

MICOLOGÍA PREDICTIVA EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA



PREDICTIVE MICROBIOLOGY IN FOOD INDUSTRY

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Eric Leandro Montesdeoca Tacoronte

Tutorizado por: Dr. Fernando Perestelo Rodríguez

Máster en Seguridad y Calidad de los Alimentos

Junio de 2020

En primer lugar, deseo expresar mi agradecimiento a la Universidad de La Laguna y a todo el profesorado que me ha permitido realizar este máster, sobre todo al tutor de este TFM, Fernando, por haber sido de gran ayuda durante su realización, incluso en estos difíciles tiempos de confinamiento. A pesar de haber costado, todo esfuerzo ha merecido la pena.

A mis compañeros del máster (Niebla, Maribel, Aitor, Sonia...), que pese a haber sido bastante más corto en cuanto actividad presencial, me ha permitido conocer personas excepcionales y que han hecho que el transcurso del máster haya sido más tranquilo y llevadero. Mencionar especialmente a Jarixsa, Nerea, Juanjo y Paula. Por todas esas tardes de café que nunca olvidaré. Gracias por dejarme conocerlos, es el mejor recuerdo que me llevo del máster.

A mis amigos más cercanos, Christoph y Edwin, por ser siempre un gran apoyo en cualquier aspecto de mi vida. Y por saber que, pase lo que pase, siempre estarán ahí para todo. Mil gracias.

A mi pareja, Héctor, por ser un continuo soporte en este trabajo, en el máster y en todo lo que se pueda imaginar. Por hacerme ver la luz incluso en los momentos de más oscuridad. Gracias, por siempre.

A mi madre, por permitirme el lujo de poder cumplir mi sueño realizando la carrera que siempre quise y dejarme seguir expandiendo mis conocimientos con la realización de este máster. Sin ti no habría podido conseguir nada. Gracias.

ÍNDICE

1. RESUMEN/ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN: RECORRIDO HISTÓRICO DE LA MICROBIOLOGÍA PREDICTIVA ..	3
2. CLASIFICACIÓN DE LOS MODELOS PREDICTIVOS	4
2.1 MODELOS PRIMARIOS	4
2.2 MODELOS SECUNDARIOS	4
2.3 MODELOS TERCARIOS	4
3. MICOLOGÍA PREDICTIVA: CONCEPTO INICIAL	7
4. PECULIARIDADES DE LOS HONGOS	8
5. PRINCIPALES MODELOS UTILIZADOS EN MICOLOGÍA PREDICTIVA	10
5.1 MODELOS PRIMARIOS	10
5.1.1 MODELOS DE INACTIVACIÓN	10
5.1.2 MODELOS DE GERMINACIÓN	10
5.1.3 MODELOS DE CRECIMIENTO	10
5.2 MODELOS SECUNDARIOS	12
6. CONCLUSIONES/PERSPECTIVAS DE FUTURO	12
7. BIBLIOGRAFÍA	15

RESUMEN

Durante las últimas décadas, la microbiología predictiva ha estado basada en el estudio de bacterias, generalmente patógenas, en los alimentos. Ello ha sido posible gracias a la utilización de modelos predictivos que ayudan a entender o prever el comportamiento de estos microorganismos cuando contaminan un alimento. Sin embargo, debido a la actual demanda en la industria alimentaria, el estudio de la contaminación fúngica en alimentos ha alcanzado un interés equivalente al de la contaminación bacteriana. El objetivo principal de este estudio es llevar a cabo una breve revisión bibliográfica sobre los principales eventos que han conducido al desarrollo de la micología predictiva, así como sobre el estado actual del tema. Se tratarán temas como las similitudes y diferencias entre la microbiología y la micología predictiva, así como especificaciones a tener en cuenta para abordar el estudio de los hongos y su efecto sobre los alimentos. En último término, se incluyen algunas de las perspectivas de futuro más atractivas, así como algunos comentarios sobre el importante papel de la micología predictiva para asegurar la calidad y seguridad alimentaria en la microbiología alimentaria moderna.

ABSTRACT

For the past few decades, predictive microbiology focused on food-pathogenic bacteria. This has been achieved using predictive models that make easier to understand and predict the behaviour of microorganisms when the product gets contaminated. However, due to the current demand in the food industry, the study of fungal contamination in food has reached an interest equivalent to bacterial contamination. This study is a bibliographic review of publications related to the field of predictive mycology that have taken place in recent years. Some topics such as the similarities and differences between micro and predictive mycology are included, as well as specifications to consider addressing the study of fungi and their effect on food. Eventually, prospects and how predictive mycology plays an important role in food industry are detailed as conclusion.

Palabras clave: Microbiología predictiva, Micología predictiva, Modelos predictivos, Hongos, Industria alimentaria.

INTRODUCCIÓN: RECORRIDO HISTÓRICO DE LA MICROBIOLOGÍA PREDICTIVA

La inocuidad de los alimentos siempre ha sido una de las principales causas de estudio en las industrias alimentarias, siendo uno de los cuatros grupos básicos de características (junto a las nutricionales, organolépticas y comerciales) que componen la calidad de los alimentos. Por ello, desde hace años, surgió un área dentro de la microbiología que está enfocada al estudio de la inocuidad de los alimentos, denominada microbiología predictiva. Dicha disciplina se encarga de combinar elementos de microbiología con matemáticas y estadística, para desarrollar modelos que sean capaces de describir y predecir el comportamiento de los microorganismos patógenos en los alimentos (Dantigny *et al*, 2005; McMeekin *et al*, 2002a) cuando se ven sometidos a factores específicos como el pH, la temperatura (T) o la actividad de agua (a_w) entre otros (Dens *et al*, 2001; McMeekin *et al*, 2002b; McClure *et al*, 1997). A partir de estos estudios se formulan ecuaciones matemáticas, denominadas modelos predictivos microbiológicos (Baranyi *et al*, 1995), que pueden indicar el crecimiento, inactivación o supervivencia de un microorganismo al contaminar un determinado alimento. Dentro del campo de la alimentación, en la microbiología alimentaria, estos modelos constituyen un método rápido, económico y no invasivo a la determinación objetiva de la calidad de los alimentos (Perez-Rodríguez *et al*, 2013).

El concepto de microbiología predictiva abarca casi un siglo, ya que fue en los años 20 cuando se estableció una metodología predictiva, a partir de modelos matemáticos, para un enlatado seguro de alimentos, de cara a evitar la contaminación por *Clostridium botulinum*. Utilizando determinados factores térmicos en el alimento se conseguía reducir la presencia del microorganismo (Esty *et al*, 1922). En posteriores estudios (McMeekin *et al*, 2002a; Baranyi *et al*, 1993) se siguieron desarrollando estos modelos usando otras condiciones (temperatura, cinética de crecimiento de los microorganismos...) y a partir de ahí su desarrollo fue en auge, estableciéndose en procesos de fermentación y conservación de alimentos mediante tratamientos térmicos. Poco a poco, gracias a otros factores, como la aparición del control de fases en la industria, el desarrollo de la informática, la alta demanda de alimentos con mejores procesos de higiene y seguridad... la microbiología predictiva fue despertando un nuevo interés (Buchanan *et al*, 1993) y ha tratado de dar respuesta a los intereses en el campo de la seguridad alimentaria. Todo esto gracias a la información que puede ofrecer de determinados elementos claves responsables del comportamiento de microorganismos en los alimentos, tanto de manera individual, como la interacción entre ellos (Buchanan *et al*, 1996).

