaquel de los productos; solamente son una herramienta de soporte.

Al no disponer de estos modelos predictivos ya validados a nivel local, es necesario realizar estudios microbiológicos para determinar la vida de anaquel de los productos en desarrollo o de los que se someten a algún cambio de formulación o de proceso. Esto conllevaría a la elevación de los costos de investigación y desarrollo de los productos nuevos.

Los especialistas en microbiología de alimentos entrevistados conocen del uso de modelos matemáticos como herramientas para predecir la vida de anaquel de los mismos, y algunos mostraron interés en poder contar con la información que los oriente en cómo y dónde acceder a dichos modelos.

3. JUSTIFICACIÓN

La microbiología predictiva es una modalidad dentro de la microbiología de los alimentos que ha estimulado el interés de muchos investigadores, ya que permite predecir cómo será el crecimiento de un determinado microorganismo patógeno o deteriorante, bajo condiciones definidas y permite determinar de esta forma, la vida útil de un alimento. Por lo tanto, la microbiología predictiva se convierte en una herramienta económica y rápida para satisfacer este objetivo. La vida corta de anaquel de los productos perecederos, hace necesario crear modelos que permitan de manera efectiva y simple predecirla dentro de cierto rango de confiabilidad.

4. MARCO TEÓRICO

4.1. PRODUCTOS ALIMENTICIOS

Dentro de la industria de los alimentos se encuentran productos procesados y no procesados, los cuales presentarán diferentes tiempos de vida. Por ejemplo, los productos frescos que pueden tener desde días de vida de anaquel, hasta productos envasados con dos años de caducidad. Existe una amplia variedad de productos alimenticios desde carne de res, cerdo, aves (Fotos 1 y 3), pescado y sus derivados (Foto 11), mariscos, crustáceos y moluscos, huevos y derivados, leche y derivados (Foto 2), grasas comestibles, cereales (Foto 8), leguminosas, tubérculos y derivados, hortalizas y verduras (Fotos 4 y 5), hasta conservas animales y vegetales (Foto 13) platos preparados, aguas, hielo y helados.

Todos los alimentos están expuestos a deterioro en mayor o menor grado. Por lo tanto, se clasifican en: perecederos (Fotos 1, 2, 3, 4 y 5), semiperecederos (Fotos 6, 7, 8, 9 y 13) y estables (Fotos 10, 11, 12 y 14). Los alimentos perecederos son aquellos que se deterioran fácilmente. Los semiperecederos permanecen estables durante cierto tiempo pero, si lo sobrepasan, se deterioran. Los alimentos estables son los que conservan sus buenas condiciones durante un tiempo prolongado.



Foto 1



Foto 2



Foto 3



Foto 4



Foto 5



Foto: Secret Tenerife

Foto 6



Foto 7



Foto 8



Foto 9



Foto 10



Foto 11



Foto 12



Foto 13



Foto 14

4.2. VIDA DE ANAQUEL

Esencialmente, la vida de anaquel de un alimento depende de cuatro condiciones principales que son: formulación del alimento, procesado, condiciones del empaquetado y almacenamiento del mismo (Espinoza, A., Leija, M, Amaya, C.A., Vela M.M y Rodriguez J.A. (s.f.)).

La compra de los alimentos frescos o recién elaborados es una de las características más valoradas por el consumidor. Generalmente, la frescura de un producto se asocia a la calidad y ésta a la inocuidad. Al consumidor le preocupa el tiempo que dispone para almacenar el producto en su hogar antes de su deterioro. Paralelamente, a la industria alimentaria también le preocupa el tiempo que puede tener expuesto el alimento. Para ambos sectores, el cuidado de la inocuidad de los alimentos es un requisito primordial.

La vida útil de un alimento indica el tiempo que transcurre desde su cosecha y elaboración hasta su deterioro y factores como la temperatura, la luz o el oxígeno, pueden hacer variar esta cifra.

Todas las agresiones que puede sufrir un alimento deben ser controladas mediante técnicas de conservación como son la refrigeración o congelación, entre otras. Gracias a éstas, el alimento se puede conservar en buen estado durante un período más o menos largo, que cualquier persona puede conocer a través de la fecha de caducidad o de consumo preferente. Esta fecha va dirigida a aquellos productos más perecederos, es decir, con mayores riesgos de contaminación para la salud humana, por ejemplo, los cárnicos.

4.3. MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

Los microorganismos compiten con nosotros por los alimentos, los cuales son la fuente de energía para sustentar los procesos metabólicos y la vida en sí. Los microorganismos, se clasifican en los grupos siguientes: bacterias, rickettsias, virus, priones, levaduras y mohos, y parásitos. Estos pueden deteriorar los alimentos de dos formas fundamentales, la primera en forma saprófita, simplemente deteriorándolos al crecer en ellos, alterando sus propiedades organolépticas como color, olor, textura, sabor y apariencia. La segunda es contaminándolos o produciendo toxinas de forma que puedan originar problemas a la salud pública mediante enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA). Los microorganismos no siempre son dañinos y muchas veces se utilizan para la fabricación y conservación de alimentos como en el caso de las fermentaciones para la elaboración de

productos de panificación, quesos, vinos, cervezas, alcoholes, repollo ácido, pepinos y otros productos fermentados, así como en fermentaciones industriales diversas (Barreiro, J.A. y Sandoval A.J., 2006).

4.3.1. Condiciones ambientales y crecimiento bacteriano

Aunque en el medio se encuentren todas las sustancias requeridas nutricionalmente, el crecimiento y desarrollo microbiológico depende de aquellos factores externos que le permiten a la bacteria desempeñar sus funciones. A estos factores externos se les conoce como determinantes ecológicos o condicionantes fisicoquímicos. Los principales son: humedad, oxígeno, anhídrido carbónico, temperatura, pH, productos metabólicos bacterianos, presión osmótica (De La Rosa, M., y Prieto, J., 2003, p. 66). La presencia de ciertas sales minerales (de magnesio, manganeso, hierro, potasio y calcio) es indispensable para el crecimiento de un microorganismo y otras se requieren en cantidades pequeñas (Rodríguez, E.R., Gamboa, M.M., Hernández, F. y García, J.D., (2005)).

4.3.2. Fases de crecimiento bacteriano

- FASE DE LATENCIA: Período de adaptación antes de comenzar a multiplicarse.
- FASE EXPONENCIAL: La multiplicación bacteriana se acelera enormemente, y en cada generación se producen un número de bacterias proporcional a las existentes.
- FASE ESTACIONARIA: Se alcanza cuando se consumen los elementos nutritivos y el número de bacterias se mantiene estable.
- FASE DE DECLIVE: Las bacterias comienzan a morir (De La Rosa, M., y Prieto, J., (2003)).

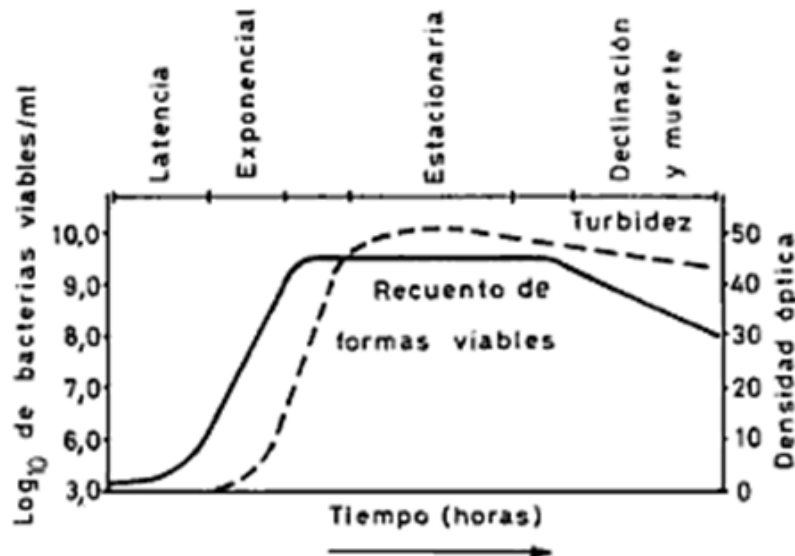


FIG. Distintas fases de la curva de desarrollo bacteriano (Pumarola, A., 1995))

Con el objetivo de conseguir la prevención de enfermedades de origen alimentario, además de impedir el acceso a los alimentos de los microorganismos patógenos,

especialmente las bacterias, se debe controlar su crecimiento y multiplicación (Pascual, M.R., (2005)).

