

## EL MODELADO MATEMÁTICO: UNA HERRAMIENTA ÚTIL PARA LA INDUSTRIA ALIMENTICIA.

F. Coll Cárdenas<sup>1</sup>, L. Giannuzzi<sup>2</sup>, M.A. Noia<sup>1,3</sup>, N. Zaritzky<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP; <sup>2</sup>Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de los Alimentos, CIDCA; <sup>3</sup>Biofísica. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLPam., Gral. Pico, La Pampa; <sup>4</sup>Fac. Ingeniería, UNLP.

### RESUMEN

Los modelos matemáticos permiten predecir la velocidad de crecimiento de los microorganismos en función de determinadas condiciones ambientales tales como la temperatura y el pH. Dichos modelos matemáticos se pueden clasificar en tres niveles: 1º (tales como el modelo de Gompertz); 2º (tales como la ecuación de Arrhenius) y 3º (como los sistemas expertos computacionales).

A partir de estas ecuaciones se logra predecir la duración y seguridad de los alimentos así también como determinar la estabilidad microbiana de nuevos productos alimenticios y ayudar en la evaluación de posibles riesgos para la salud pudiendo tener como principal desventaja que las predicciones no fueran del todo precisas, indicando sólo una tendencia o la imposibilidad de predecir fuera del rango de las condiciones consideradas.

Ejemplos de aplicaciones de estos modelos para el desarrollo de *Klebsiella sp.* en un sistema modelo de producto cárnico se ilustran en el presente trabajo.

Palabras clave: seguridad de los alimentos, *Klebsiella*, modelos matemáticos predictivos

### The mathematical model: a useful tool for food industry

### SUMMARY

The mathematical model allow to predict the microorganisms' growing speed according to environmental such a temperature and pH. The models can be classified in three levels: 1 (Gompertz' model), 2 (Arrhenius equation) and 3 (expert computer systems). Food duration and safety as well microbial stability coming from new foodstuffs can be predicted and determined respectively. These equations also help to evaluate possible health risks. Ways of applying these models to *Klebsiella sp.* (in a model system in meat product) are shown in this work.

Key words: security of the foods, *Klebsiella*, models mathematical of prediction

### INTRODUCCIÓN

El desarrollo de bacterias patógenas y microorganismos de deterioro en los alimentos resulta indeseable desde el punto de vista de la salud de los consumidores, debido a que pueden ser causantes de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) (WHO, 1998). El crecimiento microbiano está gobernado por la acción simultánea de diversos factores físicos y químicos limitantes. La capacidad de sobrevivir e iniciar el crecimiento de cada tipo de microorganismo, tanto los alteradores como los causantes de enfermedades alimenticias está influenciada por la acción conjunta de factores extrínsecos, como pH, temperatura,  $a_w$ ; intrínsecos (propios del

alimento) y los propios del microorganismo. La aplicación del concepto de obstáculos pretende prevenir el desarrollo microbiano de las bacterias alteradoras mediante métodos combinados, los cuales separadamente no aportarían una adecuada preservación pero sí lo hacen al actuar en forma conjunta. Si este concepto es aplicado satisfactoriamente, la influencia de los factores ambientales sobre el desarrollo microbiano necesita ser cuantificado. El diseño de procesos que garanticen un nivel de calidad y seguridad hasta el consumo, se realiza la mayor parte de las veces con información incompleta y para una situación determinada. Esto es debido a la falta de datos respecto al efecto que un conjunto de factores distintos tendrían sobre los microorganismos en diversas condiciones (Farber 1986, Bell y col.1997.)

### **Modelado Matemático:**

La microbiología predictiva se basa en el desarrollo de modelos matemáticos que permiten predecir la velocidad de crecimiento de los microorganismos bajo determinadas condiciones ambientales (Chang Fornaris, 1998). Algunos de los factores principales que afectan el crecimiento microbiano en los alimentos son la temperatura y el pH, por lo cual deben tenerse en cuenta para lograr una determinada predicción.

La aplicación de modelos matemáticos se realiza en dos etapas principales:

- 1) Modelado de la curva de crecimiento del microorganismo
- 2) Descripción de la variación de los distintos parámetros que afectan a dicha curva.

Estas curvas se ajustan y sus parámetros se derivan usando programas computacionales (Buchanan, 1991)

El empleo de modelos matemáticos permite así, cuantificar y predecir el desarrollo microbiano con el objeto de asegurar la calidad de un alimento.