De manera muy general, el desarrollo histórico de la microbiología predictiva ha estado basado en la búsqueda de factores, o combinación de estos, que describan situaciones sobre la presencia de microorganismos (generalmente patógenos) en alimentos. Dichos microorganismos pueden llegar a ser perjudiciales si no se identifican a tiempo, sea en un alimento procesado o no. Como se ha mencionado anteriormente, esto se consigue mediante

la estimación y creación de los modelos predictivos. Estos describen diversas ecuaciones matemáticas o probabilísticas que permite predecir la probabilidad de crecimiento o inactivación de bacterias en alimentos bajo distintas condiciones ambientales. Además, se tienen en cuenta factores como el estado fisiológico de las células o la interacción con otros microorganismos. Actualmente las políticas, tanto nacionales como internacionales, referentes a la inocuidad de los alimentos están basadas en el desarrollo de estudios de evaluación de riesgos de contaminación microbiana, apoyándose en la aplicación de dichos modelos predictivos (Perez-Rodríguez *et al*, 2013).

CLASIFICACIÓN DE LOS MODELOS PREDICTIVOS

La manera más común y aceptada de clasificarlos es en función de la cantidad y tipo de variable que explican (Yarce, 2013):

Modelos primarios: Estudian la respuesta de los microorganismos frente al tiempo (crecimiento, supervivencia o inactivación de colonias) o la producción de una toxina o metabolito. Cuantifica las unidades formadoras de colonia por mililitro o gramo de alimento (UFC/mL o UFC/g). Su objetivo es describir la cinética del crecimiento del microorganismo en un proceso determinado con el menor número posible de parámetros, sin perder exactitud a la hora de describir las etapas de crecimiento. El comportamiento de las bacterias se ve afectado por las condiciones ambientales, composición del alimento y por el estado fisiológico de las células (Stavropoulou, 2019). Por tanto, es necesario realizar un ajuste, desarrollo y validez de diferentes modelos versátiles que puedan representar el posible comportamiento de los microorganismos en cada matriz. Entre los modelos más utilizados y comunes se encuentran la ecuación de Gompertz modificada y el modelo de Baranyi ([Fig. 1](#)).

Modelos secundarios: Relacionan las respuestas de los modelos primarios con otras variables ambientales estudiadas, como el pH, la temperatura, actividad de agua, concentración de sales... Además de estas variables también permite el estudio de posibles infecciones bacterianas alimentarias en función de las condiciones de almacenamiento (temperatura, humedad relativa, atmósfera...) (Fakruddin *et al*, 2012). Dentro de este tipo de modelos, los más utilizados son el modelo de Arrhenius y el modelo de Ratkowsky ([Fig. 2](#)).

Modelos terciarios: Al combinar los modelos primarios con los secundarios se generan herramientas que se pueden utilizar como software o paquetes informáticos al objeto de mostrar las diferentes predicciones teniendo en cuenta todos los factores mencionados en los modelos anteriores, de una manera más automatizada. Estas herramientas permitirían a los operarios de la industria alimentaria disminuir los costes y el trabajo en el laboratorio, logrando así unos controles más eficaces en la seguridad alimentaria. Este tipo de modelo se ha desarrollado enormemente gracias al avance de la informática, proporcionando asimismo una amplia gama de aplicaciones diferentes ([Tabla 1](#)). Desde

hace muchos años, el desarrollo de un modelo predictivo busca recursos informáticos, con el fin de simplificar la complejidad de los cálculos matemáticos y poder aplicarlo en los procesos de la industria alimentaria (Elliott, 1996).

Ecuación de Gompertz modificada (Zwietering *et al*, 1990): Se trata de una función exponencial que describe una curva sigmoidea asimétrica. En los últimos años algunos investigadores han utilizado esta ecuación porque sus parámetros tienen una interpretación biológica:

$$y = y_{max} * \exp \left\{ - \exp \left[\left(\frac{\mu_{max} * \exp(1)}{y_{max}} \right) (\lambda - t) + 1 \right] \right\}$$

Donde y_{max} , μ_{max} y λ son parámetros de crecimiento estimados a través del algoritmo de regresión no lineal.

Esta ecuación se puede sintetizar en la siguiente expresión:

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

Donde:

- **Log N** = Logaritmo decimal de los recuentos microbianos (log [UFC/mL o UFC/g]) al tiempo **t**.
- **A** = Logaritmo de los recuentos cuando el tiempo decrece indefinidamente; equivale, aproximadamente, al logaritmo decimal del nivel inicial de bacterias.
- **C** = Logaritmo de los recuentos cuando el tiempo se incrementa indefinidamente.
- **M** = tiempo requerido para alcanzar la máxima velocidad de crecimiento.
- **B** = velocidad de crecimiento relativa al tiempo **M**.

De estos parámetros se deriva:

- Velocidad específica de crecimiento (μ) : $u = B * C / e$
- Duración de la fase de latencia (LPD) : $LPD = (M - 1) / B$
- Máxima densidad de población (MPD) : $MPD = A + C$

Además, también toma medidas directas de la respuesta (turbidez generada en un medio, absorbancia, impedancia, conductancia...) con un instrumental especializado.

Modelo de crecimiento de Baranyi (Baranyi & Roberts, 1994).

Ampliamente utilizado para las bacterias. El modelo supone que, después de un cierto periodo de ajuste, la tasa de crecimiento es constante, pero se produce una asíntota superior después de la fase exponencial.

$$y(t) = y_0 + \mu_{max} A - \ln \left\{ 1 + \frac{[\exp(\mu_{max} A) - 1]}{\exp(y_{max} - y_0)} \right\}$$

Donde:

- **y (t)**: concentración celular a tiempo **t** (log [UFC/mL o UFC/g]).
- **y₀**: Logaritmo natural de la concentración celular a **t** = 0.
- **y_{max}**: Logaritmo natural de la máxima concentración celular.
- μ_{max} : Velocidad máxima específica de crecimiento.
- **A (t)**: Retraso gradual del crecimiento en el tiempo, tiene en cuenta el estado fisiológico y se calcula mediante la ecuación:

$$A = t + \left(\frac{1}{\mu_{max}} \right) \ln [\exp(-\mu_{max} t) + \exp(-\mu_{max} \lambda) - \exp(-\mu_{max} t - \mu_{max} \lambda)]$$

Fig. 1. Explicación de los modelos primarios más utilizados en microbiología predictiva. Ecuación de Gompertz modificado de Cedrón, 2016 y modelo de Baranyi modificado de García, 2012.

Modelo de Ratkowsky (Ratkowsky *et al*, 1983):

$$\sqrt{y_{max}} = b(T - T_{min})\{1 - \exp[c(T - T_{max})]\}$$

Donde b, c son constantes estimadas, al igual que la temperatura mínima (T_{min}) y la máxima (T_{max}). Inicialmente este modelo incluía solo temperatura, pero ha sido aplicado a otros factores como la actividad de agua (a_w) (Tassou *et al*, 2007).