4.4. PRINCIPALES MICROORGANISMOS QUE AFECTAN LOS ALIMENTOS

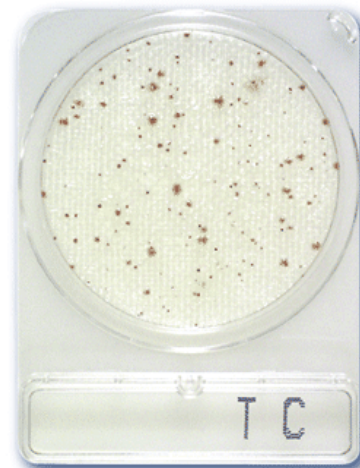
De todos los microorganismos, las bacterias son las que se desarrollan con mayor frecuencia en los alimentos. El segundo lugar, lo ocupan los mohos. Es por ello que la mayor parte de las precauciones de la manipulación y el procesamiento de los alimentos, se dirigen hacia la reducción, eliminación y control de las bacterias.

Como se mencionó anteriormente, los alimentos se pueden ver afectados por microorganismos patógenos como por microorganismos deteriorantes.

Dentro de los microorganismos patógenos se encuentran los que producen la enfermedad por ellos mismos, entre los cuales se pueden mencionar: *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* O157:H7, *Calivirus*, hepatitis A, entre otros. Además, se encuentran los que ocasionan enfermedad por la presencia de sus toxinas, dentro de los que están: *Staphylococcus aureus* (Foto 19) y *Clostridium botulinum*.

Según sea el producto en mención, así será el deterioro que éste pueda sufrir. Dentro de los principales microorganismos deteriorantes se encuentran los géneros *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Leuconostoc*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Lactobacillus*, mohos y levaduras.

Entre las pruebas que se realizan de rutina en la microbiología de alimentos, va a depender del alimento analizado, se puede encontrar el recuento de microorganismos aerobios mesófilos (Fotos 15 y 16), enterobacterias totales, *Escherichia coli* (Foto 20), *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium* sulfito reductores, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* (Foto 17), *Listeria monocytogenes* (Foto 18), mohos y levaduras, entre otros.



Fotos 15 y 16. Recuento total en placa



Foto 17. *Clostridium perfringens*

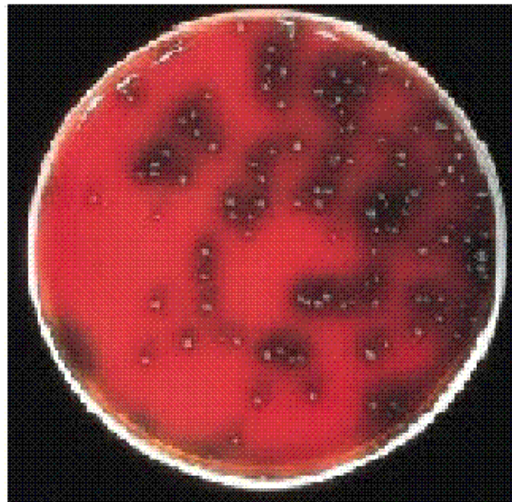


Foto 18. *Listeria monocytogenes*

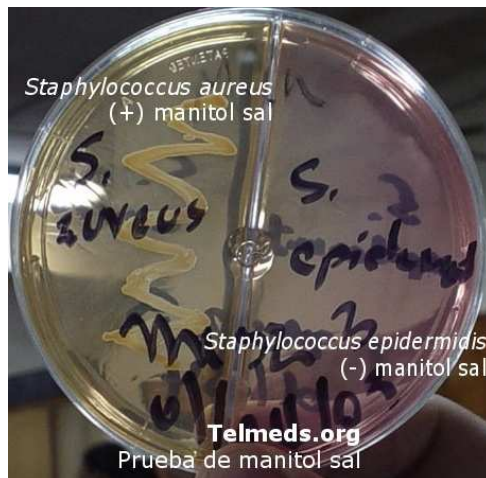


Foto 19. *Staphylococcus* spp.



Foto 20. *Escherichia coli*

4.5. ¿QUÉ ES MICROBIOLOGÍA PREDICTIVA?

Es una descripción de la respuesta de los microorganismos a condiciones ambientales particulares tales como temperatura, pH y actividad de agua. La microbiología predictiva utiliza modelos matemáticos (construidos a partir de datos de pruebas de laboratorio) conocidos como los “modelos predictivos” en software para describir gráficamente esta respuesta.

Las pruebas microbiológicas básicas de laboratorio se utilizan típicamente en la toma de decisiones críticas relacionadas con la inocuidad alimentaria y la vida de anaquel de los productos. El crecimiento, supervivencia e inactivación de los microorganismos en los alimentos son respuestas reproducibles, es por ello que los modelos predictivos sirven para evaluar de forma combinada el efecto de factores ambientales que puedan afectarlos.

4.6. MICROBIOLOGÍA PREDICTIVA EN GUATEMALA

Actualmente en Guatemala se trabaja la determinación de vida de anaquel de productos alimenticios con varias técnicas. En el caso de productos frescos generalmente se realiza en tiempo real. En el caso de productos cuyo tiempo de vida alcanza los seis meses se realizan evaluaciones por tres meses y luego se elabora algún modelo matemático para determinar el comportamiento de la carga microbiológica durante los siguientes tres meses. Por otro lado, se encuentran los productos envasados para los cuales algunos laboratorios trabajan la esterilidad comercial. Este es un método en el cual el producto se expone a una temperatura de 35° C durante 10 días, para determinar su estabilidad.

Algunas empresas de alimentos requieren el apoyo de laboratorios de microbiología de alimentos especializados para la determinación de la vida de sus productos. Existen muchas otras empresas productoras de alimentos que no realizan algún análisis con este fin y únicamente toman como base la vida de productos similares a los propios.

Algunos especialistas muestran cierto escepticismo, así como otros muestran algún interés en conocer los modelos predictivos, cómo obtenerlos y la forma en que se pueden aplicar. Expresan que sería bueno contar con otra herramienta para ofrecerles a sus clientes el apoyo necesario para trabajar la microbiología de sus productos.

4.7. MODELOS PREDICTIVOS

Para elaborar estos modelos se cultivan los microorganismos en medios sintéticos, que se preparan a base de ingredientes de composición química conocida que puede consistir sólo de sales inorgánicas o de éstas además de uno o varios productos orgánicos, como carbohidratos y factores de crecimiento, cuya complejidad está determinada por la capacidad biosintética del microorganismo en cuestión (Rodríguez, E.R., Gamboa, M.M., Hernández, F. y García, J.D., (2005)).

Los modelos predictivos no reemplazan a los análisis de laboratorio o a la capacitación y al juicio de los microbiólogos experimentados. Los modelos predictivos deben ser utilizados con mucha precaución y sólo por personal capacitado y con experiencia, que comprenda las posibilidades y las limitaciones de su uso.

Durante varios años en Estados Unidos, Reino Unido, Dinamarca, Francia, Australia y otros países se han tomado iniciativas para el desarrollo de programas de modelos microbiológicos. Estos programas han resultado en la disponibilidad de una gran variedad de paquetes de software de modelos microbiológicos, los cuales se encuentran en Internet.

4.8. APLICACIÓN DE LA MICROBIOLOGÍA PREDICTIVA

En el desarrollo de productos, los modelos predictivos pueden permitir al productor evaluar la inocuidad y estabilidad de una nueva formulación e identificar aquellas que determinen la vida de anaquel deseada.

Los modelos predictivos también son útiles cuando la vida de anaquel de un producto ha sido determinada, pero luego este producto es objeto de cambios mínimos en el proceso o formulación, de manera planificada o no. En consecuencia, se puede utilizar el modelo predictivo para establecer inicialmente si el cambio afectará la estabilidad y vida de anaquel del producto.

Los modelos predictivos permiten a los formuladores de productos identificar la combinación de los factores que podrían afectar la vida de anaquel deseada. De ser necesario, estas condiciones específicas se pueden ensayar de forma experimental.

El uso de los análisis de laboratorio en la formación del personal resulta prolongado, costoso y poco ilustrativo. Por lo que las gráficas que se utilizan en los modelos predictivos resultan de mucha utilidad para la formación del personal técnico del laboratorio. En el caso de personal no técnico puede ayudar a ilustrarles el motivo por el cual deben realizar de manera correcta su trabajo. En el caso del personal técnico, sería para que tenga una mejor comprensión de las curvas de crecimiento bacteriano.

5. OBJETIVOS

GENERAL

- Conocer la importancia de los modelos predictivos en la implementación de la microbiología predictiva como herramienta en la industria de alimentos.

ESPECÍFICOS

- Conocer los modelos predictivos disponibles en algunos países desarrollados que actualmente se recomienda utilizar.
- Determinar dónde y cómo acceder a estos modelos.

6. DESARROLLO DEL TRABAJO

6.1. CLASIFICACIÓN DE LOS MODELOS

Un modelo predictivo microbiológico de alimentos es una expresión matemática que describe el crecimiento, sobrevivencia, inactivación y procesos bioquímicos de microorganismos transmitidos por los alimentos. En el área de la microbiología predictiva en alimentos hay variedad de esquemas de clasificación. De cualquier manera, todavía se debe decidir un esquema absoluto.