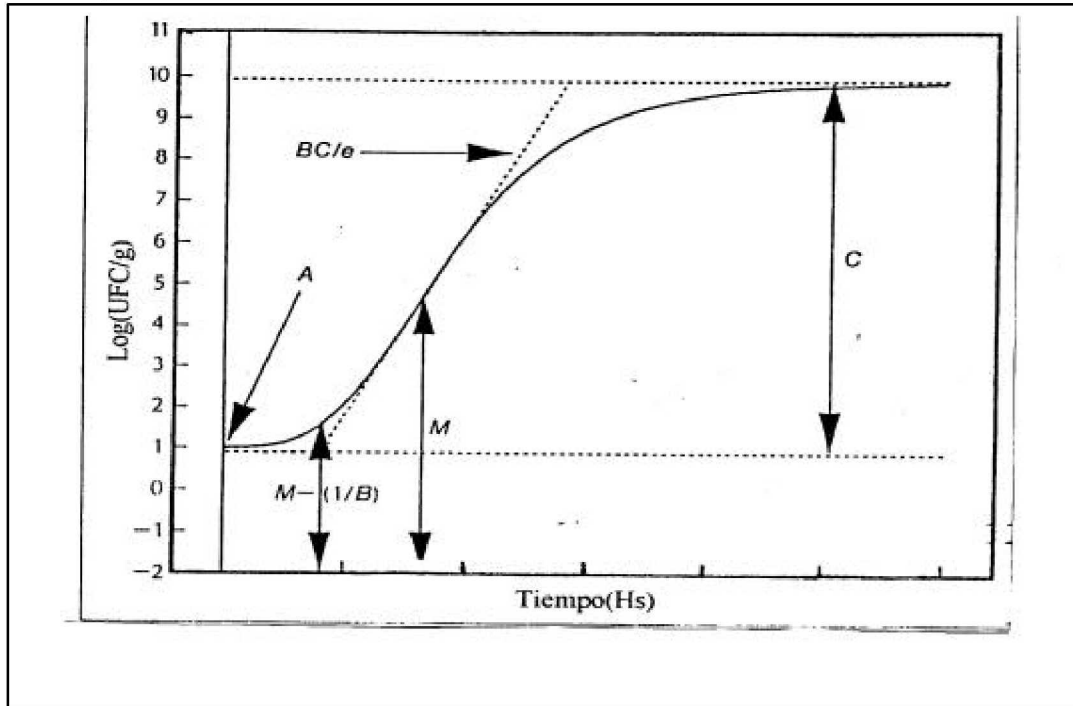
### **Clasificación:**

Se pueden clasificar en tres niveles:

1) **Modelos de nivel primario:** en este se describen cambios en el número de microorganismos en función del tiempo. Los modelos se pueden cuantificar por ejemplo en UFC/ml, formación de toxinas, productos metabólicos, absorbancia o impedancia. Ejemplos de estos modelos son la ecuación de Gompertz, la ecuación exponencial y el modelo logístico. El de Gompertz es uno de los modelos más utilizados para describir el desarrollo microbiano (Gibson y col., 1988; Zwietering, 1990) determinado la respuesta de los microorganismos bajo diversas combinaciones de factores (Buchanan, 1992).

2) **Modelos de nivel secundario:** describen las respuestas de los parámetros del modelo primario al cambiar determinadas condiciones de desarrollo tales como temperatura, pH ó aw. Ejemplo: ecuación de Arrhenius, modelo de la raíz cuadrada.

3) **Modelos de nivel terciario:** corresponden a software que transforman a los modelos de nivel primario y secundario en programas más confiables. Estos permiten calcular la respuesta de los microorganismos en las distintas condiciones, comparar los efectos de dichas condiciones o contrastar el comportamiento de varios microorganismos. Estos modelos pueden ser caracterizados como puramente descriptivos (empíricos) o basarse en criterios microbiológicos (cinéticos). También pueden ser lineales, no lineales, segregados (población de células heterogéneas) o no segregados, estructurados (multicomponentes) o no estructurados. (Whiting, 1995)