Modelo de Arrhenius-Davey

En un principio aplicado a observar el efecto de la temperatura en el crecimiento bacteriano:

$$\ln \mu_{max} = a_0 + a_1 / T + a_2 / T^2$$

Donde T es la temperatura absoluta (K). Puede modificarse y utilizarse con la actividad de agua (a_w) y el pH (Panagou *et al*, 2003).

Fig. 2. Explicación de los modelos secundarios más utilizados en microbiología predictiva. Modificado de García, 2012.

Tabla 1. Lista de los principales software, ordenados por año de salida, presentados en la 8ª International Conference of Predictive Modelling in Food (ICPMF8), en 2013. Modificado y adaptado de Tenenhaus-Aziza, F. & Ellouze, M. (2015).

Software	Enlace	Accesibilidad	Año	Enfoque usuarios
Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP)	http://fssp.food.dtu.dk/	Gratis, descargable	1999	FBOs*, Investigadores, Estudiantes/Profesores, Gobierno
ComBase	https://www.combase.cc/index.php/en/	Gratis, online	2004	FBOs, Investigadores, Estudiantes/Profesores, Gobierno
Microbial Responses Viewer (MRV)	http://mrviewer.info/	Gratis, online	2008	FBOs, Investigadores, Estudiantes/Profesores, Gobierno
FISHMAP	https://n9.cl/ei36	Gratis, online	2011	FBOs, Investigadores, Estudiantes/Profesores, Gobierno
MicroHibro	http://www.microhibro.com/	Gratis, online	2011	FBOs, Investigadores, Estudiantes/Profesores, Gobierno
FDA-iRISK	https://irisk.foodrisk.org/	Comercial, online	2012	FBOs, Investigadores, Estudiantes/Profesores, Gobierno
PMM-Lab	https://sourceforge.net/projects/pmmlab/	Gratis, online	2012	Investigadores, Estudiantes/Profesores, Gobierno
GroPIN	https://www.aua.gr/psomas/gropin/	Gratis, descargable	2013	FBOs, Investigadores, Estudiantes/Profesores, Gobierno

*FBOs: Siglas en inglés para denominar a los operadores de empresas alimentarias.

Se puede apreciar que la mayoría de ellos son de uso gratuito y accesible a usuarios interesados gracias a Internet. Entre ellos podemos encontrar aplicaciones con creadores españoles, como es el caso de FISHMAP o MicroHibro (González, S. C. *et al*, 2019).

MICOLOGÍA PREDICTIVA: CONCEPTO INICIAL

Como se ha comentado anteriormente, la microbiología predictiva siempre ha estado centrada en las bacterias que afectan a los alimentos. Sin embargo, desde hace años se comenzó a estudiar no solo a las bacterias, sino también a los hongos, así como los distintos problemas toxicológicos y económicos a los que están asociadas estas sustancias cuando se encuentran presentes en los alimentos. Debido a la capacidad de las esporas fúngicas de germinar y colonizar una gran variedad de sustratos, la prevención y el control de estos seres vivos está considerado un problema muy importante, tanto desde el punto de vista de la industria alimentaria, como de la agrícola o sanitaria (CAST, 2003). Las infecciones fúngicas son muy frecuentes en los diferentes cultivos agrícolas, apareciendo en cualquier etapa del proceso: en el campo, durante la cosecha o durante el secado y/o el almacenamiento (Chitarra *et al*, 2007). Estas infecciones pueden causar pérdidas económicas bastante graves, pudiendo alcanzar hasta un 70% en cultivos como el trigo (Talbot *et al*, 2003; Leonard *et al*, 2005). Además, los hongos traen asociados problemas de salud pública y animal, como consecuencia de la posible producción de micotoxinas cuando crecen sobre el alimento.

Las micotoxinas son compuestos químicos producidos de manera natural en el metabolismo secundario de algunos géneros de hongos. Al tratarse de metabolitos secundarios, su velocidad de producción depende de las condiciones ambientales y del sustrato sobre el que estos hongos crezcan. Se han identificado aproximadamente 400 metabolitos secundarios fúngicos tóxicos provenientes de alrededor de 100 mohos. Las principales especies que generan estas sustancias pertenecen a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium* y *Claviceps*. Las micotoxinas más relevantes que tienen una alta prevalencia en productos agrícolas contaminados son las aflatoxinas (AFs), ocratoxina A (OTA), tricotecenos (Deoxinivalenol (DON) y toxinas T₂ y HT₂), zearalenona (ZEA), fumonisinas (FBs) y la patulina (PAT) (Bennett *et al*, 2003). La exposición humana a estas sustancias es comúnmente provocada por el consumo de alimentos contaminados, como cereales, vegetales, frutas, leche, frutos secos...

Las micotoxinas pueden provocar una amplia variedad de efectos toxicológicos en humanos, en función de su naturaleza química: pueden tener efectos neurotóxicos (ergotoxinas), mientras otras poseen efectos teratogénicos (ocratoxinas), estrogénicos (ZEA), mutagénicos (AFs y esterigmatocistina) y/o carcinógenos (AFs, OTA y FBs). También han sido asociadas con algunas enfermedades crónicas y agudas en animales y humanos en diferentes partes del mundo (Bennett *et al*, 2003, D'Mello, 1997).

El concepto de micología predictiva permite la descripción del comportamiento cinético de los hongos en un alimento mediante el uso de modelos primarios. Este concepto comparte mucho con la microbiología predictiva, ya que muchos de los modelos utilizados para las bacterias sirven para los hongos, y esa ha sido la tendencia durante los últimos años.

Sin embargo, la diferencia entre ambos hace que haya sido necesario el desarrollo y la búsqueda de modelos y métodos específicos para hongos. Al contrario que las bacterias, el pH no tiene especial significancia en el crecimiento fúngico, al menos en un rango entre 3 y 8. Igual ocurre con la temperatura, siendo la actividad de agua (a_w) el valor ambiental más importante y característico para medir o predecir el crecimiento fúngico en alimentos (Holmquist *et al*, 1983). Además, existen otros elementos que juegan un papel importante en la aparición de hongos en alimentos, tales como la germinación e inactivación de conidias o esporas, crecimiento de micelio, producción de metabolitos... (Fig. 4). Es obvio que las condiciones ambientales tienen un gran efecto en todas las respuestas biológicas, pero a su vez los propios microorganismos provocan una variabilidad en los factores ambientales. Las interacciones entre organismos normalmente se omiten, teniendo más en cuenta los efectos en la germinación, el crecimiento y la producción de metabolitos.

PECULIARIDADES DE LOS HONGOS

Como se ha mencionado anteriormente, a pesar de compartir algunas similitudes con las bacterias, los hongos presentan una serie de características que hace que sea imposible de utilizar una metodología similar a la usada para las bacterias para su estudio predictivo en alimentos. El crecimiento fúngico incluye germinación, desarrollo de las hifas y formación de micelio, lo que dará lugar a un hongo maduro, que generará esporas en los esporangios. Una vez formadas las esporas, estas serán las encargadas de diseminarse por el ambiente para su proliferación, siendo las principales causantes de deterioro en alimentos al entrar en contacto con estos (Fig. 5).