6.1.1. Cinética y modelos de probabilidad

Dentro de un modelo predictivo, el uso de ciertas funciones matemáticas es la base de la clasificación de los modelos. Lo más importante es que un modelo esté basado en cinética y en probabilidad. La elección del enfoque y la aplicación específica están determinadas por el tipo de microorganismo que se espera encontrar y el número de variables que afecta su crecimiento. Los modelos cinéticos predicen la magnitud y velocidad de crecimiento de un organismo.

Los modelos cinéticos pueden diferir en su enfoque. Un enfoque es el modelo de velocidad de crecimiento de un organismo y su uso para la predicción basada en el crecimiento exponencial de dicho microorganismo. Otro enfoque es el encajar a una función sigmoidea o curva de crecimiento microbiana, y luego determinar el efecto de una serie de factores ambientales, como la temperatura. La evaluación de esta curva permite a los investigadores hacer predicciones sobre los microorganismos en particular. En ambos enfoques, los modelos se construyen con la ayuda de una cuidadosa recolección de datos del número de microorganismos, bajo el estudio de criterios intrínsecos y extrínsecos, tales como temperatura, pH y actividad de agua.

Los modelos cinéticos pretenden explicar el tiempo que toma un crecimiento específico, en términos de variables ambientales. Se pueden incluir algunas otras variables como gases en la atmósfera, potencial redox, estructura biológica, humedad relativa, contenido nutricional y propiedades antibacterianas. Los modelos cinéticos son útiles en la predicción del incremento de microorganismos en relación al tiempo. De cualquier manera, los modelos cinéticos pueden ser difíciles de construir y requieren de una gran cantidad de datos de recuentos bacterianos.

La probabilidad es la posibilidad que un evento en particular puede ocurrir en ciertas condiciones, la cual puede ser útil en la microbiología predictiva. Las bases de los modelos de probabilidad combinan la relación que existe entre el crecimiento de células bacterianas y las propiedades físicoquímicas del ambiente. Las probabilidades de crecimiento pueden ayudar al fabricante a reforzar las decisiones en la formulación de su producto, procesamiento, empaque y almacenaje. Los modelos probabilísticos son apropiados para las circunstancias en donde la producción de toxinas pueda afectar los alimentos, pero proveen poca información en relación a la tasa de crecimiento. De cualquier manera, el problema con la probabilidad es que cambia con el tiempo, así que los modelos probabilísticos son una combinación de ambos, probabilidad y cinética.

Se han ilustrado algunos problemas en relación a la microbiología predictiva en alimentos donde existen ciertas implicaciones prácticas en la aplicación de los modelos cinéticos. En

particular en productos cárnicos donde, por ejemplo, las dificultades de obtener datos exactos de las condiciones ambientales como temperatura de ciertos pasos de la producción, específicamente temperatura de enfriamiento de la canal. Variables como la fase de latencia también puede presentar problemas.

Si se indica que se conoce la distribución de la probabilidad, es posible determinar la posibilidad que un microorganismo crezca más rápido que lo pronosticado. De esta manera, los modelos cinéticos pueden describir respuestas de crecimiento constante, pero bajo ciertas condiciones pueden ser necesarios modelos probabilísticos. En condiciones limitantes de crecimiento, en los modelos cinéticos se tienen que considerar la probabilidad de predecir tasas de crecimiento y de no crecimiento.

6.1.2. Modelos empíricos o matemáticos

Los modelos empíricos tales como la función de Gompertz se refieren a la consecuencia práctica y simple de describir los datos en condiciones experimentales en la forma de una relación matemática conveniente. Las ecuaciones polinomiales son el denominador común de los modelos empíricos. Estos modelos son fáciles de usar, directos y no es necesario tener conocimientos del proceso en particular. Éstos no tienen fundamentos teóricos y son no lineales, los cuales son válidos solo para un rango limitado de las variables fundamentales pero que no tienen algún significado biológico. Por eso, los modelos polinomiales no contribuyen al conocimiento de ningún mecanismo bajo algún proceso.

Modelos como éstos podrán representar más mecanismos con precisión y podrán servir como vehículo para obtener predicciones de la hipótesis. Por consiguiente, puede ser posible la interpretación de la respuesta modelada en términos de fenómenos y procesos conocidos. Sería más fácil seguir desarrollando los modelos mecánicamente debido a que la cantidad y calidad de la información aumenta en los sistemas analizados.

La mayoría de los investigadores coinciden en que los modelos matemáticos son superiores a los modelos empíricos. Actualmente, los modelos disponibles son tanto los empíricos como los matemáticos. Si estos modelos se van a seguir utilizando, es aconsejable que se desarrollen modelos que reflejen los conocimientos reales de la dinámica microbiana y que contribuyan a proporcionar datos cualitativos. Sin embargo, con el uso de técnicas microbiológicas más precisas, la demanda de los modelos de crecimiento empírico podría disminuir.

6.1.3. Modelos primarios, secundarios y terciarios

En 1992 Davay sugirió el uso de terminología para los modelos que diera significado a la descripción y desarrollo de los mismos. Whiting y Buchanan en 1993 propusieron un esquema que clasifica la mayor parte de tipos de modelos en primarios, secundarios y terciarios. En la Tabla 1 se presentan los diferentes esquemas de clasificación, los cuales tienen ventajas y desventajas.

TABLA 1. CLASIFICACIÓN DE ALGUNOS MODELOS UTILIZADOS

Modelos primarios	Modelos secundarios	Modelos Terciarios
Función de Gompertz	Modelo Belehradek (modelo de raíz cuadrada)	PMP USDA
Gompertz modificada	Modelo Ratkowsky (modelo de raíz cuadrada)	Micromodelo de alimentos
Modelo logístico	Modelo de Arrhenius	Predictor de <i>Pseudomonas</i>
Modelo Baranyi	Modelo modificado de Arrhenius (Davey o Schoolfield)	Sistema experto
Modelo de primer orden	Modelos probabilísticos	
Modelo de primer orden modificado	Valores Z	
Valores D de inactivación térmica	Polinomiales o respuesta	
Modelo de declinación de crecimiento de Whiting y Cygnarowicz	Modelos de superficie	
Modelo lineal de tres fases	Modelo de William-Landel Ferry	

Los modelos primarios describen los cambios en el número de bacterias en función del tiempo, bajo ciertas condiciones ambientales y de cultivo. La respuesta puede ser medida directamente mediante el recuento de colonias viables, formación de toxina, nivel de sustrato o productos metabólicos o indirectamente por absorbancia o densidad óptica. Si la curva de crecimiento de una bacteria se monitorea registrando la forma en que los recuentos de colonias cambian, con el tiempo los datos se pueden trazar usando un modelo primario. Esto puede generar información sobre los microorganismos como tiempo generacional, duración de la fase, la tasa de crecimiento exponencial y la densidad poblacional máxima.

Los modelos secundarios describen la respuesta a una o más variables de un modelo primario modificando, por uno o más cambios en el cultivo o en las condiciones ambientales (pH, actividad de agua, temperatura). Por ejemplo, si el efecto de la temperatura en el crecimiento de *Salmonella typhimurium* en carne entre 15 y 40° C fuera investigado, el organismo crecería a un número de temperaturas en este rango. Para cada temperatura, se podría calcular un tiempo de generación usando un modelo primario. Entonces, se coloca este dato usando un modelo secundario, para que ese efecto de la temperatura sea descrito por una ecuación matemática. Esto permite que el usuario determine el tiempo de generación que se observará a la temperatura T.

Los modelos terciarios básicamente llevan a los modelos a su forma final. Éstos son aplicación de uno o más modelos primarios y secundarios, incorporados en un paquete de software de computadora. En estos modelos se han incorporado varias funciones integradas tales como temperatura, actividad de agua o pH.

Existe gran variedad de software de modelos microbiológicos disponibles. En Estados Unidos, el Departamento de Agricultura (USDA), por medio de la Unidad de Investigación de Inocuidad Alimentaria ha desarrollado The Pathogen Modeling Program (Programa de Modelado de Patógenos, PMP).

Posteriormente, se creó otro paquete que analiza *Pseudomonas* como deteriorante. El Pronosticador de *Pseudomonas* fue creado por un grupo de científicos de la Universidad de Tasmania en Australia. Este paquete es una base de datos que se puede utilizar para predecir el crecimiento de diferentes especies de *Pseudomonas*. Adicionalmente, tiene la capacidad de cuantificar los efectos de la temperatura de almacenaje de los productos lácteos y puede predecir cuán rápido crecerá la *Pseudomonas*. Además, puede correlacionar la vida de anaquel a su historial de temperatura.