**1) a- Modelo de Gompertz:**

La ecuación de Gompertz es una función doble exponencial basado en 4 parámetros que describen una curva sigmoide asimétrica:

$$\text{Log } N = A + C \exp\{-\exp[-B(t-M)]\}$$

Fig. 1 Parámetros del modelo de Gompertz

donde: Log N es el logaritmo decimal de los recuentos microbianos [log (UFC/ml)] al tiempo t, dado en horas; A es el logaritmo de los recuentos asintóticos cuando el tiempo decrece indefinidamente (aproximadamente equivale al logaritmo de los niveles iniciales de bacterias)[log(UFC/ml)]; C es el logaritmo de los recuentos asintóticos cuando el tiempo se incrementa indefinidamente (es el número de ciclos log de crecimiento) [log UFC/ml]; M es el tiempo requerido para alcanzar la máxima velocidad de crecimiento [hs]; B es la velocidad de crecimiento relativa al tiempo M [hs]<sup>-1</sup>. De estos parámetros se deriva: la velocidad específica de crecimiento ( $\mu = B.C/e$  con  $e = 2,7182$  [log (UFC/ml)/hs]); la duración de la fase de latencia (LPD= $M-1/B$ , [hs])

y la máxima densidad de población (MPD=A+C, [log UFC/ml]). Para ejemplificar la aplicación del modelo de Gompertz, en la Fig. 2 se muestran los datos experimentales así como la curva ajustada mediante SYSTAT al desarrollo de un microorganismo aislado de carnes (*Klebsiella* sp) en un medio de cultivo de extracto de carne al 2% sometido a distintos pH (5.6;5.8 y 6.10) mediante el agregado de ácido láctico en diversas concentraciones, durante su almacenamiento refrigerado a 0°C.

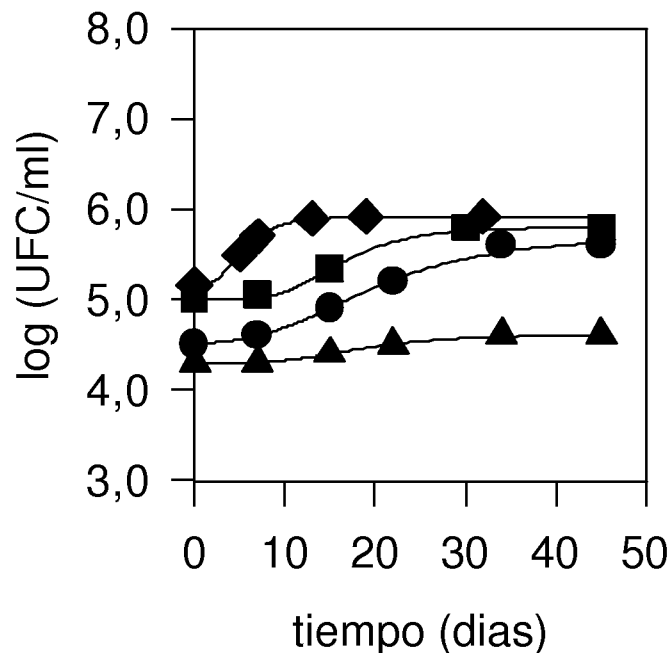


Fig.2 Aplicación del modelo de Gompertz al desarrollo de *Klebsiella* sp. en los sistemas modelos a 0°C, en un medio de cultivo con distintos pH ♦7(control), 6.10, • 5.80, ▲ 5.6, los cuales se ajustaron con la adición de ácido láctico. Se observa la influencia que presenta el agregado de ácido láctico sobre la velocidad de crecimiento de dicho microorganismo, manteniéndose este durante mayor tiempo en fase de latencia.

Tabla 1. Aplicación del modelo de Gompertz al desarrollo de *Klebsiella* sp en un medio de cultivo de producto cárneo mantenido a 0°C y sometido a diversos pH (7; 6,10; 5,8; 5,6).

PH	Parametros de modelo Gompertz				Parametros derivados	
	a	c	b	m	$\mu$	MPD
7.0	5.15±0.01	0.76±0.001	0.42±0.01	4.46±0.01	0.12	6.77
6.1	5.00±0.03	0.80±0.050	0.20±0.07	14.2±0.08	0.05	5.80
5.8	4.51±0.05	1.16±0.010	0.11±0.02	15.7±1.24	0.04	5.67
5.6	4.20±0.01	0.31±0.010	0.15±0.02	16.0±0.01	0.02	4.51

a:  $\log(\text{UFC/ml})$ , c:  $\log(\text{UFC/ml})$ , b:  $\text{días}^{-1}$ , m: días,  $\mu$ :  $\log(\text{UFC/ml})/\text{días}$ , MPD:  $\log(\text{UFC/ml})$

Se observa cómo el agregado de ácido láctico modifica los parámetros a, c, b y m. Puede observarse que a medida que disminuye el pH, disminuye  $\mu$  y MPD.

