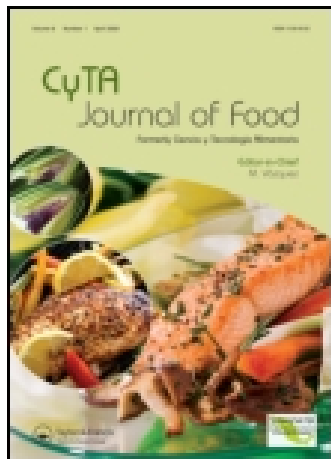


This article was downloaded by: [190.151.168.196]

On: 10 January 2015, At: 16:45

Publisher: Taylor & Francis

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



Ciencia y Tecnología Alimentaria

Publication details, including instructions for authors and subscription information:
<http://www.tandfonline.com/loi/tcyt19>

CRECIMIENTO MICROBIANO EN PRODUCTOS CÁRNICOS REFRIGERADOS MICROBIAL GROWTH IN REFRIGERATED MEAT PRODUCTS CRECEMENTO MICROBIANO EN PRODUCTOS CÁRNICOS REFRIGERADOS

J. Tirado^a, D. Paredes^a, G. Velazquez^{a b} & J. A. Torres^a

^a Food Process Engineering Group, Oregon State University, Corvallis, OR, 97331-6602, USA

^b Departamento de Tecnología de Alimentos, UAM-Reynosa-Aztlán, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Reynosa, Tamaulipas, 88700, México

Published online: 02 Oct 2009.

To cite this article: J. Tirado, D. Paredes, G. Velazquez & J. A. Torres (2005) CRECIMIENTO MICROBIANO EN PRODUCTOS CÁRNICOS REFRIGERADOS MICROBIAL GROWTH IN REFRIGERATED MEAT PRODUCTS CRECEMENTO MICROBIANO EN PRODUCTOS CÁRNICOS REFRIGERADOS, *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 5:1, 66-76

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/11358120509487673>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Taylor & Francis makes every effort to ensure the accuracy of all the information (the "Content") contained in the publications on our platform. However, Taylor & Francis, our agents, and our licensors make no representations or warranties whatsoever as to the accuracy, completeness, or suitability for any purpose of the Content. Any opinions and views expressed in this publication are the opinions and views of the authors, and are not the views of or endorsed by Taylor & Francis. The accuracy of the Content should not be relied upon and should be independently verified with primary sources of information. Taylor and Francis shall not be liable for any losses, actions, claims, proceedings, demands, costs, expenses, damages, and other liabilities whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with, in relation to or arising out of the use of the Content.

This article may be used for research, teaching, and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, redistribution, reselling, loan, sub-licensing, systematic supply, or distribution in any form to anyone is expressly forbidden. Terms & Conditions of access and use can be found at <http://www.tandfonline.com/page/terms-and-conditions>

CRECIMIENTO MICROBIANO EN PRODUCTOS CÁRNICOS REFRIGERADOS

MICROBIAL GROWTH IN REFRIGERATED MEAT PRODUCTS

CRECIMENTO MICROBIANO EN PRODUCTOS CÁRNICOS REFRIGERADOS

Tirado, J.¹; Paredes, D.¹; Velazquez, G.^{1,2}; Torres, J. A.^{1*}

¹Food Process Engineering Group, Oregon State University, Corvallis, OR 97331-6602. USA.

²Departamento de Tecnología de Alimentos, UAM-Reynosa-Aztlán, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Reynosa, Tamaulipas, 88700 México.

*Autor para la correspondencia: Tel: 5417374757, FAX: 5417376174. Email: J_Antonio.Torres@OregonState.edu

Recibido: 2 de Mayo de 2005; aceptado: 29 de Septiembre de 2005

Received: 2 May 2005; accepted: 29 September 2005

Abstract

Microbial quality and safety are a function of the cumulative effect of the temperature of raw materials, production processes, storage and transportation. Improving quality and safety increases the demand for refrigerated meat products. This study focuses on alternatives to improve the cold chain including sector studies to determine temperature profiles and thus identify critical improvements to the cold chain. Information from temperature recorders attached to product shipments can be used to identify the frequency and severity of temperature abuses. Although, similar information is obtained by time-temperature indicators (TTI), these devices respond to the package temperature and can result in the reprocessing, rejection or destruction of acceptable products. Finally, databases and software available for the implementation of predictive microbiology, i.e., mathematical models relating substrate composition and temperature with microbial growth in foods, can be used to evaluate alternatives to eliminate microbial risks and extend microbial shelf life. © 2005 Altaga. All rights reserved.

Keywords: Refrigerated meat products, microbial spoilage, cold chain, temperature abuse.

Resumen

La demanda de productos cárnicos refrigerados aumenta al mejorar su calidad y seguridad microbiológica que son función del efecto acumulativo de la temperatura de materias primas, procesos productivos, almacenamiento y transporte. En este trabajo se presentan estrategias operacionales empezando con estudios sectoriales para decidir que puntos mejorar de la cadena de frío. Importantes son también los registradores de temperatura incorporados a envíos de productos para analizar la magnitud y frecuencia de los abusos de temperatura. Los indicadores tiempo-temperatura (TTI por sus siglas en inglés) proporcionan información similar pero responden a la temperatura del empaque y no del producto en su interior. Ello puede generar información falsa y sugerir la destrucción, rechazo o reprocesamiento de productos en buenas condiciones sanitarias. Por último, las bases de datos y software de microbiología predictiva, modelos matemáticos que relacionan la composición y temperatura del sustrato con la cinética de crecimiento en un alimento, permiten evaluar alternativas para reducir el riesgo microbiológico y extender la vida de aquel. © 2005 Altaga. Todos los derechos reservados.

Palabras clave: Productos cárnicos refrigerados, deterioro microbiológico, cadena de frío, abusos de temperatura.

Resumo

A demanda de produtos cárnicos refrixerados aumenta ó mellora-la súa calidade e seguridade microbiolóxica que son función do efecto acumulativo da temperatura de materias primas, procesos productivos, almacenamento e transporte. Neste traballo preséntanse estratexias operacionais empezando con estudos sectoriais para decidir que puntos mellorar da cadea de frío. Importantes son tamén os rexistradores de temperatura incorporados a envíos de produtos para analiza-la magnitude e frecuencia dos abusos de temperatura. Os indicadores tempo-temperatura (TTI polas súas siglas en inglés) proporcionan información similar pero responden á temperatura do empaque e non do produto no seu interior. Isto pode xerar información falsa e suxeri-la destrucción, rexeitamento ou reprocesamento de produtos en boas condicións sanitarias. Por último, as bases de datos e software de microbioloxía predictiva, modelos matemáticos que relacionan a composición e temperatura do sustrato ca cinética de crecemento nun alimento, permiten avaliar alternativas para reduci-lo risco microbiolóxico e extende-la vida de aquel. © 2005 Altaga. Tódolos dereitos reservados.

Palabras chave: Produtos cárnicos refrixerados, deterioro microbiolóxico, cadea de frío, abusos de temperatura.

INTRODUCCIÓN

La oferta de alimentos refrigerados se ha incrementado dramáticamente en países donde los sistemas de refrigeración son económicamente viables para procesadores, distribuidores y consumidores de alimentos. Entre los factores más importantes a los que se atribuye este incremento está la necesidad de consumir alimentos «convenientes» como por ejemplo carnes sazonadas refrigeradas listas para asar. Segundo, el aumento en número de personas que consideran que el consumo de alimentos altamente procesados y preservados no permite tener una vida larga y saludable. Finalmente, la disponibilidad de la tecnología necesaria para la producción de alimentos refrigerados mínimamente procesados y para su manejo subsiguiente hasta el punto de consumo (Ray, 2004). El consumo de carnes sazonadas precocidas y refrigeradas, platillos a base de carne listos para consumirse, gran variedad de productos cárnicos procesados de ave, res, cerdo, y productos marinos previamente cocidos y refrigerados han experimentado un notable aumento en su consumo (Anónimo, 2002).