Debido a su capacidad de división, las bacterias forman células únicas y pueden contarse fácilmente en un medio líquido, pudiendo observarse su crecimiento utilizando numerosos métodos para estimar el número de UFC/mL o UFC/g de alimento. La diferencia de los hongos es que el micelio, al contrario que las bacterias, no crece exponencialmente más allá de las primeras fases de crecimiento (Koch, 1975), además de que es muy complicado dividir el micelio en células individuales. Sin embargo, sí que se puede utilizar el método utilizado en las UFC para contar las esporas (Vindelov *et al*, 2002).

Además de los factores ambientales característicos (T , a_w), en el caso de los hongos también es determinante el nivel de oxígeno, necesario para que pueda producirse una contaminación fúngica en alimentos (debido a la dispersión de las esporas).

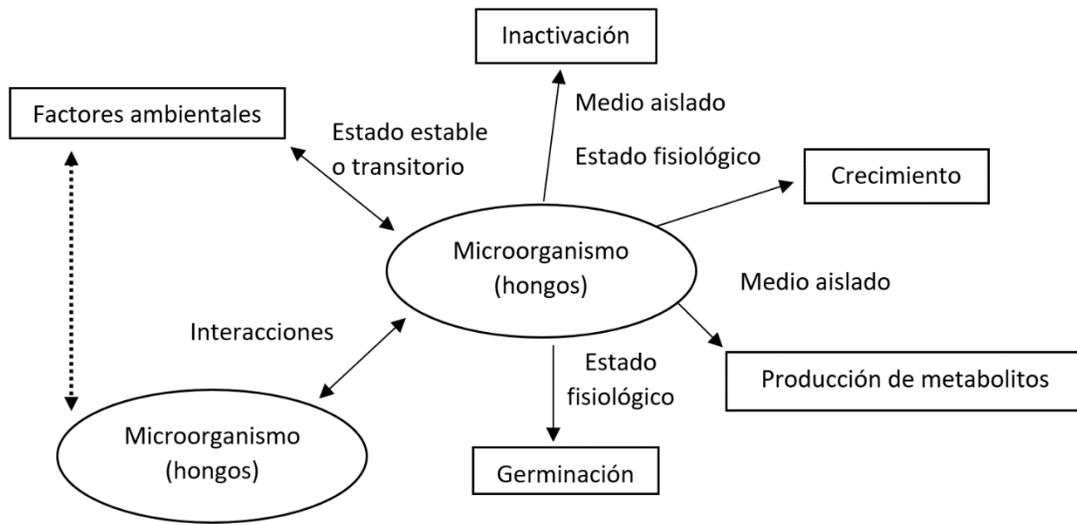


Fig. 4. Principales factores que afectan la respuesta fúngica en alimentos y en el ambiente. Modificado de Dantigny, P., 2016.

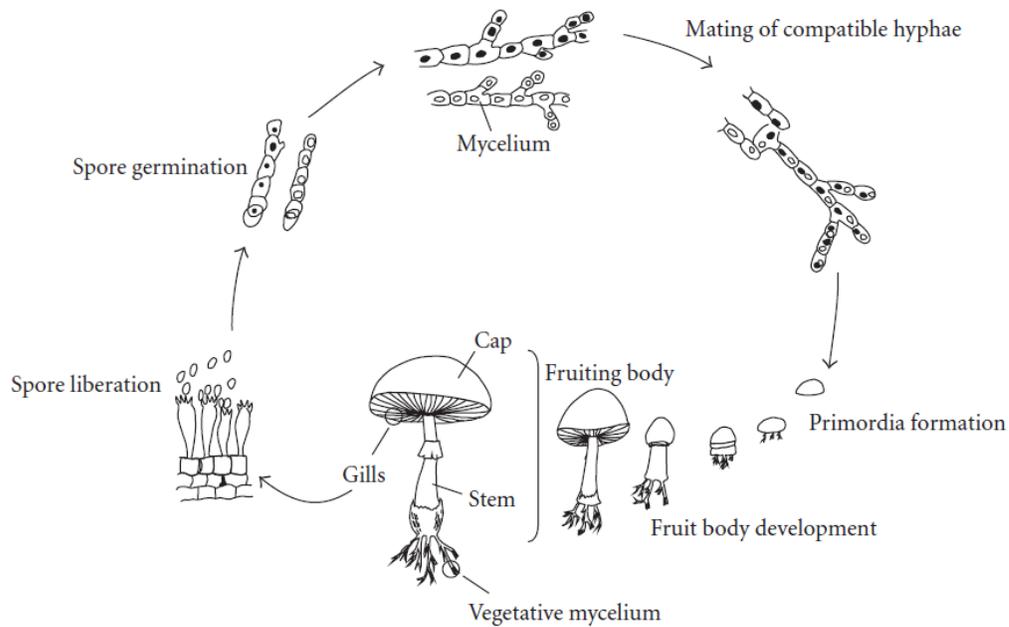


Fig. 5. Representación esquemática del ciclo biológico de los hongos. Lull *et al*, 2005.

Modelos primarios

Modelos de inactivación

Siguiendo el modelo utilizado para las bacterias, se utiliza para estudiar la inactivación de las esporas la siguiente ecuación: $dN/dt = -kN$

Donde N es el número de esporas que sobreviven después del tratamiento (CFU/mL), t es el tiempo (min) y k es la tasa de inactivación (min^{-1}). Este modelo cinético de primer orden es un modelo que asume que todas las células (en este caso esporas) de una población tienen una resistencia idéntica a un tratamiento letal y el logaritmo del número de sobrevivientes disminuye linealmente durante el tiempo de tratamiento. Con esto se obtiene el valor D (min), que es el tiempo necesario para inactivar el 90% de las esporas a una determinada temperatura, $D = (\ln 10)/k$. Los resultados obtenidos dependen del tipo de esporas sobre el que se utilicen: las ascosporas son prácticamente resistentes al tratamiento por calor, llegando a necesitar hasta 15 minutos para alcanzar su valor D (Bayne *et al*, 1979) mientras que, en cambio, las conidiosporas son más sensibles al tratamiento térmico (Marquenie, 2002).

Modelos de germinación

La germinación se considera el principal proceso para observar el crecimiento de hongos en alimentos, ya que un alimento se considera contaminado cuando se detecta la presencia de hifas sobre él. El primer modelo que se utilizó en hongos fue la ecuación de Gompertz modificada (Marín *et al*, 1996) aunque posteriormente también se han utilizado modelos probabilísticos teniendo como germinación la probabilidad de que una sola espора germine: $P = P_{\max}/(1 + \exp(k(\tau - t)))$ (Dantigny, 2002) donde P_{\max} se sustituye por 100 (todas las esporas son capaces de germinar), k la temperatura dada, τ el tiempo donde $P = P_{\max}/2$.