### b- Modelo logístico:

Se diferencia del modelo de Gompertz por originar un gráfico de tipo simétrico. Según este modelo:

$$\log N = A + C / (1 + \exp(D - F \cdot t))$$

donde Log N y A tienen el mismo significado que en el modelo de Gompertz, D es un parámetro adimensional, F es la velocidad de crecimiento relativa al tiempo medio de la fase exponencial  $[\text{días}]^{-1}$ . A partir de estos parámetros, derivan la velocidad de crecimiento específica ( $\mu = C \cdot F / 4$   $[\log(\text{UFC/ml})\text{días}]$ ) y la duración de la fase de latencia ( $LPD = D - 2/F$   $[\text{días}]$ ) (Giannuzzi y col, 1998).

### 2) Dentro de los modelos secundarios destacamos el modelo de Arrhenius:

La ecuación de Arrhenius fue originalmente usada para describir cómo la velocidad de una reacción química podía variar en función de la temperatura. (Ratkowsky y col, 1982)

Según esta ecuación:

$$\mu = A \cdot \exp(-E_{\mu} / RT)$$

donde T es la temperatura absoluta dada en  $^{\circ}\text{K}$ ;  $E_{\mu}$  es la energía de activación dada en  $\text{KJoule/mol}$ ; A es un factor preexponencial constante; R es la constante de los gases ( $8,31 \text{ Kjoule}/^{\circ}\text{Kmol}$ ).

Al calcular la energía de activación, se logra determinar la sensibilidad que cada microorganismo presenta frente a los cambios térmicos.

Para nuestro ejemplo de la Fig. 2, en la Tabla 2 se describen los resultados obtenidos a las temperaturas de 0,4 y  $10^{\circ}\text{C}$ :

Tabla 2: Aplicación de la ecuación de Arrhenius para evaluar el efecto de la temperatura sobre la velocidad específica de crecimiento de *Klebsiella* sp en un medio de cultivo de producto cárnico a diferentes niveles de pH.

pH	$\text{LnA}[\ln(\text{UFC/ml})\text{día}^{-1}]$	$E_{\mu}[\text{Kjoule/mol}]$	$R^2$ (coef. de determinación)
7.0	79.12	184.8	0.97
6.1	75.78	178.5	0.98
5.8	79.08	186.5	0.97
5.6	71.51	169.3	0.97

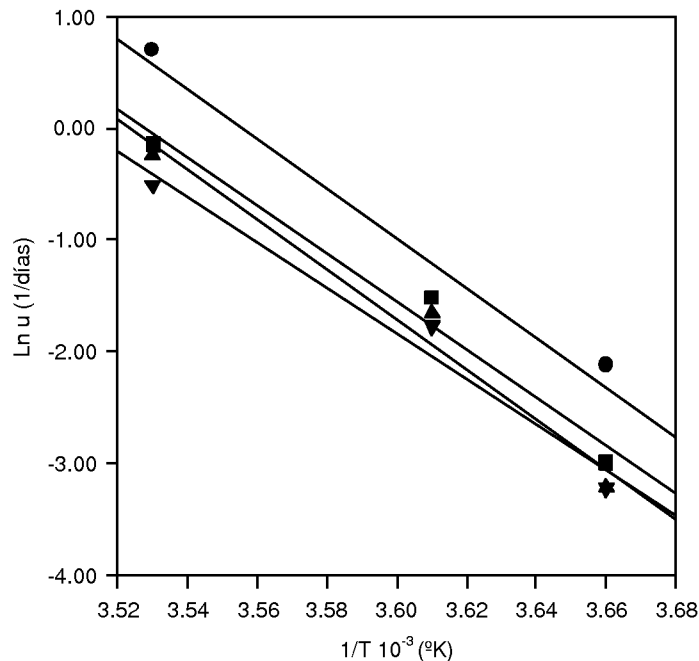


Fig. 3: Aplicación de la ecuación de Arrhenius para evaluar el efecto de la temperatura sobre la velocidad específica de crecimiento a diferentes valores de pH 7.0, 6.10, 5.80, 5.60

3) Dentro de los modelos terciarios, se destacan los llamados **sistemas expertos** correspondiendo a programas computacionales que emulan el razonamiento y la toma de decisiones de expertos humanos. (Adair y Briggs, 1993; Voger y McKellar, 1993). De los programas desarrollados, los más utilizados son: Pathogen Modelling Program de USDA; Buchanan y Whiting (1994); Food Micromodel de MAFF, UK; McClure y otros (1994).