La temperatura juega un papel crucial en el manejo y procesamiento de materias primas, distribución y almacenamiento de producto terminado. Un buen control de temperatura es imprescindible para alcanzar la vida útil que permita una adecuada comercialización del alimento (Simpson *et al.*, 1989; Torres, 1989). El valor de la temperatura crítica a mantener depende de los microorganismos que predominan en el producto así como de sus factores intrínsecos. Por ejemplo, los productos cárnicos refrigerados y mínimamente procesados cuando son sometidos a tratamientos térmicos, usan temperaturas de proceso moderadas por lo que sobrevive una carga microbiana residual significativa. Su elevada a_w y pH cercano a neutro, $a_w > 0,95$ y $pH > 5,2$, los clasifica como productos altamente perecederos pero cuando el pH y el a_w son menores, pH de 5,2 a 5,0 y a_w entre 0,95 y 0,91, el producto se clasifica como perecedero (Li y Torres, 1993c).

La cadena de frío en la industria de alimentos

La vida útil de los productos refrigerados está determinada por los efectos acumulativos de la temperatura durante el manejo de las materias primas, en los procesos productivos y en todas las etapas de almacenamiento y transporte requeridas para su comercialización. Los abusos de temperatura se reflejan en serios problemas de estabilidad microbiológica. Para la mayoría de los alimentos, se recomienda que la cadena de frío se mantenga dentro de un rango de temperatura entre -1 y 2 °C y que no sea superior a 5 °C (Simpson *et al.*, 1989). Desafortunadamente, los sistemas de producción y los canales de distribución no siempre cuentan con el equipamiento necesario para cumplir con esta recomendación. Por ejemplo, en muchos supermercados los estantes refrigerados se encuentran programados para operar entre 7 y 10 °C, y es todavía más grave cuando estos equipos se apagan durante la noche.

La extensa variedad de productos cárnicos refrigerados mínimamente procesados que se encuentran hoy en el mercado, hace urgente la necesidad de reducir

los máximos de temperatura de la cadena de frío para mejorar la seguridad alimentaria (Shimoni *et al.*, 2001; Ray, 2004). Actualmente en los Estados Unidos de América (EUA), se observan importantes mejoras y los supermercados mantienen sus productos refrigerados en "pasillos fríos" para así disminuir el diferencial de temperatura entre la del anaquel y el medio ambiente. Por otro lado, los países latinoamericanos están lejos de esta realidad, y si bien los grandes supermercados mantienen pasillos fríos, éstos se encuentran frecuentemente muy por encima de 15 °C. Esta es una situación preocupante para la industria cárnica puesto que la principal causal de disminución de la vida de anaquel es el crecimiento de bacterias psicotrópicas. Además debe considerarse el crecimiento de importantes patógenos que presentan crecimiento acelerado a temperaturas entre 7 y 10 °C, moderado entre 5 y 7 °C y lento a 5 °C tales como *Yersinia enterocolitica* y *Listeria monocytogenes*. En términos generales, la vida útil de un producto refrigerado se reduce a la mitad si este se encuentra entre 7 y 10 °C (Simpson *et al.*, 1989).

Efecto del abuso de temperatura en los alimentos refrigerados

Los efectos de los abusos de temperatura en la cadena de frío sobre la calidad de los alimentos refrigerados han sido evaluados por diversos investigadores (Ratkowsky *et al.*, 1982; Simpson *et al.*, 1989; Almonacid-Merino y Torres, 1993; Li y Torres, 1993a,b; Almonacid-Merino *et al.*, 1993; Hudson y Avery, 1994; Houtsma *et al.*, 1996; Rusell *et al.*, 1996; McMeekin *et al.*, 1997; Marth, 1998; Thomas *et al.*, 1999; Bovill *et al.*, 2000; Carlin *et al.*, 2000; Koutsoumanis, 2001; Sumner y Krist, 2002; Dalgaard *et al.*, 2002; Baranyi y Roberts, 1994). Las principales causas de disminución de vida útil de los alimentos son la pérdida de calidad sensorial causada por microorganismos y el crecimiento de patógenos a niveles detectables. Se reporta que en EUA, el abuso de temperatura durante la refrigeración de alimentos, es la principal causa de origen de casos de enfermedades transmitidas por alimentos (Tabla 1). El abuso de temperatura da como resultado el crecimiento de bacterias patógenas alcanzando niveles que causan enfermedades o intoxicaciones (Ray, 2004).

La población microbiana de los productos cárnicos refrigerados esta conformada por una gran cantidad de especies de bacterias. Por lo general, durante su elaboración, estos productos son sometidos a diversos procesos que disminuyen la carga y variedad inicial de

Tabla 1.- Factores predominantes asociados a casos de enfermedades transmitidas por alimentos por bacterias patógenas y virus en Estados Unidos de América (EUA) entre 1988 y 1992. Fuente: Ray, 2004.

Factor	Casos	%
Abusos de temperatura (refrigeración)	848	36,7
Higiene personal	554	22,3
Cocimiento inadecuado	401	17,4
Contaminación cruzada por equipo	229	9,9
Alimentos de fuentes inseguras	161	7,0
Otros	155	6,8

Tabla 2.- Tipos de alimentos asociados con casos de enfermedades transmitidas por alimentos de origen bacteriano y viral en Estados Unidos de América (EUA) entre 1983 y 1988. Fuente: Ray, 2004.

Tipo de alimento	Nº de casos	%	Patógenos predominante
Productos cárnicos	91	14	<i>Salmonella</i> (53%) <i>Staphylococcus aureus</i>
Pescado y sus productos	20	3	<i>Clostridium botulinum</i> (50%)
Huevo y sus derivados	11	2	<i>Salmonella</i> (82%)
Productos lácteos	26	4	<i>Salmonella</i> (27%)
Ensaladas	33	5	<i>Salmonella</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Shigella spp.</i>
Frutas y vegetales	44	7	<i>C. botulinum</i>
Bebidas	3	0.5	<i>C. botulinum</i>
Comidas étnicas	19	3	<i>C. perfringens</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Salmonella</i>
Alimentos compuestos	123	19	<i>Salmonella</i> (59%)
Alimentos desconocidos	254	40	<i>Salmonella</i> (68%) <i>Shigella spp.</i>

microorganismos con lo que se incrementa la vida útil del producto. Por ejemplo, se utilizan tratamientos térmicos moderados, agentes antimicrobianos y almacenamiento en refrigeración para controlar el crecimiento microbiano. Bajo este escenario, los microorganismos que logren sobrevivir y que presenten las mejores ventajas competitivas, son los que predominarán en el producto hasta llegar al consumidor.

Las bacterias causantes de deterioro son en su mayoría psicotrópicas y capaces de crecer entre 0 y 4 °C a un ritmo muy lento pero el crecimiento es acelerado cuando se producen abusos de temperatura en algún punto de la cadena de frío. El crecimiento comienza típicamente con el consumo de glucosa y oxígeno superficial por parte de *Pseudomonas* spp. *Brochothrix thermosphacta* también utiliza glucosa pero por su baja tasa de crecimiento es un competidor débil. Una vez alcanzada una población bacteriana de 10⁸/cm² la fuente de glucosa es agotada y comienza el consumo de aminoácidos, con el consiguiente desarrollo de putrefacción y aromas rancios asociados con ácidos grasos de cadena corta. También hay aparición de limo, producto del metabolismo de *Pseudomonas* spp, *Moraxella*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Serratia* y *Acinetobacter* spp (Li y Torres, 1993a,b; Zwietering *et al.*, 1996; Membre y Kubaczka, 1998; Marth, 1998; Jay, 2000; Carlin *et al.*, 2000; Koutsoumanis, 2001).