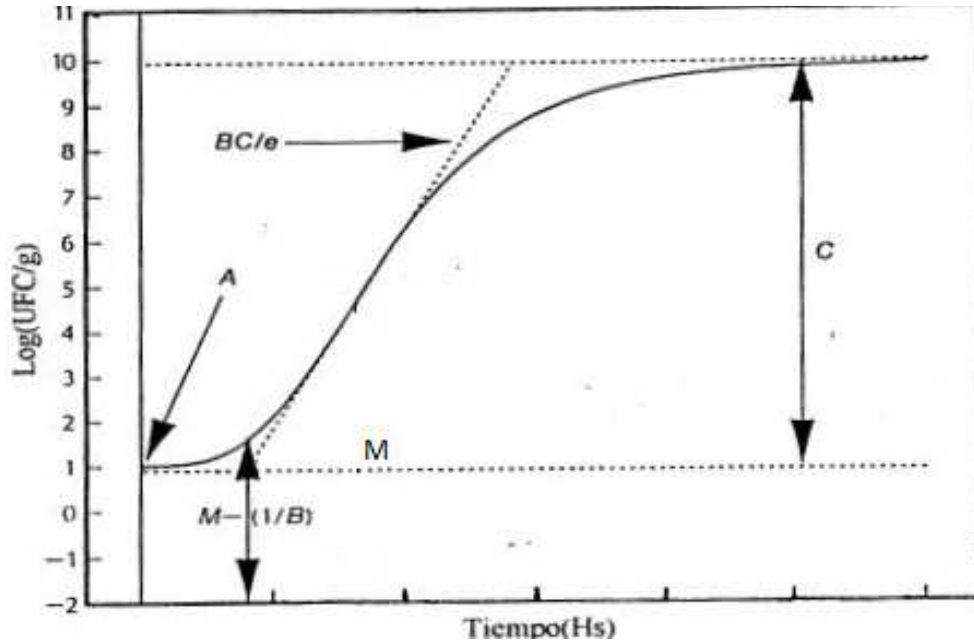
Aparentemente, existen muchísimos programas de modelos disponibles para predecir este fenómeno. Ningún sistema de clasificación es superior a los otros. A pesar de todos estos paquetes, no se puede garantizar que los valores predichos lleguen a coincidir con

los observados en sistemas microbiológicos específicos. Los científicos coinciden con que las predicciones de varios paquetes pueden concordar razonablemente con los resultados de la literatura y los experimentos prácticos (McDonalds, K. y Sun, D.W. 1999).

6.1.3.1. Ejemplos de modelos primarios

- **MODELO DE GOMPERTZ**

La ecuación de Gompertz es una función doble exponencial basada en cuatro parámetros que se describen en una curva sigmoidea asimétrica.



$$\text{Log } N = A + C * e^{(-e^{-B*(t-M)})}$$

Donde:

- $\log N$ es logaritmo decimal del número de microorganismos al tiempo t ,
- A es el valor asintótico cuando el tiempo decrece indefinidamente (aproximadamente equivalente al logaritmo decimal del número inicial de microorganismos),
- C representa el incremento en el logaritmo del número de microorganismos cuando el tiempo se incrementa indefinidamente (número de ciclos de crecimiento),
- B es la velocidad de crecimiento máxima relativa al tiempo M y
- M es el tiempo requerido para alcanzar la máxima velocidad de crecimiento.

- **MODELO LOGÍSTICO**

Cuya expresión matemática es:

$$\log N = A + \frac{C}{1 + e^{(D-F*t)}}$$

Donde:

- $\log N$, A y C son similares a los definidos en la ecuación anterior,
- D es un parámetro adimensional y
- F es la velocidad de crecimiento relativa al tiempo medio de la fase exponencial.

6.2. DESARROLLO DE DATOS, RECOLECCIÓN DE DATOS Y VALIDACIÓN DE LOS MODELOS

6.2.1. Desarrollo de datos

En el desarrollo de un modelo, es esencial conocer los requisitos del modelo. El experimento se debe diseñar de manera que se aproveche de la mejor forma el tiempo y los recursos. Los requisitos de los modelos pueden depender de qué necesita el modelador para comprender el efecto de las variables sobre los microorganismos, o los límites máximos y mínimos de preservación o crecimiento. Debido a la variabilidad de ambos, tanto de los microorganismos como del producto en sí, requiere que el experimento sea diseñado para cubrir lo más que se pueda esta variabilidad. Muchos usan una mezcla de cultivos de las cepas más comúnmente encontradas en sus experimentos con los alimentos. De esta manera, la forma en que se dé la predicción de crecimiento y supervivencia, corresponderá al de la cepa de crecimiento más rápido. Una estrategia general para el diseño de experimentos para modelos predictivos en microbiología es:

- Definir el objetivo del experimento
- Listar las variables
- Definir las variables más importantes
- Determinar el rango de estas variables
- Encontrar los óptimos microbianos

6.2.2. Recolección de datos

El desarrollo del modelo requiere la generación de datos de experimentación bajo condiciones controladas y conocidas. Mientras mayor sea la cantidad de datos recolectados, mayor será el carácter predictivo y la confiabilidad del modelo derivado de ellos. Para encajar en los modelos primarios y, consecuentemente en los secundarios, se deben recolectar los datos durante todo el período de crecimiento y frecuentemente se deben crear cientos de curvas primarias de crecimiento. Los experimentos de muchas variables pueden durar meses. Los métodos de recolección de datos varían entre investigadores, pero el método estándar es el recuento total de colonias viables; éste es un método laborioso. Muchos investigadores usan métodos de recolección de datos automatizados, pero estos métodos pueden tener un alto riesgo de una interpretación errónea de los recuentos.

6.2.3. Validación

Tras el desarrollo de modelos usando datos experimentales, estos modelos se deben validar en situaciones reales. Esto es crítico para poder tener confianza en ellos. La validación de estos estudios debe demostrar que los microorganismos se comportan de manera semejante tanto en el laboratorio como en los sistemas reales. La validación de

modelos se puede llevar a cabo en relación a los resultados publicados, pero esta propuesta puede estar limitada por datos insuficientes o inapropiados. Muchos usan medios de cultivo de laboratorio para desarrollar y validar modelos bajo condiciones estáticas. Algunas veces se encuentran desviaciones de las predicciones desarrolladas usando estos modelos, pero eso no significa que el modelo sea deficiente. Los usuarios de modelos específicos deben estar conscientes de las limitaciones en funcionamiento del modelo y comprender el rango de aplicación del mismo. En la práctica, el problema no es necesariamente qué tan bien los datos del modelo encajan, sino la exactitud con la que imitan la respuesta microbiana. Algunos alimentos se exponen a variables que no han sido validadas y esto podría afectar el crecimiento de los patógenos específicos. En estos casos, se debe evaluar un modelo para asegurar la suficiente exactitud.

Como las variaciones son comunes en los alimentos con composición compleja, muchos investigadores han expresado la necesidad de validar modelos directamente de alimentos de este tipo, como los productos cárnicos. Debido a que hay componentes presentes en la carne, que no se encuentran en los medios de cultivo de laboratorio, lo que resulta en un cambio en el medio ambiente de los microorganismos originales, que puede afectar significativamente el crecimiento bacteriano.

6.3. APLICACIONES DE LA MICROBIOLOGÍA PREDICTIVA

El rápido desarrollo de modelos microbiológicos y su habilidad para predecir el crecimiento bacteriano hace de los modelos una herramienta de investigación invaluable. El uso de estos modelos puede proporcionar información, pero es importante apreciar los valores reales que permitan establecer la utilidad de los modelos predictivos. Además, es necesario señalar que su aplicación no puede reemplazar a los análisis microbiológicos, ni la experiencia técnica, ni el juicio de los microbiólogos capacitados en este campo.

6.3.1. Análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP)

La implementación de HACCP en la industria de alimentos requiere de la habilidad de manejar cuantitativamente una amplia variedad y rango de variables que afectan la inocuidad de los alimentos. La microbiología predictiva es un método cuantitativo que se emplea para describir las variables que afectan el crecimiento microbiano y en conjunto con el HACCP, han sido desarrolladas como herramientas para la inocuidad de los alimentos. Existen modelos predictivos que tienen un uso potencial en el desarrollo y mantenimiento de los sistemas HACCP. Los modelos pueden ayudar en el análisis de peligros *a priori* en la identificación y el establecimiento de los puntos críticos de control, y en las acciones correctivas que se tengan que establecer. Estos modelos también pueden resultar útiles en la implementación de HACCP en las fases tempranas del desarrollo de un producto, evaluando la severidad del riesgo del uso de cierta materia prima.