Modelos de crecimiento

El modelo primario más utilizado es el de Baranyi, adaptado a medir el diámetro de las colonias formadas en los diferentes hongos. Sin embargo, también se pueden utilizar modelos lineales o basados en la ecuación de Gompertz ([Fig. 6](#)). Al contrario que el porcentaje de germinación, el tiempo de crecimiento depende del número de esporas que se encuentren en el alimento (o hayan sido inoculadas en caso de trabajo de experimentación). Esto podría deberse a que un gran inóculo de esporas formarían una colonia más rápidamente que un inóculo más pequeño (Sautour *et al*, 2003). Por lo tanto, es necesario tener en cuenta el número inicial de esporas para hacer una elección adecuada de las ecuaciones o modelos a utilizar para describir el crecimiento fúngico en un alimento.

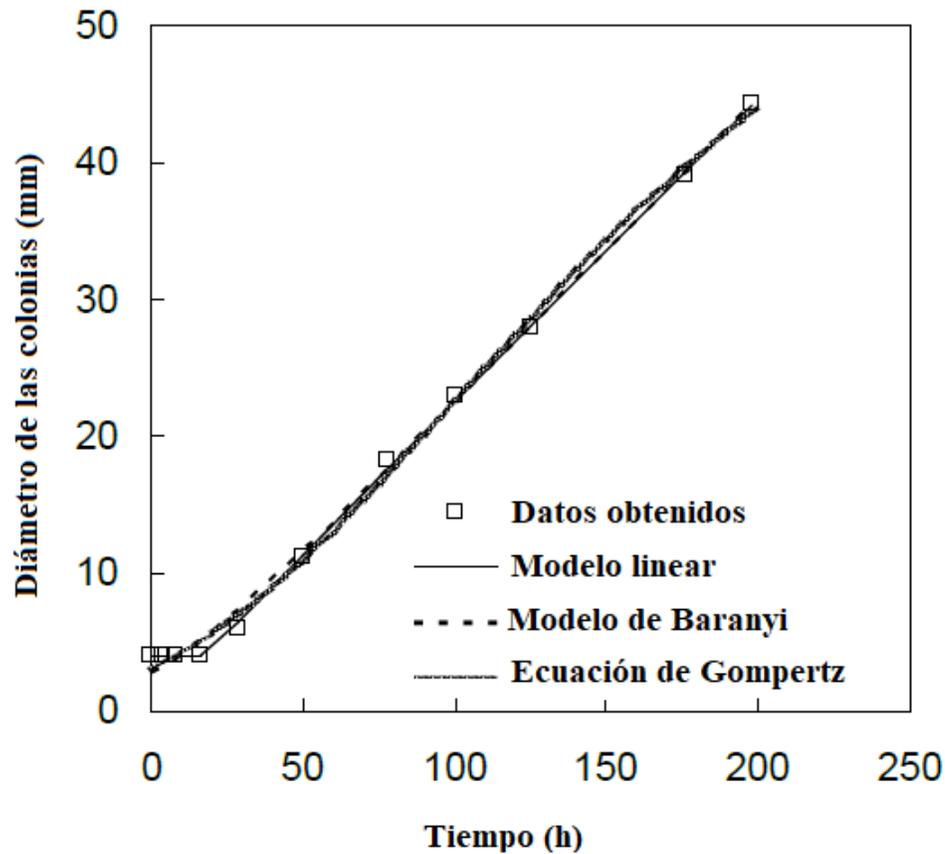


Fig. 6. Comparación de diferentes modelos de crecimiento (modelo lineal, Baranyi y Gompertz) adecuado al diámetro de colonias de *Penicillium expansum* a 20°C en agar extracto de malta (datos generados de Gougouli & Koutsoumanis, 2010). Como se observa, el crecimiento radial del micelio (diámetro de las colonias) es lineal, sin transición entre el retraso y la fase de crecimiento y sin pasar por fase estacionaria. Para este comportamiento, que es muy común en el crecimiento del micelio, es el modelo lineal el que se puede considerar más apropiado, ya que no se necesitan más que dos parámetros para realizar el modelo, aunque todos obtendrán resultados más o menos similares.

Modelos secundarios

Son los modelos más utilizados para el estudio de los hongos en alimentos, ya que, como se ha mencionado anteriormente, los parámetros ambientales tienen una gran influencia en el crecimiento fúngico. Dos de los parámetros más importantes (y más estudiados) son la temperatura y la actividad de agua, utilizando una gran variedad de modelos ([Tabla 2](#)), además de la capacidad del hongo de producir micotoxinas. Sin embargo, el efecto de las micotoxinas es diferente al del efecto de crecimiento. A pesar de no haber sido investigado este parámetro en profundidad, se ha estudiado (Lahouar *et al*, 2016) la influencia de la temperatura, actividad de agua y tiempo de incubación en la producción de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* en el sorgo. Los resultados obtenidos indican que es posible evitar la acumulación de AFB1 con una baja actividad de agua, sirviendo una vez más como parámetro vital en la aparición y contaminación fúngica en cultivos. Por otra parte, estudios posteriores (Lahouar *et al*, 2017; Prendes *et al*, 2017) para otras micotoxinas demuestran que no existe realmente una correlación entre el tipo de micotoxina y la especie que la genere, siendo más determinante los parámetros típicos utilizados (T y a_w) para evitar el crecimiento de hongos y micotoxinas en alimentos.

CONCLUSIONES/PERSPECTIVAS DE FUTURO

Como ha quedado establecido a lo largo de los últimos años, los modelos de seguridad establecidos por la microbiología predictiva son de gran utilidad para la industria alimentaria. La política de asignación de límites aceptables de contaminación microbiológica, o sustancias derivadas, en alimentos es bastante más accesible si se compara con la existente en épocas precedentes (McMeekin *et al*, 2008). Ello ha sido posible gracias a la creación de modelos predictivos que, cada vez más, han facilitado el estudio de diferentes situaciones en caso de existir contaminación bacteriana o fúngica. Esto, sumado a los avances tecnológicos, ha hecho posible que, hoy en día, se encuentren disponibles un gran número de herramientas y aplicaciones que facilitan estos estudios (Tenenhaus-Aziza *et al*, 2015).

Centrándose en el campo de la micología, se ha visto una gran evolución con respecto a hace unas décadas, ya que el interés por la contaminación fúngica en alimentos ha alcanzado unos niveles similares a los de la contaminación por bacterias. Es por ello por lo que, si bien se ha basado en los principios de la microbiología predictiva, se ha potenciado el desarrollo de modelos y técnicas específicas para el análisis de los hongos y sus diferentes efectos contaminantes sobre los alimentos, como las micotoxinas.

Tabla 2. Listado de modelos secundarios cinéticos de crecimiento utilizados en micología predictiva. La mayoría centrados en estudiar varios parámetros (T y a_w , sobre todo). Modificado de García (2012) y adición de estudios más recientes.