Ciertos alimentos son identificados con mayor frecuencia como causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). Este es el caso de los productos cárnicos, donde se incluyen carne de res, puerco, pavo, pollo, jamones y salchichas, a los cuales se les atribuyó en EUA el 14 % del total de los casos de ETA reportados entre los años de 1983 y 1988 (Tabla 2). Los principales patógenos en productos cárnicos refrigerados son *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*; *Clostridium perfringens* y *Bacillus cereus* asociados a productos pasteurizados y refrigerados; y *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella flexineri* y *Escherichia coli* O157:H7 que son frecuentes en productos cárnicos,

pescados y mariscos refrigerados. La presencia de 15 a 20 células de *Salmonella* spp en un alimento puede producir infecciones intestinales y aunque no compite con otros microorganismos a temperaturas de refrigeración, se desarrolla cuando se producen abusos de temperatura (15 a 20 °C). *C. perfringens* y *B. cereus* sobreviven tratamientos térmicos formando esporas que al germinar se reproducen a bajas temperaturas debido a su naturaleza psicotrópica. Cuando alcanzan un nivel de 10⁶ células por g de alimento provocan intoxicación al esporular en el intestino. *L. monocytogenes* puede causar septicemia, meningitis, encefalitis y otras infecciones cuando un alimento contiene más de 1000 células. La *Listeria* es una bacteria psicotrópica que tiene una rápida multiplicación a bajas temperaturas, más aún en condiciones de abusos (Farber *et al.*, 1998; Robinson *et al.*, 1998). Además su crecimiento se ve acelerado con el aumento de población de *Pseudomonas* spp (Lebert *et al.*, 2000). *Y. enterocolitica* crece muy lentamente a bajas temperaturas y no se conoce la dosis toxica que provoca infecciones. Se caracteriza por sus síntomas similares a apendicitis pero con aparición de diarrea. En refrigeración, *Shigella flexineri* es capaz de competir con otras bacterias y solo 10 células en un alimento son suficientes para provocar una infección intestinal. *E. coli* O157:H7 causa infección con la misma ingesta pero no crece a temperaturas bajas (<http://vm.cfsan.fda.gov/~mow/intro.html>; Buchanan y Klawitter, 1990, 1992; Hudson y Avery, 1994; Houtsma *et al.*, 1996; Buchanan *et al.*, 1997; Thomas *et al.*, 1999; Augustin *et al.*, 2000; Bovill *et al.*, 2000; Jeyamkondan *et al.*, 2001).

Las consecuencias de los abusos de temperatura no deben ser subestimadas. En el caso de productos ahumados en frío, envasados al vacío y refrigerados a <5 °C es posible eliminar el riesgo de *Clostridium botulinum* y otras esporas bacterianas patógenas pero no así el de *L. monocytogenes* que es capaz de crecer durante el almacenamiento refrigerado del producto con los consecuentes riesgos para el consumidor (Hudson y Mott, 1993). Por ejemplo, los productores de pescados y

Tabla 3.- Productos cárnicos retirados del mercado por posible contaminación con *Escherichia coli* 0157:H7 o *Listeria monocytogenes* en Estados Unidos de América (EUA) en el año 2004. Fuente: Food Safety Inspection Service (FSIS) de EUA, consultada Abril de 2005.

Productos contaminados con <i>E. coli</i> 0157:H7			
Fecha	Producto	Cantidad, kg	Compañía
24-Feb	Pate de res	40823	Richwood Meat Co., Inc.
29-Abril	Carne molida	20412	Excel Corporation
22-Jun	Productos de res	46085	Wolverine Packing Co.
17-Sep	Carne molida	26762	Packerland Packing Co.
Productos contaminados con <i>L. monocytogenes</i>			
Fecha	Producto	Cantidad, kg	Compañía
11-Ene	Platillos preparados de res	2354	American Kitchen Delights Inc
28-Ene	Productos de res listos p/consumo	23587	Vincent Giordano Corp
17-Feb	Salchichas de puerco	245	Troy Pork Store
16-Mar	Jamón cocido	324	Four Star Meat Products Co. Inc
5-Abril	Boloña	50	Charles T. Heard & Co
12-Abril	Productos cárnicos delicatessen	61	H.C. Schau & Sons Inc.
29-Jun	Productos de res ahumados	160	Hockenberry Processing
1-Jul	Productos de pollo cocidos	183582	Crestwood Farms
27-Jul	Productos de res y puerco	227	W. Bober Meat Market, Inc.
4-Ago	Salchichas	2431	Hi-Grade Meats, Inc.
10-Ago	Jamón cocido	192	Zemco Industry, Inc.
03-Nov	Productos de pollo listos p/consumo	578	Whole Foods Mid Atlantic Kitchen

mariscos ahumados en frío no pueden garantizar la inocuidad de estos productos y por ello estudios realizados por la Food and Drug Administration (FDA) de EUA han encontrado este patógeno con una frecuencia del 17% en estos productos. Este problema también se presenta en productos ahumados en caliente y se han encontrado en ellos a *L. monocytogenes* con una incidencia de 4% (Heintz y Johnson, 1998), y 8 % para el caso de productos cárnicos listos para consumirse (www.fsis.usda.gov/ophs/rtetest/index.htm, consultado 13-Abr-05). Las mejores prácticas de manufactura para salmón ahumado en frío logran reducir la incidencia de este patógeno solo a <1 ufc/g mientras que las agencias de gobierno usan métodos con una sensibilidad de 0,04 ufc/g. La detección de *L. monocytogenes*, *E. coli* 0157:H7, *Salmonella* y otros patógenos en productos cárnicos refrigerados obliga su retiro del mercado causando pérdidas económicas considerables y además son causantes de desprestigio para el productor. En la Tabla 3, se enlistan las compañías que debieron retirar productos cárnicos del mercado estadounidense durante el año 2004, debido a la posible contaminación con microorganismos patógenos.

CONTROL DE LA CADENA DE FRÍO

Los abusos de temperatura son frecuentes, aunque los intervalos de temperatura y tiempo generalmente se desconocen y ocurren en todos los puntos de la cadena de frío, sea por infraestructura deficiente, empaque inadecuado del producto, mal manejo del proceso o por errores de manipulación del producto durante su distribución y comercialización. Esto conlleva a grandes pérdidas económicas por deterioro del producto, disminución de su vida de anaquel lo que dificulta su comercialización, y generan también una pérdida importante de confianza por parte del consumidor. A

continuación se presentan estrategias de control que una empresa puede implementar para competir efectivamente en el mercado de productos refrigerados.

Estrategia 1: Caracterizar la cadena de frío

Es necesaria la cooperación entre productores, proveedores de materias primas, transportistas y las cadenas de supermercados para obtener información cuantitativa de la temperatura que se observan para un determinado producto y mercado específico. Por ejemplo, en estudios reportados por Simpson *et al.* (1989) se encontró que en las estanterías de los supermercados encuestados, un 60-80 % de los productos lácteos evaluados estaba fuera del rango de temperatura recomendado. Las mismas encuestas encontraron que en las estanterías del tipo abiertas, sólo el 23 % de los productos se encontraban por debajo de 5 °C mientras que en las cerradas esta fracción alcanzaba al 75 %. Se observó además que la distribución de temperatura dentro

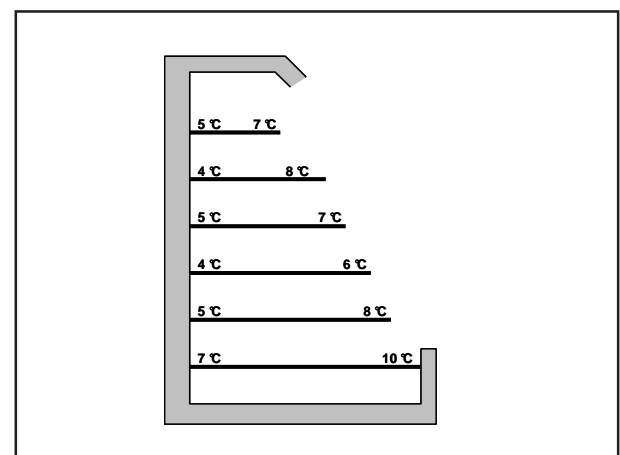


Figura 1. Distribución de temperatura promedio en estanterías abiertas típicas de supermercado. Fuente: Adaptada de Torres, 1989.