La combinación de HACCP y de los modelos predictivos es lo que ofrece a la industria de alimentos un acercamiento sistemático para los cálculos cuantitativos, cuando sea necesario. La microbiología predictiva puede ser tomada como una extensión del HACCP.

6.3.2. Evaluación de riesgos

La evaluación de riesgos es una herramienta analítica que se emplea para establecer prioridades en las políticas alimentarias. Los modelos predictivos sirven para calcular la

posibilidad que un alimento cause o no enfermedad. Para obtener información acertada es necesario conocer la carga de patógenos presentes en el producto, la dosis, la cinética de crecimiento del patógeno y la cantidad de alimento consumido. Los niveles de microorganismos pueden variar en todos los pasos del proceso, debido a la existencia de gran cantidad de variables interrelacionadas. Se puede utilizar la microbiología predictiva para estimar los cambios en la carga bacteriana.

Los modelos empleados para el análisis de riesgos pueden apoyar a los productores de alimentos, procesadores y las entidades reguladoras en la toma de decisiones relacionadas con la inocuidad, las cuales afectan a la salud pública.

6.3.3. Estudios microbiológicos de vida de anaquel

Los modelos predictivos que integran el comportamiento bacteriano con otras variables dentro del proceso de producción de alimentos son útiles para la determinación de vida de anaquel de los productos. La determinación de la vida de anaquel es un tema complejo y difícil de predecir, debido a los efectos de las variables de almacenaje y al abuso de las condiciones que el producto pueda experimentar.

El gran número de agentes deteriorantes encontrados en los productos alimenticios, implica que los modelos de estos agentes sean más difíciles de desarrollar que los modelos para patógenos y su aplicación sea más limitada. En estos modelos también se debe considerar toda la cadena de producción del alimento. Se necesitan datos certeros de la materia prima utilizada, formulación, técnicas de producción, condiciones higiénicas, empaque, almacenaje, condiciones de distribución y manejo por el consumidor final. Únicamente cuando todas estas áreas se hayan tomado en cuenta, será posible predecir la vida de anaquel.

6.3.4. Diseño y desarrollo de productos

El cambio en la composición de un producto o en la producción del mismo puede tener efectos significativos en la carga microbiana y en el crecimiento de los microorganismos. La microbiología predictiva puede dar pautas para evaluar rápidamente las consecuencias de cualquier cambio, pero no se puede evitar la necesidad de otras pruebas, solamente reducirlas. Adicionalmente, se pueden evaluar los problemas en la producción de productos ya existentes. Los modelos permiten al productor tomar decisiones para utilizar, destruir, reutilizar o retener un producto y para realizar los análisis necesarios.

6.4. ACCESO A MODELOS PREDICTIVOS

Luego de una revisión exhaustiva en libros, revistas científicas y otras fuentes de información, se llegó a establecer que Internet ofrece una opción fácil, directa y sencilla de acceder a los modelos predictivos. Los sitios de Internet en los que se encontraron estos modelos se listan a continuación:

- ComBase
<http://www.combase.cc/>
- Pathogen Modeling Program (Programa de Modelado de Patógenos)
<http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=6786>

- Growth Predictor & *Perfringens* Predictor (Pronosticador de crecimiento y Pronosticador de *Perfringens*)
<http://www.ifr.ac.uk/Safety/GrowthPredictor/>
- Seafood Spoilage Predictor Software, Danish Institute for Fisheries Research (Software Pronosticador de deterioro de mariscos, del Instituto de Investigación de Productos Acuícolas de Dinamarca)
<http://www.dfu.min.dk/micro/ssp/>
- Sym'Previus (Base de datos y software predictivo integrado, en francés)
<http://www.symprevius.net/>

6.4.1. ComBase

La iniciativa de ComBase, es una colaboración entre la Agencia de Estándares de Alimentos (FSA) y el Instituto de Investigación en Alimentos (IFR) del Reino Unido; el Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA ARS) y su Centro Regional del Oriente (ERRC) y el Centro Australiano de Excelencia en Inocuidad Alimentaria.

El propósito de las agencias mencionadas es convertir los datos y las herramientas predictivas en respuestas microbianas en el ambiente de los alimentos, mediante un software disponible gratuitamente vía Internet. La base de datos ComBase (accesible por el Buscador del ComBase) consta de miles de curvas microbianas de crecimiento y supervivencia, que han sido cotejadas en los institutos de investigación y en las publicaciones. Estas curvas constituyen la base de numerosos modelos microbianos presentados en el ComBase Predictor, una herramienta útil para la industria, la academia y los organismos o las agencias reguladores. Éstos pueden ser utilizados en el desarrollo de nuevas tecnologías alimentarias que mantengan la inocuidad de los alimentos, en la enseñanza e investigación, en la estimación de los riesgos microbianos en los alimentos o en el establecimiento de nuevas guías o normas.

ComBase es una base de datos que contiene información acerca de cómo responden los microorganismos a diferentes ambientes. La información en ComBase es referida como datos "microbiológicos cuantitativos", ya que describe de qué forma los niveles de los microorganismos, tanto los deteriorantes como los patógenos, cambian en el transcurso del tiempo. La meta principal del consorcio de ComBase es mejorar la eficiencia para localizar información microbiológica específica, proporcionar un medio más rápido para comparar los datos de diferentes laboratorios, y reducir la redundancia innecesaria al realizar estudios microbiológicos.

Al utilizar una interfase de Internet, el usuario identifica los criterios que interesan para un escenario específico en el contexto de la microbiología de los alimentos. Esto incluye la identificación de un tipo o especie de microorganismo, del tipo o clase de alimento, el pH, la temperatura, la actividad de agua o la concentración de NaCl, y las condiciones específicas de un alimento. Alternativamente, los usuarios de ComBase están interesados en obtener los datos donados por una fuente específica (publicaciones, organización o investigador).

El lanzamiento de la versión del Internet de ComBase ocurrió en junio de 2003. Desde entonces, la base de datos ha sido ampliada a 50,474 datos registrados.

6.4.2. Pathogen modeling program (PMP) (Programa de modelado de patógenos)

El Departamento de Agricultura de EE.UU., Servicio de Investigación Agrícola (ARS-USDA) produjo el PMP, mediante el Centro de Investigación de la Región Oriental (ERRC) en Wyndmoor, Pensilvania. El PMP es un conjunto de los modelos que se pueden utilizar para predecir el crecimiento y la inactivación de las bacterias transmitidas por los alimentos, principalmente los patógenos, en diversas condiciones ambientales. Estas predicciones son específicas de ciertas cepas bacterianas y ambientes específicos (por ejemplo, medios de cultivo, alimentos, etc.) que se utilizaron para generar los modelos. La precisión de estas predicciones no se puede garantizar para otras cepas de bacterias o ambientes, sin estudios de validación adecuados. Desde principios de 1990, el PMP se ha distribuido en diversas formas, que van desde las hojas de cálculo de software independiente. La versión más actualizada es la 7.0. Las nuevas versiones de la PMP se producen con la incorporación de los nuevos modelos o cambios en la interfase de usuario del modelo. Se recomienda que se marque esta página web y que se revise este proyecto de forma periódica para conocer los nuevos modelos y mejoras de PMP. Se estima que este proceso acelerará el uso de los modelos para las industrias de alimentos, los evaluadores de riesgos y los gestores, así como científicos y estudiantes de instituciones académicas.

Esta aplicación de la microbiología predictiva se diseñó como una herramienta de investigación e instrucción para la estimación de los efectos de múltiples variables sobre el crecimiento, la inactivación o la supervivencia de los patógenos transmitidos por los alimentos. La mayoría de los modelos se basan en gran cantidad de datos experimentales del comportamiento microbiano en medios de cultivo microbiológicos (caldos). No existe garantía alguna que los valores pronosticados coincidirán con los que se producen en cualquier sistema de alimentos específico. Antes de que se puedan utilizar de alguna forma, el usuario debe validar los modelos para cada alimento específico de interés.

6.4.2.1. Modelos predictivos disponibles para pmp 7.0

- Modelos de crecimiento para:

Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Clostridium perfringens, Escherichia coli O157:H7, Listeria monocytogenes, Salmonella, Shigella flexneri, Staphylococcus aureus y Yersinia enterocolitica. Salmonella typhimurium en medio de cultivo a base de carne y caldo BHI.

- Modelos de supervivencia no térmica para:

Escherichia coli O157: H7, Listeria monocytogenes, Salmonella spp. y Staphylococcus aureus.

- Modelos de inactivación térmica para:

Clostridium botulinum, Escherichia coli O157: H7 y Listeria monocytogenes.

- Modelos por irradiación gamma para:

Salmonella typhimurium, Escherichia coli O157: H7 y flora normal en los productos cárnicos.