Modelo	Parámetros estudiados	Referencias
Arrhenius-Davey	Temperatura y a_w	Samapundo <i>et al</i> (2005) Samapundo <i>et al</i> (2007)
Polinomiales	Temperatura y a_w	Pardo <i>et al</i> (2006) Galati <i>et al</i> (2011)
	Temperatura y pH	Silva <i>et al</i> (2010) Dos Santos <i>et al</i> (2018)
	Temperatura, pH y a_w	Panagou <i>et al</i> (2003) Fuccio <i>et al</i> (2016)
Ratkowsky	Temperatura	Baert <i>et al</i> (2007) Tarlak <i>et al</i> (2020)
	Temperatura y a_w	Parra & Magan (2004)
Rosso	Temperatura y a_w	Tassou <i>et al</i> (2007)
Concepto gamma	Temperatura, pH y a_w	Judet-Correia <i>et al</i> (2010) Burgain <i>et al</i> (2015)

Sin embargo, con la excepción de estas últimas, debido a su potencial carácter tóxico, es necesario establecer un mayor enfoque en el estudio de la germinación y el tiempo de crecimiento de las esporas en alimentos contaminados, precisamente porque son éstas las principales causantes de contaminación por hongos en alimentos. En este sentido, se ha demostrado que los factores ambientales, sobre todo temperatura y actividad de agua (no el pH, a diferencia de las bacterias) junto a otras variables como la naturaleza del sustrato pueden ayudar a disminuir o, incluso evitar, el crecimiento fúngico en alimentos. Asimismo, el conocimiento del estado fisiológico de las esporas, la cantidad de estas que infectan el alimento, la propia interacción entre los organismos y las variabilidad entre individuos aislados resulta determinante para el estudio y desarrollo de la micología predictiva.

En el contexto de la industria alimentaria, a pesar de los avances que se han realizado en cuestión de modelos predictivos, es necesario el desarrollo de nuevos modelos que permitan predecir de manera más exacta el crecimiento fúngico no solo durante las primeras fases de la cadena alimentaria, sino también durante la postcosecha (almacenamiento, procesado de alimentos y distribución de estos) para controlar e incluso evitar determinadas situaciones. Algunas de estas pueden ser una distribución aleatoria de esporas fúngicas en el alimento, presencia de diferentes cepas de una misma especie, controlar las condiciones óptimas de crecimiento y producción de micotoxinas o intentar controlar en la mayor medida de lo posible las condiciones ambientales dinámicas (diferente humedad, nivel de oxígeno durante almacenamiento...) (Aldars, 2017).

Como conclusión, se puede decir que la micología predictiva se encuentra en un auge y desarrollo continuo, gracias a la demanda actual que existe en el mercado de obtener productos alimenticios más frescos, naturales y ecológicos. Esto ha seguido promoviendo la búsqueda y desarrollo de herramientas y técnicas que ayuden a satisfacer estas necesidades, de manera que ayude a elevar la confianza y seguridad tanto de los productores como de los consumidores de alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

- Aldars García, Laila (2017). *Predictive mycology as a tool for controlling and preventing the aflatoxin risk in postharvest*. (Tesis doctoral). Universitat de Lleida. Departament de Tecnologia d'Aliments. Obtenido de: <http://hdl.handle.net/10803/418806>
- Baert, K., Valero, A., De Meulenaer, B., Samapundo, S., Ahmed, M. M., Bo, L., ... Devlieghere, F. (2007). *Modeling the effect of temperature on the growth rate and lag phase of *Penicillium expansum* in apples*. International Journal of Food Microbiology, 118(2), 139–150. [doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.006](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.006)
- Baranyi, J., & Roberts, T. A. (1994). *A dynamic approach to predicting bacterial growth in food*. International Journal of Food Microbiology, 23(3-4), 277–294. [doi:10.1016/0168-1605\(94\)90157-0](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90157-0)
- Baranyi, J., & Roberts, T. A. (1995). *Mathematics of predictive food microbiology*. International Journal of Food Microbiology, 26(2), 199–218. [doi:10.1016/0168-1605\(94\)00121-1](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)00121-1)
- Baranyi, J., Roberts, T. A., & McClure, P. (1993). *A non-autonomous differential equation to model bacterial growth*. Food Microbiology, 10(1), 43–59. [doi:10.1006/fmic.1993.1005](https://doi.org/10.1006/fmic.1993.1005)
- Bayne, H.G., Michener, H.D. (1979) *Heat resistance of *Byssoschlamys ascospores**. Applied and Environmental Microbiology. Vol 2(3), 37, 449– 453. Obtenido de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC243237/>
- Bennett, J. W., & Klich, M. (2003). *Mycotoxins*. Clinical Microbiology Reviews, 16(3), 497–516. [doi:10.1128/cmr.16.3.497-516.2003](https://doi.org/10.1128/cmr.16.3.497-516.2003)
- Buchanan, R. L. (1993). *Predictive food microbiology*. Trends in Food Science & Technology, 4(1), 6–11. [doi:10.1016/s0924-2244\(05\)80004-4](https://doi.org/10.1016/s0924-2244(05)80004-4)
- Buchanan, R. L., & Whiting, R. C. (1996). *Risk Assessment and Predictive Microbiology*. Journal of Food Protection, 59(13), 31–36. [doi:10.4315/0362-028x-59.13.31](https://doi.org/10.4315/0362-028x-59.13.31)
- Burgain, A., Bensoussan, M., & Dantigny, P. (2015). *Validation of a predictive model for the growth of chalk yeasts on bread*. International Journal of Food Microbiology, 204, 47–54. [doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.03.026](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.03.026)
- CAST. (2003). *Mycotoxins: Risks in Plant, Animal and Human Systems*. Report No. 139. Council for Agricultural Science and Technology, Ames, Iowa, USA. Obtenido de: <https://cutt.ly/LyQTqgb>
- Cedron Castro, J. (2016). *El modelo de Gompertz y su aplicación en Seguridad Alimentaria* (Trabajo de Fin de Grado). Universidad de Valladolid, Valladolid. Obtenido de: <https://cutt.ly/6yQEKKL>
- Chitarra, Gilma & Dijksterhuis, Jan. (2007). *The germinating spore as contaminating vehicle*. Food Mycology - a Multifaceted Approach to Fungi and Food. 83-100. Obtenido de: <https://cutt.ly/8yQR7uF>
- D'Mello, J. P. F., & Macdonald, A. M. C. (1997). *Mycotoxins*. Animal Feed Science and Technology, 69(1-3), 155–166. [doi:10.1016/s0377-8401\(97\)81630-6](https://doi.org/10.1016/s0377-8401(97)81630-6)