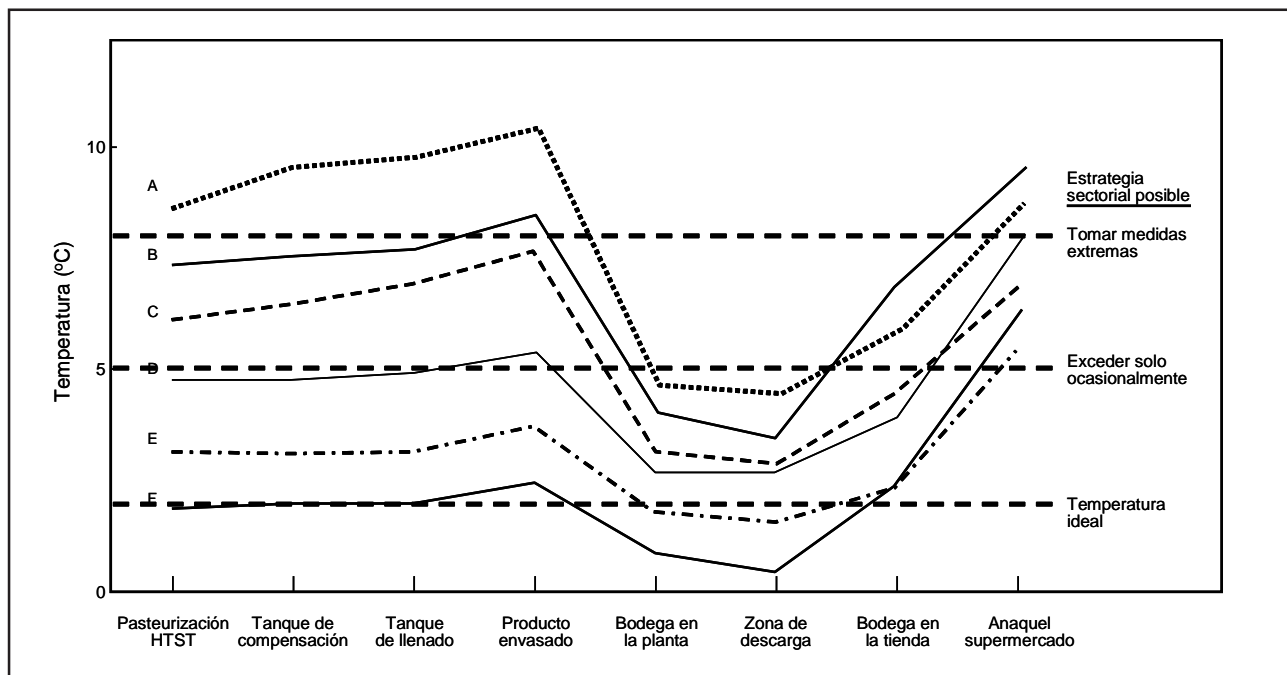


Figura 2. Ejemplo de cadena de frío para la producción y distribución de leche fresca. Fuente: Adaptada de Simpson *et al.*, 1989.

de las estanterías abiertas presentaba diferencias importantes de acuerdo a la ubicación del producto en ellas (Figura 1). Esta información es necesaria para que un procesador formule productos más estables y pueda establecer fechas de expiración que reflejen las condiciones reales de temperatura a las que estarán sometidos sus productos.

La realización de estudios colaborativos y confidenciales es una excelente opción para examinar la temperatura en los diferentes puntos de la cadena de frío. Cada empresa es asignada con un código secreto bajo el cual reporta la temperatura en sus plantas y sistemas de distribución de productos. Ello permite conocer la variabilidad de la temperatura de la cadena de frío y determinar así las necesidades comunes a todas las empresas. También permite saber si una empresa en particular debe mejorar su infraestructura con respecto al resto de las encuestadas. Las mejoras a la infraestructura de una empresa individual favorecen al resto pues aumentan la confianza del consumidor en los alimentos refrigerados. Un ejemplo de éste tipo de estudio fue reportado por Simpson *et al.* (1989) para la comercialización de leche fresca (Figura 2). En este estudio se observaron comportamientos comunes tales como llevar la leche pasteurizada y envasada al almacén refrigerado antes de enfriarla lo suficiente en la unidad de pasteurización y ello estaría disminuyendo su vida de anaquel. Se observó también que la temperatura promedio en las bodegas de los supermercados y sobre todo en los anaqueles de venta, estaba por arriba de los valores recomendados. En base a estos estudios, una asociación de productores podría establecer metas que el sector debe mantener, tales como una temperatura ideal de 2 °C en toda la cadena de frío, establecer que un producto alcance solo ocasionalmente 5 °C, y si un punto excede 8 °C se tomen medidas extremas como su reprocesamiento o destrucción.

Las cadenas de supermercados pueden persuadir a los productores a que mejoren la cadena de frío, modificando sus políticas de recepción para productos refrigerados. Por ejemplo en Dinamarca, una cadena de supermercados ha integrado por más de 15 años, sistemas de monitoreo de temperatura de alimentos refrigerados en su programa de control de calidad. Esta empresa rechaza o acepta envíos de acuerdo a la temperatura a la cual el productor o proveedor entrega el producto. Por ejemplo, el lote es rechazado cuando el límite legal de 5 °C es sobrepasado por más de 2 °C en el punto más caliente del lote. La compañía observó que el rechazo sistemático de envíos que excedían los límites de temperatura redujo significativamente la cantidad de envíos que sobrepasaban los límites de temperatura. Los proveedores se esforzaron en disminuir los abusos de temperatura, y observaron en forma cuantitativa que las prácticas de manejo de alimentos refrigerados usadas en temporadas frías no son convenientes para las temporadas cálidas (Tolstoy, 1991).

Las industrias procesadoras de alimentos no deben omitir el papel del consumidor en el mantenimiento de la cadena de frío, tanto para el diseño de sus productos (vida de anaquel) como para alertar a éstos sobre los efectos microbiológicos de un abuso de temperatura sobre los alimentos refrigerados. Un estudio realizado en el Reino Unido mostró que los consumidores tardan un promedio de 43 min para llegar desde las tiendas de autoservicios hasta sus hogares, y otros 13 min en colocar en el refrigerador alimentos refrigerados tales como productos cárnicos, pescados y lácteos (James y James, 2002). Para medir el incremento de temperatura durante su transporte, se realizó un estudio en el cual la temperatura de 19 productos refrigerados, incluyendo una variedad de productos cárnicos, fue monitoreada durante una simulación de un viaje en coche de una hora desde el supermercado hasta el hogar. El estudio demostró que

Tabla 4.- Temperatura máxima (°C) alcanzada en productos cárnicos después de ser transportados por 1 h en el portaequipaje de un coche sin protección o utilizando un contenedor aislado térmicamente. Fuente: James y James, 2002.

Producto	Sin protección	Con aislamiento
Carne molida	18	9
Salchichas (crudas)	28	15
Jamón ahumado	30	14
Pastel de carne	24	7
Salchichones	28	12
Lasaña	21	6

algunos productos cárnicos pueden alcanzar temperaturas cercanas a 30 °C (Tabla 4). Además se observó que los productos finamente rebanados mostraron los incrementos de temperatura más elevados durante el transporte, mientras que los productos más gruesos tales como pollo y paté registraron incrementos menores. En el mismo estudio, se determinó que en un refrigerador doméstico los productos cárnicos requieren aproximadamente 5 h para alcanzar una temperatura superficial menor a 7 °C después de este abuso de temperatura durante su transporte al hogar del consumidor. Tomando en consideración la relación tiempo y temperatura durante el transporte y la etapa de enfriamiento doméstico de productos cárnicos refrigerados, se modeló el crecimiento microbiano, calculándose incrementos por arriba de 1.8 generaciones en números bacterianos (Tabla 5).

Existen medidas efectivas para evitar o disminuir el incremento de la temperatura de alimentos refrigerados y congelados durante el transporte realizado por el consumidor. Una de ellas es el uso de bolsas aislantes (Figura 3) y cajas aisladas térmicamente para proteger de esta forma un alimento de los abusos de temperatura (Tabla 4). Hoy en día en México, algunas cadenas de supermercados, ofrecen a los consumidores estas bolsas aislantes a un precio razonable. En Bélgica, una cadena de supermercados evaluó su uso encontrando que una



Figura 3. Bolsas con aislamiento térmico para alimentos refrigerados y congelados.

Tabla 5.- Temperatura máxima (°C) alcanzada e incremento en números bacterianos en productos cárnicos refrigerados mantenidos sin protección durante 1 h en un automóvil seguido por 5 h en un refrigerador doméstico. Fuente: James y James, 2002.