- Modelos de crecimiento en refrigeración para:
Clostridium botulinum y *Clostridium perfringens* en salsa de carne simulada, *Clostridium perfringens* en carne cruda y pollo curado.
- Modelo de tiempo para toxicidad para:
Clostridium botulinum en pescado.
- Modelo de tiempo para turbidez para:
Clostridium botulinum

6.4.2.2. Requisitos del sistema

- Procesador Pentium de 400MHz o más rápido con un mínimo de memoria RAM de 32 MB, con un monitor con una resolución de 800 x 600 píxeles o más.
- Memoria de disco duro de 50 MB.
- Windows 98/NT4(SP5)/ME/2000/XP (con privilegios de administrador para la instalación).
- Microsoft.net Framework 1.1
- Impresora láser o de inyección de tinta.
- Microsoft Internet Explorer versión 5.0 o más nuevo.
- Mouse o cualquier otro dispositivos de puntero.
- Adobe™ Acrobat Reader.
- Una conexión de Internet con acceso a archivos PDF (opcional).

6.4.2.3. Instalación

- Microsoft.net Framework 1.1 debe estar instalado antes de instalar PMP 7.0.
- Si los programas en el equipo han requerido esta función, entonces podría deberse a que NET 1.1 ya se instaló.
- Registrar y descargar el archivo de instalación (pmp7release1.exe) y guardarlo en el disco duro.
- Después de completar los campos requeridos, hacer clic en "Enviar" para llegar a la página de descargas.
- Cerrar todas las aplicaciones que se ejecutan y deshabilitar la protección antivirus antes de instalar. Seleccionar Inicio "Ejecutar". Hacer clic en Examinar y seleccionar el archivo descargado. Hacer clic en Aceptar en el cuadro de diálogo Ejecutar para comenzar la instalación.

Para poder instalar el programa es necesario registrarse.

6.4.3. Growth predictor & perfringens predictor (Pronosticador de crecimiento y pronosticador de Perfringens)

Growth Predictor proporciona un conjunto de modelos para predecir el crecimiento de los microorganismos en función de los factores ambientales, incluyendo la temperatura, el pH y la actividad de agua. Algunos modelos incluyen también un factor adicional, como la concentración de dióxido de carbono o de ácido acético. En la versión actualizada de Growth Predictor no hay modelos de supervivencia o de muerte. Perfringens Predictor proporciona una predicción de crecimiento de *Clostridium perfringens* durante el

enfriamiento de carnes. Se ingresa la temperatura y se obtiene la cuenta viable de *C. perfringens*.

Existe una versión basada en la Web de Perfringens Predictor en la caja de herramientas de ComBase.

Las predicciones se basan en datos obtenidos en diversos laboratorios en el Reino Unido, en virtud del financiamiento de la Agencia de Normas Alimentarias del Reino Unido.

Para cualquier información o pregunta general sobre este software, se puede comunicar por correo electrónico: ifr.combase@bbsrc.ac.uk

6.4.4. Seafood spoilage predictor software, Danish Institute for Fisheries Research (SSSP) (Pronosticador del deterioro de mariscos)

El SSSP software predice la vida de anaquel y el crecimiento bacteriano en pescados y mariscos. Por ejemplo, el perfil del efecto de la temperatura durante el almacenaje y distribución del producto. Algunos modelos de SSSP son igualmente útiles para cualquier otro tipo de alimentos en la nueva versión SSSP 3.1.

- Los modelos para determinar el crecimiento de *Listeria monocytogenes* bajo ciertas condiciones de temperatura, sal, pH, CO₂, intensidad de ahumado, nitritos y ácidos orgánicos (acético, benzoico, cítrico, láctico y sórbico) han sido validados tanto para mariscos como para carnes.
- El SSSP se puede trabajar en diferentes idiomas: chino, danés, holandés, inglés, francés, alemán, griego, italiano, persa, polaco, portugués, español y vietnamita.

- El SSSP contiene:
 - Modelos para tasas relativas de microorganismos deteriorantes
 - Modelos para el crecimiento de microorganismos deteriorantes en mariscos específicos.
 - Modelos para predecir la formación de *Morganella psychrotolerans* y *Morganella morganii*
 - Modelo para predecir el crecimiento simultáneo de *Listeria monocytogenes* y bacterias ácido lácticas.
 - Modelo para predecir el límite de crecimiento de *Listeria monocytogenes* dependiendo de las condiciones de almacenamiento y las características del producto.
 - Módulos donde el usuario puede cambiar los valores de las variables para hacerlos más apropiados para los diferentes tipos de alimentos o de bacterias.
 - Módulos que permiten observar la vida de anaquel o el crecimiento bacteriano y compararlo con las predicciones del SSSP.

Para que el SSSP opere adecuadamente en la PC, ésta debe contar con:

- Resolución de pantalla de 1024 x 768 píxeles o mayor
- Microsoft .Net Framework versión 2.0 o más reciente.
- MS Windows 98 o más reciente

- Microsoft Explorer version 5.00.3 o mayor.

El menú de ayuda en el SSSP explica como el software puede ser utilizado y provee información sobre los diferentes modelos matemáticos usados para predecir la vida de anaquel y el crecimiento bacteriano.

6.4.5. Sym'Previus (Base de datos y software predictivo integrado, en francés)

Sym'Previus es una colección de herramientas para la inspección de la seguridad alimentaria diseñadas para soporte en el sector de alimentos, que optimiza y simula diversas condiciones reduciendo el tiempo dedicado a estudios microbiológicos para:

- Fortalecer el Sistema HACCP
- Desarrollar nuevos productos
- Mejorar la comprensión y cuantificación del comportamiento bacteriano.
- Determinar el tiempo de vida y mejorar la inocuidad alimentaria.

Sym'Previus está orientado para gerentes de calidad. Reduce el tiempo de entrega y el número de pruebas. Proporciona argumentos usando los modelos microbiológicos más recientes. Los centros especializados de Sym'Previus ofrecen capacitación para su uso.

Sym'Previus es una herramienta que constantemente está evolucionando en su base de datos y se agregan las herramientas de simulación a partir de los programas de investigación a nivel nacional y europeo. Es una herramienta confiable que cumple con los requisitos de las regulaciones europeas (EC) No. 2073/2005 y No. 1441/2007 relacionadas a los criterios microbiológicos, que en el anexo 2 respalda el uso de los modelos matemáticos como una herramienta en la industria de alimentos.

La utilización de Sym'Previus brinda apoyo en el desarrollo de nuevos productos acelerando así la innovación porque al conocer la acidez, la actividad de agua y los preservantes en un producto en particular, permite obtener resultados de forma rápida, reduciendo así los costos y el tiempo. Adicionalmente, permite optimizar los procesos, brindando las respuestas esenciales sin la necesidad de efectuar los análisis experimentales.

6.4.5.1. Módulo de diseño

Sym'Previus ha usado los siguientes modelos para desarrollar su paquete:

- Toma en cuenta la naturaleza del alimento y no sólo factores ambientales como la temperatura, el pH o la actividad de agua, ya que dos productos con el mismo pH y actividad de agua, y almacenados bajo las mismas condiciones no siempre reproducirán la misma respuesta bacteriana.
- Las bases de datos de Sym'Previus se basan en las características fisiológicas de los microorganismos. A pesar de la gran diversidad y la gran cantidad de microorganismos ensayados hasta la fecha, los datos de crecimiento y destrucción de éstos en Sym'Previus coinciden con los de los ensayos.

7. METODOLOGÍA

Con el propósito de justificar el presente trabajo, se platicó con cuatro profesionales dedicados a la microbiología de los alimentos en Guatemala, a través de entrevistas personales (Ver Anexo 1) para poder establecer la situación actual de la microbiología predictiva en la industria de alimentos en Guatemala, y determinar los conocimientos, aplicaciones e inquietudes que se despiertan en el medio, sobre el uso de modelos predictivos dentro de la industria.

A continuación se realizó una revisión bibliográfica con el fin de conocer conceptos generales relacionados con la microbiología de alimentos, la clasificación de los mismos, los contaminantes que les afectan más frecuentemente y las metodologías utilizadas para su análisis.

Luego se investigó en artículos de revistas científicas para conocer los estudios realizados dentro de la disciplina de la microbiología de alimentos, en los que se involucran modelos predictivos como herramienta de investigación. Por medio de estos artículos se logró determinar qué modelos se sugieren utilizar, las organizaciones que han desarrollado los paquetes de software y la ubicación de los mismos en internet.

Por último se ingresó a los sitios web de las diferentes organizaciones involucradas, las cuales manejan los diferentes paquetes de software de modelos predictivos utilizados en la actualidad. En estos sitios se recopiló información relacionada con la descripción y aplicación de los diferentes paquetes disponibles.