- Dantigny, P. (2016). *Relevant issues in predictive mycology*. *Current Opinion in Food Science*, 11, 29–33. [doi:10.1016/j.cofs.2016.08.011](https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.08.011)
- Dantigny, P., Guilmart, A., & Bensoussan, M. (2005). *Basis of predictive mycology*. *International Journal of Food Microbiology*, 100(1-3), 187–196. [doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.10.013](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.10.013)
- Dantigny, P., Soares Mansur, C., Sautour, M., Tchobanov, I., & Bensoussan, M. (2002). *Relationship between spore germination kinetics and lag time during growth of *Mucor racemosus**. *Letters in Applied Microbiology*, 35(5), 395–398. [doi:10.1046/j.1472-765x.2002.01214.x](https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2002.01214.x)
- Davey, K. R. (1989). *A predictive model for combined temperature and water activity on microbial growth during the growth phase*. *Journal of Applied Bacteriology*, 67(5), 483–488. [doi:10.1111/j.1365-2672.1989.tb02519.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1989.tb02519.x)
- Dens, E. J., & Van Impe, J. F. (2001). *On the need for another type of predictive model in structured foods*. *International Journal of Food Microbiology*, 64(3), 247–260. [doi:10.1016/s0168-1605\(00\)00472-4](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(00)00472-4)
- Dos Santos, J. L. P., Silva, B. S., Furtado, M. M., Morassi, L. L. P., Vermeulen, A., & Sant’Ana, A. S. (2018). *The application of growth-no growth models to directly assess the stability of wholemeal multigrain bread towards *Penicillium paneum* LMQA-002 and *Paecilomyces variotii* LMQA-001*. *LWT*, 97, 231–237. [doi:10.1016/j.lwt.2018.07.004](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.07.004)
- Elliott, P. H. (1996). *Predictive Microbiology and HACCP*. *Journal of Food Protection*, 59(13), 48–53. [doi:10.4315/0362-028x-59.13.48](https://doi.org/10.4315/0362-028x-59.13.48)
- Esty, J. R., & Meyer, K. F. (1922). *The heat resistance of the spores of *B. botulinus* and allied anaerobes*. *XI Journal of Infectious Diseases*, 31(6), 650–663. [doi:10.1093/infdis/31.6.650](https://doi.org/10.1093/infdis/31.6.650)
- Fakruddin, M., Mazumdar, R. M., & Mannan, K. S. B. (2012). *Predictive microbiology: Modeling microbial responses in food*. *Ceylon Journal of Science (Biological Sciences)*, 40(2), 121. <https://doi.org/10.4038/cjsbs.v40i2.3928>
- Fuccio, F., Bevilacqua, A., Sinigaglia, M., & Corbo, M. R. (2016). *Using a polynomial model for fungi from table olives*. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(5), 1276–1283. [doi:10.1111/ijfs.13083](https://doi.org/10.1111/ijfs.13083)
- Galati, S., Giannuzzi, L., & Giner, S. A. (2011). *Modelling the effect of temperature and water activity on the growth of *Aspergillus parasiticus* on irradiated Argentinian flint maize*. *Journal of Stored Products Research*, 47(1), 1–7. [doi:10.1016/j.jspr.2010.06.004](https://doi.org/10.1016/j.jspr.2010.06.004)
- García, D. (2012). *Predictive mycology and use of natural antifungal to prevent the mycotoxin food hazard*. (Tesis doctoral). Universitat de Lleida. Departament de Tecnologia d'Aliments. Obtenido de: <http://www.dart-europe.eu/full.php>
- González, S. C., Possas, A., Carrasco, E., Valero, A., Bolivar, A., Posada-Izquierdo, G. D., ... Perez-Rodriguez, F. (2018). *“MicroHibro”: A software tool for predictive microbiology and microbial risk assessment in foods*. *International Journal of Food Microbiology*. [doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2018.10.007](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.10.007)

- Gougouli, M., & Koutsoumanis, K. P. (2010). *Modelling growth of Penicillium expansum and Aspergillus niger at constant and fluctuating temperature conditions*. International Journal of Food Microbiology, 140(2-3), 254–262. [doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.021](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.021)
- Holmquist, G. U., Walker, H. W., & Stahr, H. M. (1983). *Influence of Temperature, pH, Water Activity and Antifungal Agents on Growth of Aspergillus flavus and A. parasiticus*. Journal of Food Science, 48(3), 778–782. [doi:10.1111/j.1365-2621.1983.tb14897.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1983.tb14897.x)
- Judet-Correia, D., Bollaert, S., Duquenne, A., Charpentier, C., Bensoussan, M., & Dantigny, P. (2010). *Validation of a predictive model for the growth of Botrytis cinerea and Penicillium expansum on grape berries*. International Journal of Food Microbiology, 142(1-2), 106–113. [doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.06.009](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.06.009)
- Koch, A. L. (1975). *The Kinetics of Mycelial Growth*. Journal of General Microbiology, 89(2), 209–216. [doi:10.1099/00221287-89-2-209](https://doi.org/10.1099/00221287-89-2-209)
- Lahouar, A., Marin, S., Crespo-Sempere, A., Saïd, S., & Sanchis, V. (2016). *Effects of temperature, water activity and incubation time on fungal growth and aflatoxin B1 production by toxinogenic Aspergillus flavus isolates on sorghum seeds*. Revista Argentina de Microbiología, 48(1), 78–85. [doi:10.1016/j.ram.2015.10.001](https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.10.001)
- Lahouar, A., Marin, S., Crespo-Sempere, A., Saïd, S., & Sanchis, V. (2017). *Influence of temperature, water activity and incubation time on fungal growth and production of ochratoxin A and zearalenone by toxigenic Aspergillus tubingensis and Fusarium incarnatum isolates in sorghum seeds*. International Journal of Food Microbiology, 242, 53–60. [doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.11.015](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.11.015)
- Leonard, K. J., & Szabo, L. J. (2005). *Stem rust of small grains and grasses caused by Puccinia graminis*. Molecular Plant Pathology, 6(2), 99–111. [doi:10.1111/j.1364-3703.2005.00273.x](https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00273.x)
- Lull, C., Wichers, H. J., & Savelkoul, H. F. J. (2005). *Antiinflammatory and Immunomodulating Properties of Fungal Metabolites*. Mediators of Inflammation, 2005(2), 63–80. [doi:10.1155/mi.2005.63](https://doi.org/10.1155/mi.2005.63)
- Marín, S., Sanchis, V., Teixido, A., Saenz, R., Ramos, A. J., Vinas, I., & Magan, N. (1996). *Water and temperature relations and microconidial germination of Fusarium moniliforme and Fusarium proliferatum from maize*. Canadian Journal of Microbiology, 42(10), 1045–1050. [doi:10.1139/m96-134](https://doi.org/10.1139/m96-134)
- Marquenie, D. (2002). *Inactivation of conidia of Botrytis cinerea and Monilinia fructigena using UV-C and heat treatment*. International Journal of Food Microbiology, 74(1-2), 27–35. [doi:10.1016/s0168-1605\(01\)00719-x](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(01)00719-x)
- McClure, P. (1997). *Predictive modelling of growth of Listeria monocytogenes: The effects on growth of NaCl, pH, storage temperature and NaNO2*. International Journal of Food Microbiology, 34(3), 221–232. [doi:10.1016/s0168-1605\(96\)01193-2](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(96)01193-2)
- McMeekin, T. A., Olley, J., Ratkowsky, D. A., & Ross, T. (2002). *Predictive microbiology: towards the interface and beyond*. International Journal of Food Microbiology, 73(2-3), 395–407. [doi:10.1016/s0168-1605\(01\)00663-8](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(01)00663-8)

McMeekin, T., & Ross, T. (2002). *Predictive microbiology: providing a knowledge-based framework for change management*. International Journal of Food Microbiology, 78(1-2), 133–153. [doi:10.1016/s0168-1605\(02\)00231-3](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(02)00231-3)