Producto	Temperatura máxima (°C)	<i>Pseudomonas</i> (generación)	<i>Clostridium</i> (generación)
Paté	25	1.5	0.4
Pollo (crudo)	24	1.6	0.2
Pollo (cocinado)	28	1.8	0.7
Mariscos	37	1.3	1.6

mezcla de productos congelados a -15°C se mantenía a -11°C después de una exposición de 2 h a un ambiente a 20°C (www.krautz.org/insulated_shopping_bags.htm#koeltassen, consultado 12-Abr-05).

Finalmente, otro factor que debe considerarse respecto al manejo de productos refrigerados es el almacenamiento en el hogar del consumidor. Se aconseja que la temperatura de un refrigerador doméstico no exceda 5 °C. Sin embargo, estudios realizados en el Reino Unido, encontraron que la temperatura de operación de refrigeradores domésticos fluctuaba entre -1 y 11 °C y que el 70 % de los refrigeradores estudiados operaban a una temperatura promedio arriba de los 5 °C. Se observó además que en el 70 % de los equipos estudiados, la sección superior era la menos fría, seguida por la sección baja (22 %) y la sección central (8 %). Por último, estudios realizados en EUA encontraron que el 21 % de los refrigeradores domésticos operaban por arriba de 10 °C (James y James, 2002).

Estrategia 2: Caracterizar el historial tiempo-temperatura de un producto

En la compleja cadena de frío, incluso en aquellas con excelente equipamiento, se presentan abusos de temperatura con una frecuencia y amplitud que en general se desconoce. Una forma interesante y eficiente de abordar esta problemática es el uso de registradores de temperatura incorporados dentro de un contenedor con materia prima o producto en forma aleatoria y no revelada a los operadores. Los registros de temperatura se recuperan en el momento adecuado y son enviados al departamento de control de calidad para implementar en forma continua mejoras en el manejo refrigerado de materias primas y productos terminados.

Una alternativa más económica es el uso de indicadores de tiempo-temperatura (TTI por sus siglas en inglés). En general, su funcionamiento está basado en una reacción química o un proceso de difusión que produce el cambio de color de un indicador. Este cambio ocurre a una velocidad que depende de la temperatura a la que está expuesto el producto (Shimoni *et al.*, 2001; Brody, 2001; Moore y Sheldon, 2003a,b). La principal desventaja de los TTI es que responden a la temperatura de la superficie en la que son expuestos y no a la temperatura del producto al interior del empaque y que es la que condiciona la calidad sanitaria y vida útil del alimento. Esta limitación fue estudiada por Malcata (1990) asumiendo que la temperatura ambiental se aproxima a

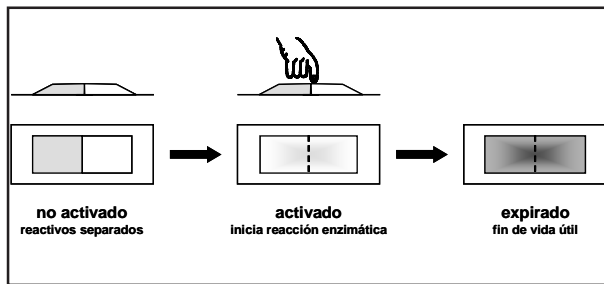


Figura 4. Esquema del Vitsab, un ejemplo comercial de indicador tiempo-temperatura. Fuente: Adaptada de www.vitasab.com.

una función sinusoidal para obtener una expresión basada en tres parámetros adimensionales, y con ello estimar el error en la vida útil pronosticada por el TTI. Cabe mencionar que el error es de tipo conservativo ya que en general la verdadera vida útil es subestimada por el TTI, lo que se traduce en una mayor seguridad hacia el consumidor.

Shimoni *et al.* (2001) comprobaron que los TTI son efectivos para registrar la historia de temperatura que exhibe un determinado alimento refrigerado, proporcionando información sobre el estado de frescura del producto. Ejemplos de TTI comerciales son el Fresh-Check de Lifeline™, 3M Monitro Mark® y Vitsab® (Brody, 2001). Fresh-Check funciona en base a una reacción de polimerización oscureciendo el centro del indicador. El producto de 3M se basa en la difusión de un soluto químico coloreado, que migra a un fieltro blanco. Finalmente Vitsab se basa en la hidrólisis enzimática de un lípido, y tiene dos pequeños recipientes donde se mantienen los reactivos separados hasta que se active el TTI para comenzar el monitoreo de temperatura (Figura 4). Uno de los compartimentos contiene una mezcla de enzimas de color verde y la otra es la solución del sustrato de color blanco y cuando se mezclan, comienza la reacción. A medida que se consume el sustrato, el TTI se torna de color amarillo indicando que el producto se encuentra al final de su vida útil. Los indicadores de 3M y Vistab son activados por el rompimiento de los sellos que separan sus componentes, en cambio, Fresh-Check debe mantenerse en congelación antes de su uso para evitar que se active antes del tiempo previsto (Brody, 2001).

Fresh-Check es un dispositivo utilizado principalmente para empaques primarios o secundarios para que incluso el consumidor pueda monitorear la cadena de frío en alimentos refrigerados. Varias cadenas de supermercados europeas, incluyendo Monoprix en Francia y Albert Hiejn en Holanda, aplican Fresh-Check sobre los empaques de alimentos como carne fresca, pescado, ensaladas, productos lácteos, jugos y pastas frescas. En EUA, Fresh-Check ha sido usado por la compañía Campbell, y en las comidas preparadas refrigeradas listas para consumirse de las compañías Eatzl y Trader Joe, para alertar a los consumidores si ha ocurrido un abuso de temperatura en el manejo del alimento. Vitsab es usado por British Airways (www.britishairways.com), con lo que aseguran que los alimentos servidos no hayan presentado abusos de temperaturas y se encuentren dentro del rango de vida útil. Vitsab es también utilizado

en empaques para la distribución de pescados, ensalada precortada y carne molida (Brody, 2001).

Vanionpää *et al.* (2004) estudiaron la aplicación de los 3 dispositivos comerciales de TTI previamente descritos (Vitsab, Fresh-Check y 3M) con el objetivo de monitorear los cambios en la calidad de productos cárnicos refrigerados, especialmente en pollo. Los resultados obtenidos demuestran que los 3 integradores de tiempo y temperatura son una herramienta efectiva para monitorear la calidad sanitaria de los alimentos. Encontraron además que estos dispositivos se relacionan íntimamente con los resultados obtenidos en análisis microbiológicos para microorganismos patógenos y contaminantes que alteran la calidad, y resultaron más efectivos y precisos que el análisis sensorial o el análisis de metabolitos.

Estrategia 3: Uso de la microbiología predictiva

El ciclo de crecimiento de una población de microorganismos consta de las fases latencia (lag en inglés), exponencial, estacionaria y declinación. Los investigadores de microbiología predictiva se han enfocado a modelar el efecto de la fluctuación de temperatura sobre las primeras dos fases bajo la premisa de que si la población microbiana alcanza la fase estacionaria, el producto está deteriorado o presenta riesgos para la salud del consumidor.

La fase de latencia corresponde al período de adaptación del microorganismo a nuevas condiciones del entorno. Almonacid-Merino *et al.* (1993) asumieron que este esfuerzo intracelular corresponde en su mayoría al necesario para aumentar la concentración de ácido ribonucleico (ARN), indicador del estado fisiológico de la célula, el cual llega a su máximo valor cuando el microorganismo inicia la fase exponencial. La síntesis de ARN no es el único factor que explica el periodo de latencia. Otro ejemplo, es el trabajo necesario para insaturar las moléculas de fosfolípidos, que actúan como puente de transporte de nutrientes entre la célula y su entorno, porque al bajar la temperatura, la fluidez de la membrana decrece y ello impide o limita el intercambio de iones y componentes (Beales, 2004; Koutsoumanis, 2001). El tiempo que demora la célula en realizar dicho trabajo representa la duración de la fase de latencia. Koutsoumanis (2001) concluyó que al producirse un aumento de temperatura de 2 a 15 °C y luego disminuirla bruscamente a 2 °C, se produce una nueva fase de latencia. Sin embargo, durante cambios graduales de temperatura no aparecen nuevas fases de latencia y ello podría deberse a que el microorganismo parece adaptarse paulatinamente a las nuevas condiciones de temperatura. Una vez que las células se han adaptado a las condiciones del entorno, comienza la fase de crecimiento exponencial. Simpson *et al.* (1989) señalan que la velocidad de crecimiento se ve afectada por las condiciones del medio y la disponibilidad de sustrato, más que por los rangos de temperatura de interés.