8. RESULTADOS

- 8.1. En las entrevistas realizadas se estableció que en Guatemala para la determinación de vida de anaquel de los productos alimenticios se utiliza análisis microbiológicos de laboratorio, estudios de estabilidad y algunas veces se aplican ecuaciones matemáticas. Todos los profesionales entrevistados coinciden en que es la industria de alimentos el principal cliente que solicita análisis de microbiología. El 100% de los profesionales entrevistados conocen sobre Microbiología Predictiva (Anexo 2, Gráfica 1), el 25% de ellos ha utilizado de alguna manera modelos predictivos para determinar la vida de anaquel de los productos (Anexo 2, Gráfica 2), ninguno de ellos ha utilizado los paquetes de software de modelos predictivos (Anexo 2, Gráfica 3), así como ninguno conoce como acceder a dichos paquetes (Anexo 2, Gráfica 4). Además el 75% de los entrevistados mostraron interés por conocer como acceder a dichos paquetes y también están interesados en utilizarlos como una herramienta en la determinación de vida de anaquel de los productos alimenticios (Anexo 2, Gráfica 5).
- 8.2. Se realizó una revisión de los antecedentes de la microbiología predictiva en la industria de los alimentos. Ésta incluye una descripción general y la clasificación de los modelos predictivos así como la aplicación de los mismos en dicha industria.
- 8.3. Se determinó que existen varios modelos predictivos. Dentro de los que poseen más fácil acceso se encuentran: ComBase, Pathogen Modeling Program, Growth Predictor & Perfringens Predictor, Seafood Spoilage Predictor Software, Danish Institute for Fisheries Research y el Sym'Previus. Los anteriores son paquetes de software que se pueden descargar de Internet. Algunos de ellos son especializados para diferentes tipos de productos y diferentes tipos de microorganismos. En general, se puede inferir que estos modelos predictivos se han desarrollado en Estados Unidos de Norteamérica y en Europa.

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Durante la realización del presente trabajo se determinó que algunos profesionales especialistas en microbiología de alimentos en Guatemala, muestran interés por conocer los modelos matemáticos empleados en la microbiología predictiva para implementarlos como parte de los servicios que prestan a la industria de alimentos. Sin embargo hay quienes ponen en duda el potencial de su uso.

Para realizar la revisión de los antecedentes de la microbiología predictiva en la industria de alimentos fue necesario acceder a la información disponible en libros, artículos científicos e Internet. Sin duda, la microbiología predictiva es una disciplina en auge sobre la que se cuenta con mucha información y estudios, sobre todo en Estados Unidos de Norteamérica y en Europa. La mayor parte de la información recabada estaba en inglés, lo que la hace inaccesible para quienes no tiene dominio de este idioma.

Dentro de los modelos predictivos de más fácil acceso encontrados están ComBase y el Pathogen Modeling Program, elaborados en el Reino Unido y en los Estados Unidos de Norteamérica, respectivamente. Éstos son los paquetes que cuentan con mayor número de patógenos y variables disponibles. El Pathogen Modeling Program es, indudablemente, el paquete que cuenta con una mejor descripción; informa con mayor detalle para qué tipo de producto, microorganismo y condiciones es aplicable.

Por otro lado, se cuenta con el Growth Predictor & Perfringens Predictor, que es un paquete orientado a evaluar el crecimiento de *Clostridium perfringens* en distintas condiciones ambientales. A este paquete se puede acceder por medio de la página de Combase. Perfringens Predictor proporciona una predicción de crecimiento de *C. perfringens* durante el enfriamiento de carnes.

Además, se puede mencionar al Seafood Spoilage Predictor Software, Danish Institute for Fisheries Research (SSSP) que es un programa desarrollado para determinar el crecimiento microbiológico en mariscos y productos pesqueros. Aunque indican que sí puede ser aplicable a otro tipo de productos.

Se debe mencionar al Sym'Previus, simulador en francés, que afirma contar con una amplia y confiable base de datos de microorganismos transmitidos por alimentos. Sym'Previus es una herramienta que constantemente está evolucionando en su base de datos y sus herramientas de simulación se agregan a partir de los programas de investigación a nivel nacional y europeo.

En general, al aplicar cualquiera de las alternativas analizadas, jamás se debe olvidar que se deberán evaluar, validar y aún así, respaldar con ensayos de repetibilidad de respuesta bajo distintas condiciones.

10. CONCLUSIONES

- 10.1. Se estableció que la importancia de los modelos predictivos en la microbiología predictiva como herramienta en la industria de alimentos, es su aplicación en análisis de peligro y puntos críticos de control, evaluación de riesgos, estudios microbiológicos de vida de anaquel, diseño y desarrollo de productos, así como herramienta en la formación de personal.
- 10.2. Se encontró que la literatura y los estudios realizados en esta disciplina proponen el uso de cinco paquetes de software de los modelos predictivos: ComBase, Pathogen Modeling Program, Growth Predictor & Perfringens Predictor, Seafood Spoilage Predictor Software, Danish Institute for Fisheries Research y el Sym'Previous.
- 10.3. Se determinó que los paquetes de software de los modelos predictivos están disponibles en diversas direcciones de Internet.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1. Divulgar la aplicabilidad de la microbiología predictiva en la industria de alimentos en el país.
- 11.2. Utilizar los modelos de microbiología predictiva a través de modelos matemáticos para la determinación de la vida de anaquel de los alimentos, preferentemente por personal con experiencia en esta disciplina.
- 11.3. Antes de implementar el uso de estos paquetes de software de modelos predictivos en nuestro medio, se les deberá validar; pues los han desarrollado en países con condiciones ambientales y de manejo distintas a las de Guatemala.

12. REFERENCIAS

- Anaximandre Scientific and Technical Communication. (2010). How to use Sym´Previus. Disponible en http://www.symprevius.org/index.php?rub=how_use_sym_previus_2. Consultado el 1 de octubre de 2010.
- Anaximandre Scientific and Technical Communication. (2010). Sym´Previus, an operational System. Disponible en http://www.symprevius.net/index.php?vrs=sym_previus_predictive_microbiology. Consultado el 1 de octubre de 2010.
- Anaximandre Scientific and Technical Communication. (2010). Predictive Microbiology: general aspects. Disponible en http://www.symprevius.org/index.php?rub=predictive_microbiology. Consultado el 1 de octubre de 2010.
- Anaximandre Scientific and Technical Communication. (2010). Why use Sym´Previus. Disponible en http://www.symprevius.org/index.php?rub=why_use_sym_previus_2. Consultado el 1 de octubre de 2010.
- Buchanan, R.L. (1993). Predictive food microbiology. *Microbiol. Food Sci. Technol.* 4, 6–11.
- Coll, F.; Giannuzzi, L.; Noia, M.A. y Zarizky, N. (2001). El modelado matemático: una herramienta útil para la industria alimentaria. *Ciencia Veterinaria*, Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP. Panamá. Disponible en http://www.vet.unlpam.edu.ar/~matervet/revistanro3/Modelado_matem%E1tico.PDF. Consultado el 12 de octubre de 2010.
- Combine database for predictive microbiology. (s.f.). Disponible en http://www.combase.cc/default_ES.html. Consultado el 10 de septiembre de 2010.
- Barreiro, J.A. y Sandoval, A.J. (2006). Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. Venezuela; Equinoccio, Universidad Simón Bolívar.
- Barrientos, L.F. (13 de agosto de 2010). Comunicación personal.
- Cano, F. (11 de agosto de 2010). Comunicación personal.
- Cayré, M.E., Vignolo, G. y Garro, O.A. (s.f.) Validación y comparación de modelos de crecimiento microbiano. UNNE, Facultad de Agroindustrias: Argentina. Disponible en <http://www1.unne.edu.ar/cyt/2001/8-Exactas/E-005.pdf>. Consultado el 12 de octubre de 2010.
- De La Rosa, M., y Prieto, J. (2003). *Microbiología para Ciencias de la salud*. España: Elsevier.
- Eskin, N.A.M. y Robinson, D.S. (2001). *Food shelf life stability: chemical, biochemical, and microbiological changes*. CRC Press.
- Espinoza, A., Leija, M, Amaya, C.A., Vela M.M y Rodríguez J.A. (s.f.). Determinación microbiológica de vida de anaquel de alimentos proteicos. México: Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Food safety authority of Ireland. (2009). Predictive microbiology and shelf-life. Recuperado de http://www.fsai.ie/food_businesses/topics_of_interest/predictive_micro.html. Consultado 21 de julio de 2010.
- García, R.M. y Zurera, G. (2004). Anales. Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental. 17:1. Disponible en

<http://www.insacan.org/racvao/anales/2004/HCapitulo3.pdf>. Consultado el 1 de octubre de 2010.