McMeekin, T., Bowman, J., McQuestin, O., Mellefont, L., Ross, T., & Tamplin, M. (2008). *The future of predictive microbiology: Strategic research, innovative applications and great expectations*. International Journal of Food Microbiology, 128(1), 2–9. [doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2008.06.026](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.06.026)

Panagou, E. Z., Skandamis, P. N., & Nychas, G.-J. E. (2003). *Modelling the combined effect of temperature, pH and a_w on the growth rate of *Monascus ruber*, a heat-resistant fungus isolated from green table olives*. Journal of Applied Microbiology, 94(1), 146–156. [doi:10.1046/j.1365-2672.2003.01818.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01818.x)

Panagou, E. Z., Skandamis, P. N., & Nychas, G.-J. E. (2003). *Modelling the combined effect of temperature, pH and a_w on the growth rate of *Monascus ruber*, a heat-resistant fungus isolated from green table olives*. Journal of Applied Microbiology, 94(1), 146–156. [doi:10.1046/j.1365-2672.2003.01818.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01818.x)

Pardo, E., Malet, M., Marín, S., Sanchis, V., & Ramos, A. J. (2006). *Effects of water activity and temperature on germination and growth profiles of ochratoxigenic *Penicillium verrucosum* isolates on barley meal extract agar*. International Journal of Food Microbiology, 106(1), 25–31. [doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2005.07.002](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.07.002)

Parra, R., & Magan, N. (2004). *Modelling the effect of temperature and water activity on growth of *Aspergillus niger* strains and applications for food spoilage moulds*. Journal of Applied Microbiology, 97(2), 429–438. [doi:10.1111/j.1365-2672.2004.02320.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02320.x)

Perez-Rodríguez, F., & Valero, A. (2013). *Predictive Microbiology in Foods*. [doi:10.1007/978-1-4614-5520-2](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5520-2)

Prendes, L. P., Zachetti, V. G. L., Pereyra, A., Morata de Ambrosini, V. I., & Ramirez, M. L. (2017). *Water activity and temperature effects on growth and mycotoxin production by *Alternaria alternate* strains isolated from Malbec wine grapes*. Journal of Applied Microbiology, 122(2), 481–492. [doi:10.1111/jam.13351](https://doi.org/10.1111/jam.13351)

Ratkowsky, D., Lowry, R.K., McMeekin, T.A., Stokes, A.N., Chandler, R.E (1983) *Model for bacterial culture growth rate throughout the entire biokinetic temperature range*. Journal of Bacteriology 154, 1222-1226. Obtenido de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC217594/>

Samapundo, S., Devlieghere, F., De Meulenaer, B., Geeraerd, A. H., Van Impe, J. F., & Debevere, J. M. (2005). *Predictive modelling of the individual and combined effect of water activity and temperature on the radial growth of *Fusarium verticillioides* and *F. proliferatum* on corn*. International Journal of Food Microbiology, 105(1), 35–52. [doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.007](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.007)

- Samapundo, S., Devlieghere, F., Geeraerd, A., Demeulenaer, B., Vanimpe, J., & Debevere, J. (2007). *Modelling of the individual and combined effects of water activity and temperature on the radial growth of Aspergillus flavus and A. parasiticus on corn*. Food Microbiology, 24(5), 517–529. [doi:10.1016/j.fm.2006.07.021](https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.07.021)
- Sautour, M., Dantigny, P., Guilhem, M.-C., & Bensoussan, M. (2003). *Influence of inoculum preparation on the growth of Penicillium chrysogenum*. Journal of Applied Microbiology, 95(5), 1034–1038. [doi:10.1046/j.1365-2672.2003.02073.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02073.x)
- Silva, A. R., Sant’Ana, A. S., & Massaguer, P. R. (2010). *Modelling the lag time and growth rate of Aspergillus section Nigri IOC 4573 in mango nectar as a function of temperature and pH*. Journal of Applied Microbiology, 109(3), 1105–1116. [doi:10.1111/j.1365-2672.2010.04803.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04803.x)
- Stavropoulou, & Bezirtzoglou. (2019). *Predictive Modeling of Microbial Behavior in Food*. Foods, 8(12), 654. [doi:10.3390/foods8120654](https://doi.org/10.3390/foods8120654)
- Talbot, N. J. (2003). *On the Trail of a Cereal Killer: Exploring the Biology of Magnaporthe grisea*. Annual Review of Microbiology, 57(1), 177–202. [doi:10.1146/annurev.micro.57.030502.090957](https://doi.org/10.1146/annurev.micro.57.030502.090957)
- Tarlak, F., Ozdemir, M., & Melikoglu, M. (2020). *Predictive modelling for the growth kinetics of Pseudomonas spp. on button mushroom (Agaricus bisporus) under isothermal and non-isothermal conditions*. Food Research International, 130, 108912. [doi:10.1016/j.foodres.2019.108912](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108912)
- Tassou, C. C., Panagou, E. Z., Natskoulis, P., & Magan, N. (2007). *Modelling the effect of temperature and water activity on the growth of two ochratoxigenic strains of Aspergillus carbonarius from Greek wine grapes*. Journal of Applied Microbiology, 103(6), 2267–2276. [doi:10.1111/j.1365-2672.2007.03480.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03480.x)
- Tassou, C. C., Panagou, E. Z., Natskoulis, P., & Magan, N. (2007). *Modelling the effect of temperature and water activity on the growth of two ochratoxigenic strains of Aspergillus carbonarius from Greek wine grapes*. Journal of Applied Microbiology, 103(6), 2267–2276. [doi:10.1111/j.1365-2672.2007.03480.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03480.x)
- Tenenhaus-Aziza, F., & Ellouze, M. (2015). *Software for predictive microbiology and risk assessment: A description and comparison of tools presented at the ICPMF8 Software Fair*. Food Microbiology, 45, 290–299. [doi:10.1016/j.fm.2014.06.026](https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.06.026)
- Tenenhaus-Aziza, F., & Ellouze, M. (2015). *Software for predictive microbiology and risk assessment: A description and comparison of tools presented at the ICPMF8 Software Fair*. Food Microbiology, 45, 290–299. [doi:10.1016/j.fm.2014.06.026](https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.06.026)
- Vindelov, J., & Arneborg, N. (2002). *Effects of Temperature, Water Activity, and Syrup Film Composition on the Growth of Wallemia sebi: Development and Assessment of a Model Predicting Growth Lags in Syrup Agar and Crystalline Sugar*. Applied and Environmental Microbiology, 68(4), 1652–1657. [doi:10.1128/aem.68.4.1652-1657.2002](https://doi.org/10.1128/aem.68.4.1652-1657.2002)
- Yarce, Cristhian. (2013). *Microbiología predictiva: Una ciencia en auge*. Inge@UAN. Vol. 3(6), 31-43. Obtenido de: <https://cutt.ly/MyQTrj4>

Zwietering, M.H., Jongenburger, I., Rombouts, F.M., Van't Riet, K (1990) *Modelling of bacterial growth curve*. Applied and Environmental Microbiology 56, 1875-1881. Obtenido de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16348228/>