McMeekin *et al.* (1993) definió el término de microbiología predictiva como una ciencia cuantitativa que evalúa objetivamente el efecto de las operaciones de procesamiento, distribución y almacenamiento en la seguridad microbiológica y calidad de los alimentos. Más

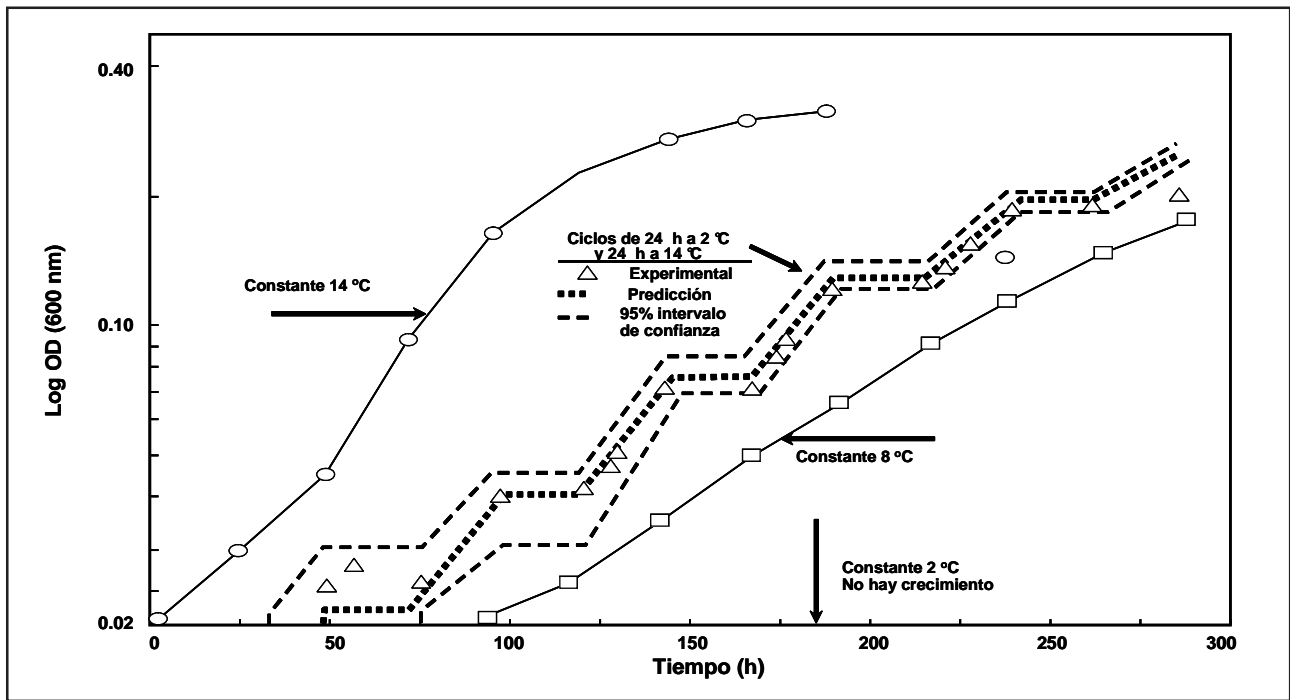


Figura 5. Predicción y determinación experimental de crecimiento microbiano bajo fluctuaciones de temperatura (*Brochothrix thermosphacta* en medio líquido de cultivo). Fuente: Adaptada de Simpson *et al.*, 1989.

tarde, los mismos autores usaron la expresión «ecología microbológica cuantitativa de los alimentos», transformándose en una expresión más genérica. Por otra parte, en un trabajo más reciente, McKellar y Lu (2003) hacen especial énfasis en la descripción de las respuestas microbiológicas al entorno del alimento utilizando modelos matemáticos. Simpson *et al.* (1989) evaluaron el crecimiento de *B. thermosphacta*, bacteria asociada con el desarrollo de olores desagradables en carne refrigerada en un sistema de atmósfera modificada en medio líquido. En el estudio se establecieron los siguientes escenarios de simulación de almacenamiento: temperatura constante de 2 °C, 8 °C y 14 °C, y un ciclo de temperatura de 24 h a 2 °C y 24 h a 14 °C (Figura 5). A 2 °C no se observó crecimiento y a 8 °C, el promedio entre la temperatura mínima y máxima del ciclo de temperatura, el crecimiento fue mucho menor que el observado a la temperatura fluctuante con ciclo de 24 h. Esto demuestra que para predecir el abuso de temperatura no es recomendable usar la temperatura promedio de almacenamiento puesto que subestima el efecto de los abusos de temperatura sobre la velocidad de crecimiento de los microorganismos. Un modelo compuesto, considerando el periodo de latencia y el de crecimiento exponencial a la temperatura del sustrato, permitió predecir de forma confiable el crecimiento microbiano y por ende permitió una buena estimación de la vida útil de un producto almacenado a temperatura variable (Simpson *et al.*, 1989).

Almonacid-Merino y Torres (1993) desarrollaron una herramienta computacional para evaluar el efecto de la duración de los abusos de temperatura en un medio líquido. El uso de esta herramienta validada permitió demostrar que cuando se expone un alimento a una temperatura de abuso (20 °C) por solo un 2 - 3% del tiempo de almacenamiento, la vida útil puede disminuir en un 20 -

30%. Koutsoumanis (2001) estudió en *Sparus aurata* el comportamiento de la microflora natural en condiciones aeróbicas y con diferentes perfiles de abuso de temperatura. La vida útil del producto en condiciones de temperatura constantes a 0 y 2 °C fue de 10 días, pero bajo condiciones dinámicas de temperatura, la vida útil disminuyó en un 27 a 75% dependiendo de la temperatura máxima del abuso (9 a 16 °C).

La microbiología predictiva es una herramienta muy versátil, puesto que además de modelar el efecto de la temperatura sobre productos cárnicos en las etapas de distribución y comercialización, también puede ser implementada para predecir el crecimiento microbiano en la fase de enfriamiento después de un tratamiento térmico. Smith-Simpson y Schaffner (2005) desarrollaron un modelo matemático capaz de predecir el crecimiento del *Clostridium perfringens* durante la fase de enfriamiento, en un producto de carne vacuna. Los resultados obtenidos sugieren que el enfriamiento del producto cárnico desde 54.4 °C a 26.7 °C debe producirse en menos de 1.5 h para asegurar un crecimiento menor a 1 ciclo logarítmico en la población de *C. perfringens* (<http://foodsci.rutgers.edu/schaffner/files.htm> consultado marzo 2005). Por otra parte, Huang (2003), desarrolló un modelo dinámico que permite predecir la población de *C. perfringens* en carne de vacuno cocida en las etapas de distribución y comercialización para escenarios de temperatura dinámica.

Los modelos usados en microbiología predictiva, son en general de naturaleza empírica pero con ciertas bases mecanísticas. Por ejemplo, los modelos incluyen conceptos de crecimiento, disponibilidad de sustrato, o crecimiento en función de la densidad poblacional. Sin embargo para incorporar los factores externos, tales como temperatura, pH, o humedad relativa, es común obtener curvas de crecimiento para diferentes combinaciones de

Tabla 6.- Modelos de microbiología predictiva y sus características.