### **Conclusiones:**

La utilización de la Microbiología Predictiva permite:

- Predecir la durabilidad y seguridad de los alimentos
- Determinar la estabilidad microbiana de nuevos productos alimenticios que hayan sufrido algún cambio en su formulación
- Ayudar en la evaluación del riesgo potencial para la salud en caso de alimentos sometidos a diversas condiciones ambientales.

Los modelos más revelantes a una amplia categoría de alimentos podrían reducir la necesidad de exámenes microbiológicos, permitiendo así un considerable beneficio económico (Roberts, 1989).

Las desventajas que podrían presentarse serían que las predicciones no fueran del todo precisas indicando solamente una tendencia (Chang Fornaris, 1998). Tampoco nos será posible predecir fuera del rango de condiciones en el cual se hicieron los experimentos y se modelaron los resultados.

## BIBLIOGRAFÍA

- Adair, C; Briggs, PA** (1993) The concept and application of expert systems in the field of microbiological safety. *J Ind Microbiol.* 12, 263.
- Bell, RG; Phillips, DM and Jones, RJ** (1997) Predictive microbiology: Quality assurance tool or computer game. *Proc.43 ed Internat. Cong. Meat Sci and Technol.* 14-18.
- Buchanan, RL** (1992) Predictive microbiology. *Mathematical modeling of microbial growth in foods.* ACS Symposium Series 484 Ch 24, 250-260.
- Buchanan, RL** (1993) Predictive food microbiology. *Trends in Food Science Technology* 4, 6-11.
- Chang Fornaris, L**(1998) 6° Conferencia Internacional sobre Ciencia y Tecnología de los Alimentos, CICTA 6, Cuba.
- Coll Cárdenas, F; Giannuzzi, L; Zaritzky, N; Noia, MA** (2001) Modelado del crecimiento de Enterobacteriaceae (Klebsiella sp) en un sistema modelo de un producto cárneo. Efecto de la temperatura y de la adición de ácido láctico. *La Industria Cárnica Latinoamericana* 123, 54-56.
- Farber, JM** (1986) Predictive modelling of food deterioration and safety. In *food borne microorganisms and their toxins. Developing methodologies.* Ed NJ Stens and MD Rearsos. Marcel Decker Inc NY.
- Giannuzzi, L; Pinotti, A; Zaritzky, N** (1998) Mathematical modeling of microbial growth in packaged refrigerated beef stored at different temperatures. *International Journal of Food Microbiology* 39, 101-110.
- Gibson, AM; Bratchell, N and Roberts, TA** (1988) Predicting microbial growth: growth response of Salmonellae in a laboratory medium as affected by pH, sodium chloride and storage temperature. *Int J Appl. Microbiol.* 6, 155-178.
- McClure, PJ; Blackburn, C** y otros (1994) Modelling the growth survival and death of microorganisms in foods: the UK Food Micromodel approach. *Int J Food Microbiol.* 23, 265-275.
- McMeekin, TA; Olley, J** (1986) Predictive microbiology. *Food Technol. In Aust.* 38, 8, 331-334.
- Ratkowsky, A; Ross, T** y otros (1991) Comparison of Arrhenius type and Bélehràdek type models for prediction of bacterial growth in foods. *J Appll Bacteriol.* 71, 452-459.
- Skinner, G; Larvin, J** (1994) Mathematical modeling of microbial growth: a review. *Journal of Food Safety* 14, 175-217.
- Voyer, R; McKeller, RC** (1993) MKES Tools: a microbial kinetics experts system for developing and asserring food production systems. *J Ind Microbiol.* 12, 256.
- Whiting, R** (1995) Microbial Modelling in Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 35, 6, 467-494.
- WHO** (1998) Food irradiation. A technique for preserving improving the safety of foods. World Healt Organization, Geneva, Switzerland.
- Zwietering, MH; Jongenburger, I; Rombouts, FM; Van't Rict, K** (1990) Modelling of the bacterial growth curve. *Appl. Environ Microbiol.* 56,1875.