- Institute of Food Research. (s.f.). Computational Microbiology; Growth Predictor & Perfringens Predictor. Disponible en <http://www.ifr.ac.uk/Safety/GrowthPredictor/>. Consultado el 1 de octubre de 2010.
- Kilcast, D. y Subramaniam P. (2000). The stability and shelf-life of food. Woodhead Publishing: Estados Unidos.
- La Comisión de las Comunidades Europeas. (2005). Reglamento (CE) No. 2073/2005: relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. Disponible en <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2005R2073:20071227:ES:PDF>. Consultado el 01 de octubre de 2010.
- Man, C.M. y Jones, A.A. (2000). Shelf-life evaluation of foods. Springer: Estados Unidos.
- McDonalds, K. y Sun, D.W. (1999). Predictive food microbiology for the meat industry: A review. International Journal of Food Microbiology, 52, 1-27.
- Paniagua, R. (9 de agosto de 2010). Comunicación personal.
- Pascual, M.R. (2005). Enfermedades de origen alimentario: su prevención. España: Ediciones Díaz de Santos.
- Pouch, F y Itó, K. (2001). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. American Public Health Association: Estados Unidos.
- Pumarola, A. (1995). Microbiología y parasitología médica. España: Elsevier.
- Quan, N. (2 de agosto de 2010). Comunicación personal.
- Rodríguez, E.R., Gamboa, M.M., Hernández, F. y García, J.D. (2005). Bacteriología general: principios y prácticas de laboratorio. Costa Rica: Editorial Universitaria de Costa Rica.
- Technical University of Denmark. National Institute of Aquatic Resources. (2009). Seafood Spoilage and Safety Predictor (SSSP) software v. 3.1. Disponible en <http://sssp.dtuqua.dk/>. Consultado el 1 de octubre de 2010.
- Universidad de Antioquía. (2008). Microbiología básica para el área de la salud y afines. Antioquía: Autor.
- USDA-Agricultural research service. Products & Services. Patogen Modeling Program Version 7.0, Current Models. (2005). Disponible en <http://www.ars.usda.gov/Main/docs.htm?docid=6795>. Consultado 13 de septiembre de 2010.
- USDA-Agricultural research service. Products & Services. Patogen Modeling Program, Getting started. (2006). Disponible en <http://www.ars.usda.gov/Main/docs.htm?docid=6784>. Consultado 13 de septiembre de 2010.
- USDA-Agricultural research service. Products & Services. Patogen Modeling Program Version 7.0, Instalation. (2005). Disponible en <http://www.ars.usda.gov/Main/docs.htm?docid=6796>. Consultado 13 de septiembre de 2010.
- USDA-Agricultural research service. Products & Services. Pathogen Modeling Program Version 7.0, Overview. (2007). Disponible en <http://www.ars.usda.gov/Main/docs.htm?docid=11566>. Consultado 13 de septiembre de 2010.
- USDA-Agricultural research service. Products & Services. Pathogen Modeling Program Version 7.0, System Requirements. (2005). Disponible en

<http://www.ars.usda.gov/Main/docs.htm?docid=6794> . Consultado 1 de octubre de 2010.

13. ANEXOS

13.1. ANEXO 1

“MODELOS PREDICTIVOS EN LA IMPLEMENTACIÓN DE LA MICROBIOLOGÍA PREDICTIVA EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS”

Elaborado por: _____

Fecha: _____

Nombre de entrevistado: _____

FORMATO DE ENTREVISTA

1. ¿Qué técnicas se utilizan en Guatemala para la determinación de vida de anaquel de productos alimenticios?

2. ¿Quiénes solicitan la determinación de tiempo de vida de anaquel?

3. ¿Tiene conocimiento(s) sobre la microbiología predictiva?

4. En su ejercicio profesional, ¿ha utilizado la microbiología predictiva en la determinación de vida de anaquel de productos alimenticios?

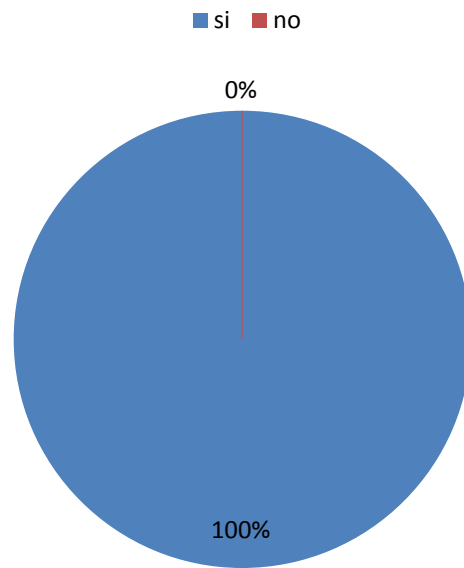
5. ¿Conoce los paquetes de software de modelos predictivos de vida de anaquel de productos alimenticios?

6. ¿Sabe cómo acceder a ellos?

7. ¿Estaría interesado en conocer cómo acceder a estos modelos?

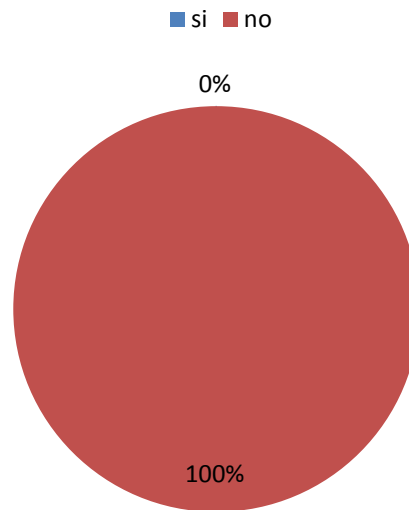
8. ¿Estaría interesado en aplicar la microbiología predictiva en la determinación de vida de anaquel de productos alimenticios?

Gráfica 1 ¿Tiene conocimiento(s) sobre la microbiología predictiva?



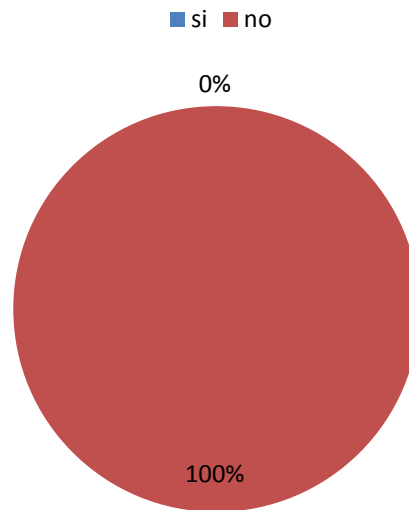
Gráfica 2

En su ejercicio profesional ¿ha utilizado la microbiología predictiva en la determinación de vida de anque de productos alimenticios?

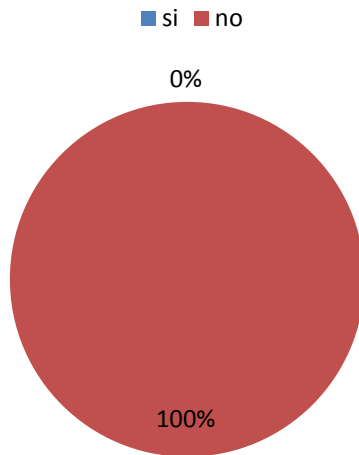


Gráfica 3

¿Conoce los paquetes de software de modelos predictivos para determinar la vida de anaquel de productos alimenticios?



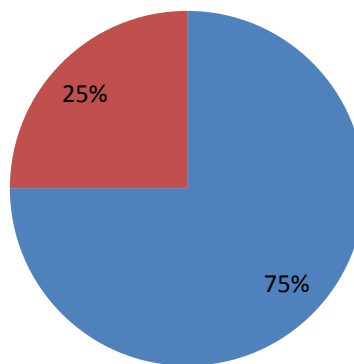
Gráfica 4
¿Sabe como acceder a los paquetes de software de modelos predictivos para determinar la vida de anaquel de productos alimenticios?

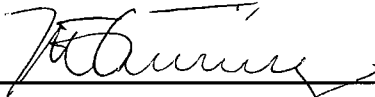


Gráfica 5

¿Está interesado en conocer como acceder a los modelos predictivos y en aplicarlos como una herramienta para la determinación de vida de anaquel de productos alimenticios?

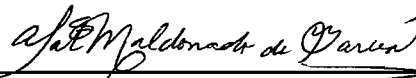
■ si ■ no





M.V. Myriam Evelyn Gutiérrez Barberena

AUTOR



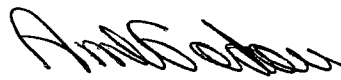
Licda. Alma Patricia Maldonado Arriola, MSc.

ASESORA



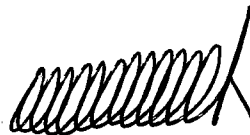
M.V. Federico Joaquín Villatoro Paz, MSc.

REVISOR



Licda. Anne Marie Liere de Godoy, MSc.

DIRECTORA



Oscar Manuel Cobar Pinto, Ph.D.

DECANO