Modelo	Características	Referencia
Gompertz	Modelo primario empírico más utilizado, genera una curva sinusoidal asimétrica que simula las fases latencia, exponencial y estacionaria. Este modelo es la base del software PMP (www.arserrc.gov/mfs/). Inconvenientes: (1) subestimación de la velocidad de crecimiento. (2) requiere datos a lo largo de las fases latencia, exponencial y estacionaria para una buena predicción. (3) para ambientes con temperatura fluctuante, sus parámetros deben ser modelados con modelos secundarios.	Gibson <i>et al.</i> , 1988
Log logistic	Modelo primario. Incorpora el término $1-N/N_{max}$, permite que la velocidad de crecimiento decrezca hasta valores cercanos a cero a medida que la población se acerca al máximo, describiendo una curva convexa. Inconvenientes: (1) Carece de fase latencia. (2) Esfuerzos de agregarle términos que permitan modelar la fase latencia da resultados de menor calidad que Gompertz.	Gibson <i>et al.</i> , 1987
Ratkowsky	Modelo secundario. Permite modelar la velocidad de crecimiento en función de la temperatura e incorporarla en un modelo primario. Inconvenientes: (1) Sólo garantiza buena predicción en el rango de temperatura de los datos experimentales (2) Bajo fluctuaciones continuas de temperatura no hay consistencia en el crecimiento microbiano que predice.	Ratkowsky et al, 1982
Baranyi y Roberts	Modelo primario. Introduce una variable asociada al consumo de un substrato crítico y propone una función que ajusta el crecimiento con respecto al máximo posible. Ventajas: (1) La fase latencia se expresa mediante una función que ajusta el estado fisiológico de las células a una sola variable, permitiendo la modelación de las fases latencia y exponencial en forma continua. (2) Permite predecir el crecimiento microbiológico bajo fluctuaciones de temperatura.	Baranyi y Roberts, 1994
Modelos Polinómicos	Modelos secundarios y primarios, que permiten la modelación de varios factores de crecimiento en forma simultánea y de forma bien precisa. Inconvenientes: (1) Suelen presentar comportamientos ilógicos por su naturaleza netamente empírica y su falta de fundamentos mecanísticos.	Lebert <i>et al.</i> , 2000
Baranyi y Roberts – transferencia de calor.	Predice el crecimiento microbiano en función de la temperatura del alimento, mediante software que simula en forma integrada la transferencia de calor y asocia la temperatura en forma dinámica con el modelo predictivo primario y secundario.	Amézquita <i>et al.</i> , 2005

factores externos y luego realizar regresiones de los efectos de estos factores sobre los parámetros del modelo tales como la influencia de la temperatura en la velocidad de crecimiento. A estos últimos se los denomina modelos secundarios. Adicionalmente, se han realizado intentos para predecir la temperatura del alimento en su empaque en función de la temperatura de almacenamiento, y predecir de esa manera el efecto de la temperatura de refrigeración sobre el crecimiento de microorganismos. Ello requiere la integración de modelos numéricos de transferencia de calor en conjunto con modelos secundarios y primarios (Almonacid-Merino y Torres, 1993). En la Tabla 6, se describen los modelos más comúnmente usados.

La elaboración de programas para el desarrollo de modelos del crecimiento de microorganismos patógenos en alimentos ha sido iniciada en Estados Unidos, Reino Unido, Australia y otros países. Estos programas han generado diversos modelos que han sido incorporados en paquetes de software, los cuales están disponibles en línea. En 1988, el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentos de Gran Bretaña, inició un programa coordinado para predecir el crecimiento y destrucción de bacterias patógenas. Estos datos fueron la base para Food MicroModel, uno de los primeros paquetes de software para microbiología predictiva y validado para uso comercial. Posteriormente, se creó la Food Standards Agency (FSA), quién se hizo cargo de financiar estos programas, y en el 2003, esta agencia hizo público todos

los datos usados en el Food MicroModel y se comenzó a desarrollar Growth Predictor, un software gratuito basado en todos los datos disponibles y los avances de los años noventa (www.ifr.ac.uk/Safety/GrowthPredictor). En forma paralela a los esfuerzos británicos, el Eastern Regional Research Center del Agricultural Research Service de EUA desarrolló el Pathogen Modeling Programme (PMP, www.arserrc.gov/mfs/pathogen.htm). Posteriormente, estos dos centros crearon una alianza para establecer una base de datos común. Se crea entonces Combase (Combined Database of Microbial Response to Food Environments) una base de datos con modelos de crecimiento microbiológico disponible para personas relacionadas con la industria de alimentos, academia o gobierno (www.combase.cc). Actualmente, la comisión europea es responsable del proyecto Bacanova, él cual tiene como propósito desarrollar un método basado en un modelo matemático estocástico para tiempos de fase de latencia para mejorar la seguridad microbiológica y la calidad del alimento. Por otro lado, el Centro de Seguridad Alimentaria y Calidad de la Universidad de Tasmania (Australia) está también contribuyendo a los avances en microbiología predictiva, a través de estudios del efecto de la temperatura, estrés osmótico y pH sobre crecimiento de patógenos, y particularmente en el desarrollo de modelos para la inactivación de bacterias patógenas en productos cárnicos incluyendo la inactivación de *E. coli* en productos cárnicos fermentados y picados.

CONCLUSIONES

El muestreo de productos y su posterior análisis microbiológico, físico-químico o sensorial, es el método tradicional para determinar la calidad de un alimento refrigerado. Sin embargo, los indicadores de tiempo temperatura y la microbiología predictiva son dos ejemplos de alternativas viables para estimar la calidad de un alimento refrigerado. Actualmente estas herramientas permiten a los procesadores, distribuidores y comercializadores de alimentos, reducir el trabajo experimental requerido para determinar y evaluar la calidad y seguridad de los productos refrigerados, y de esta forma, establecer una vida de anaquel precisa con lo que se pueden incrementar las ganancias para el fabricante al reducir la cantidad de producto rechazado, traduciéndose todo ello en alimentos de menor precio para los consumidores y a la vez más seguros. El enfoque de microbiología predictiva permite desarrollar métodos asistidos por computadora y aplicaciones Web para evaluar el efecto de las combinaciones tiempo-temperatura sobre la velocidad de crecimiento microbiano en los alimentos refrigerados. Las herramientas computacionales predictivas son de suma utilidad para evaluar innovaciones de los procesos productivos, mejoras a la infraestructura de la cadena de frío y mejores estrategias para el control de situaciones de abuso de temperatura. El mejor de los casos sería la integración de las tres estrategias previamente descritas.

BIBLIOGRAFÍA

- Almonacid-Merino, S. F.; Torres, J. A. 1993. Mathematical models to evaluate temperature abuse effects during distribution of refrigerated solid foods. *Journal of Food Engineering* **20**, 223-245.
- Almonacid-Merino, S. F.; David, R. T.; Torres, J. A. 1993. Numerical and statistical methodology to analyze microbial spoilage of refrigerated solid foods exposed to temperature abuse. *Journal of Food Science* **58**(4), 914-920.
- Amezquita, A.; Weller, C. L.; Wang, L.; Thippareddi, H.; Burson, D. E. 2005. Development of an integrated model for heat transfer and dynamic growth of *Clostridium perfringens* during the cooling of cooked boneless ham. *International Journal of Food Microbiology* **101**(2), 123-144.
- Anónimo. 2002. Mercados en crecimiento en el mundo: Alimentos y Bebidas. Reporte Ejecutivo de Noticias de A.C. Nielsen – Servicios globales: Mayo 2002, 22p.
- Augustin, J. C.; Rosso, L.; Carlier, V. A. 2000. A model describing the effect of temperature history on lag time for *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology* **57**(3), 169-181.
- Baranyi, J.; Roberts, T. A. 1994. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology* **23**, 277-294.
- Beales, N. 2004. Adaptation of microorganisms to cold temperature, weak acid preservatives, low pH, and osmotic stress: a review. *Comprehensive Reviews in Food Safety* **3**, 1-20.
- Bovill, R.; Bew, J.; Cook, N.; Agostino, M.; Wilkinson, N.; Baranyi, J. 2000. Predictions of growth for *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* during fluctuating temperature. *International Journal of Food Microbiology* **59**(3), 157-165.
- Brody, A. 2001. What's active about intelligent packaging. *Food Technology* **55**(6), 75-78.
- Buchanan, R. L.; Klawitter, L. A. 1990. Effect of temperature history on the growth of *Listeria monocytogenes* Scott A at refrigeration temperatures. Microbial Food Safety Research Unit, U.S. Department of Agriculture, ARS, Eastern Regional Research Center.
- Buchanan, R. L.; Klawitter, L. A. 1992. The effect of incubation temperature, initial pH, and sodium chloride on the growth kinetics of *Escherichia coli* O157:H7. Microbial Food Safety Research Unit, U.S. Department of Agriculture, ARS, Eastern Regional Research Center.
- Buchanan, R. L.; Whiting, R. C.; Damert, W. C. 1997. When is simple good enough: a comparison of the Gompertz, Baranyi, and three-phase linear models for fitting bacterial growth curves. *Food Microbiology* **14**(4), 313-326.
- Carlin, F.; Guinebretiere, M. H.; Choma, C.; Pasqualini, R.; Braconnier, A.; Nguyen-The, C. 2000. Spore-forming bacteria in commercial cooked, pasteurized and chilled vegetable purees. *Food Microbiology* **17**(2), 153-165.
- Dalgaard, P.; Buch, P.; Silberg, S. 2002. Seafood Spoilage Predictor—development and distribution of a product specific application software. *International Journal of Food Microbiology* **73**(2/3), 343-349.
- Farber, J. M.; Wang, S. L.; Cai, Y.; Zhang, S. 1998. Changes in populations of *Listeria monocytogenes* inoculated on packaged fresh cut vegetables. *Journal of Food Protection* **61**(2), 192-195.
- Heintz, M. L.; Johnson, J. M. 1998. The incidence of *Listeria* spp., *Salmonella* spp. and *Clostridium botulinum* in smoked fish and shellfish. *Journal of Food Protection* **61**, 318-23.
- Houtsma, P. C.; Kant-Muermans, M. L.; Rombouts, F. M.; Zwietering, M. H. 1996. Model for the combined effects of temperature, pH, and sodium lactate on growth rates of *Listeria innocua* in broth and Bologna-type sausages. *Applied and Environmental Microbiology* **62**(5), 1616-1622.
- Huang, L. 2003. Dynamic computer simulation of *Clostridium perfringens* growth in cooked ground beef. *International Journal of Food Microbiology* **87**, 217-227.
- Hudson, J. A.; Avery, S. M. 1994. Growth of *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia enterocolitica* on cooked mussel tissue under refrigeration and mild temperature abuse. *Journal of Food Safety* **14**(1), 41-52.
- Hudson, J. A.; Mott, S. J. 1993. Growth of *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia enterocolitica* on cold smoked salmon

- under refrigeration mild temperature abuse. *Food Microbiology* **10**(1), 61-68.
- James, S. J.; James, C. 2002. Meat refrigeration. 347p. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Jay, J. M. 2000. Modern food microbiology. 679p. Aspen Publishers, Gaithersburg, Md.
- Jeyamkondan, S.; Jayas, D. S.; Holley, R. A. 2001. Microbial growth modeling with artificial neural networks. *International Journal of Food Microbiology* **64**(3), 343-354.
- Kotsoumanis, K. 2001. Predictive modeling of the shelf life of fish under nonisothermal conditions. *Applied Environmental Microbiology* **64**(4), 1821-1829.
- Lebert, I.; Robles-Olvera, V.; Lebert, A. 2000. Application of polynomial models to predict growth of mixed cultures of *Pseudomonas* spp. and *Listeria* in meat. *International Journal of Food Microbiology* **61**, 27-39.
- Li, K. Y.; Torres, J. A. 1993a. Effects of temperature and solute on the minimum water activity for growth and temperature characteristic of selected mesophiles and psychrotrophs. *Journal of Food Processing and Preservation* **17**, 305-318.
- Li, K. Y.; Torres, J. A. 1993b. Microbial growth estimation in liquid media exposed to temperature fluctuations. *Journal of Food Science* **58**(3), 644-648.
- Li, K. Y.; Torres, J. A. 1993c. Water activity relationships for selected mesophiles and psychrotrophs at refrigeration temperature. *Journal of Food Protection* **56**(7), 612-615.
- Malcata, F. X. 1990. The effect of internal thermal gradients on the reliability of surface mounted full-history time-temperature indicators. *Journal of Food Processing and Preservation* **14**(6), 481-497.
- Marth, E. 1998. Extended shelf life refrigerated foods: Microbiological quality and safety. *Food Technology* **52**(2), 57-62.
- McKellar, R. C.; Lu, X. 2003. Modeling microbial responses in foods. 343p. CRC Press, Boca Raton, FL.
- McMeekin, T. A.; Brown, J.; Kirst, K.; Miles, D.; Neumeyer, K.; Nichols, D. S.; Olley, J.; Ratkowsky, T.; Ross, T.; Salter, M.; Soontranon, S. 1997. Quantitative microbiology: a basis for food safety. *Emerging Infectious Diseases* **3**(4), 541-549.
- McMeekin, T. A.; Olley, J. N.; Ross, T.; Ratkowsky, D. A. 1993. Predictive microbiology: Theory and application. 340p. Research Studies Press Ltd., John Wiley & Sons Inc., Taunton, U.K.
- Membre, J. K.; Kubaczka, M. 1998. Degradation of pectic compounds during pasteurized vegetable juice spoilage by *Chryseomonas luteola*: a predictive microbiology approach. *International Journal of Food Microbiology* **42**(3), 159-166.
- Moore, C. M.; Sheldon, B. W. 2003a. Evaluation of time-temperature integrators for tracking poultry product quality throughout the chill chain. *Journal of Food Protection* **66**(2), 287-292.
- Moore, C. M.; Sheldon, B. W. 2003b. Use of time-temperature integrators and predictive modeling to evaluate microbiological quality loss in poultry products. *Journal of Food Protection* **66**(2), 280-286.
- Ratkowsky, D. A.; Olley, J.; McMeekin, T. A.; Ball, A. 1982. Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures. *Journal of Bacteriology* **149**, 1-5.
- Ray, B. 2004. Fundamental Food Microbiology. 608 p. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Robinson, T. P.; Ocio, J. M.; Kaloti, A.; Mackey, M. 1998. The effect of the growth environment on the lag phase of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Microbiology* **44**, 83-92.
- Russell, S. M.; Fletcher, D. L.; Cox, N. A. 1996. The effect of temperature mishandling at various times storage on detection of temperature abuse of fresh broiler chicken carcass. *Poultry Science* **75**(2), 261-264.
- Shimoni, E.; Anderson, E. M.; Labuza, T. P. 2001. Reliability of time temperature indicators under temperature abuse. *Journal of Food Science* **66**(9), 1337-1340.
- Simpson, R.; Li, K. Y.; Torres, J. A. 1989. A management tool to improve the microbial quality of refrigerated foods. In Proceedings of the International Conference on Technical Innovations in Freezing and Refrigeration of Fruits and Vegetables, Davis, California, Julio 9-12, EUA.
- Smith-Simpson, S.; Schaffner, D. W. 2005. Development of a predictive growth of *Clostridium perfringens* in cooked beef during cooling. *Journal of Food Protection* **68**(2), 336-341.
- Sumner, J.; Krist, K. 2002. The use of predictive microbiology by the Australian meat industry. *International Journal of Food Microbiology* **73**(2/3), 363-366.
- Thomas, C.; Prior, O.; O'Beirne, D. 1999. Survival and growth of *Listeria* species in a model ready-to-use vegetable product containing raw and cooked ingredients as affected by storage temperature and acidification. *International Journal of Food Science and Technology* **34**(4), 317-324.
- Tolstoy, A. 1991. Practical monitoring of the chill chain. *International Journal of Food Microbiology* **13**, 225-230.
- Torres, J. A. 1989. Temperature control throughout the distribution system. In Proceedings of the IFT Short Course on Minimally Processed Foods, Institute of Food Technologists, Chicago, IL, Junio 24-25, EUA.
- Vainionpää, J.; Smolander, M.; Alakomi, H-L.; Ritvanen, T.; Rajamäki, T.; Rokka, M.; Ahvenainen, R. 2004. Comparison of different analytical methods in the monitoring of the quality of modified atmosphere packaged broiler chicken cuts using principal component analysis. *Journal of Food Engineering* **65**, 273-280.
- Zwietering, M. H.; Wit, J. C.; Notermans, S. 1996. Application of predictive microbiology to estimate the number of *Bacillus cereus* in pasteurized milk at the point of consumption. *International Journal of Food Microbiology* **30**(1/2), 55-70.