

## MODELACIÓN MATEMÁTICA DEL CRECIMIENTO DE *LACTOBACILLUS CASEI*

Yamira Cepero\*, Tatiana Beldarraín, Margarita Núñez, Aster Bruselas y Norma Vergara  
Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria. Carretera al Guatao, km 3 1/2,  
La Habana, CP 19 200, Cuba.

\*E-mail: yamira@iiaa.edu.cu

### RESUMEN

Ajustar ecuaciones matemáticas para predecir el crecimiento de *Lactobacillus casei* bajo diferentes condiciones de temperatura fue el objetivo del presente trabajo. Se ajustaron los datos de su crecimiento a diferentes temperaturas con las ecuaciones modificada de Gompertz y logística sigmoideal. Los índices estadísticos usados para evaluar la calidad del ajuste al modelo fueron el coeficiente de determinación múltiple ( $R^2$ ) y la prueba F. Se realizó la prueba T-Test para comparar los valores estimados y experimentales de los conteos iniciales (A), los ciclos de crecimiento logarítmico (C) y el máximo crecimiento (Nmax). La ecuación modificada de Gompertz ajustó para las tres temperaturas estudiadas mientras que la función logística sigmoideal no ajustó a  $28 \pm 2$  °C. La ecuación de Gompertz no fue efectiva para predecir con exactitud los parámetros cinéticos del crecimiento de *Lactobacillus casei*, mientras que la sigmoideal sí. La función logística sigmoideal fue el mejor modelo para predecir el comportamiento del crecimiento de *Lactobacillus casei* a temperaturas inferiores a 28 °C.

**Palabras clave:** modelos matemáticos, *Lactobacillus casei*, predicción

### ABSTRACT

**Mathematical modelation of the growth of *Lactobacillus casei***

The adjustment of mathematical equations to predict the growth of *Lactobacillus casei* in different conditions of temperature was the objective of the present work. Data from their growth at different temperatures with the Gompertz modified and sigmoidal logistical equations were adjusted. The statistical indexes used to evaluate the quality of adjustment to the model were the multiple determination coefficient ( $R^2$ ) and F test. The T-Test test was used to compare the estimate and experimental values of initial counts (A), the cycles of logarithmic growth (C) and maximum growth (Nmax). The Gompertz modified equation adjusted for the three studied temperatures, while the logistical sigmoidal function did not adjust at  $28 \pm 2$  °C. The Gompertz equation was not effective to predict with accuracy the kinetic parameters of the growth of casei, while the sigmoidal was effective. The logistical sigmoidal function was the best model to predict the growth of casei at temperatures lower than 28 °C.

**Keywords:** mathematical models, *Lactobacillus casei*, prediction

### INTRODUCCIÓN

Los productos cárnicos crudos fermentados se desarrollan bajo condiciones controladas que garantizan el predominio de cepas con propiedades probióticas, bioconservadoras o cultivos iniciadores sobre la flora microbiana indeseable lo que permite reducir los riesgos higiénicos y de fabricación, así como estandariza el proceso y la calidad final (1).

---

\***Yamira Cepero Betancourt:** Ingeniera Química (ISPJAE, 2000). Investigador Aspirante. Trabaja en la Planta Piloto de carne. Sus principales líneas de trabajo son: calidad y clasificación de canales, tecnología de sacrificio de res y cerdos, obtención y utilización de subproductos, evaluación de rendimientos de cerdo, pollo y jurel, implementación de producciones más limpias en la industria cárnica y elaboración de productos cárnicos.

*Lactobacillus casei* es uno de los cultivos que se ha empleado para este fin obteniéndose muy buenos resultados, sin embargo todavía es poca la información acerca de su comportamiento en dependencia de las condiciones ambientales. Una de las posibles soluciones para esta problemática sería el empleo de la microbiología predictiva (MPA).

La MPA de los alimentos es una herramienta útil, económica y rápida donde se ajustan modelos matemáticos que describen el crecimiento, la supervivencia, inactivación o procesos bioquímicos de un microorganismo bajo condiciones medioambientales definidas, como la temperatura, que permiten a los investigadores hacer predicciones sobre los microorganismos estudiados en el alimento (2, 3). Por lo que el objetivo del presente trabajo fue ajustar ecuaciones matemáticas para predecir el crecimiento de *Lactobacillus casei* bajo diferentes condiciones de temperatura.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó la cepa de *Lactobacillus casei* procedente del banco de cepas del IIIA, se dejó crecer en medio caldo nutriente (Oxoid) con pH  $7 \pm 0,1$  a  $37^\circ\text{C}$  durante 24 h y se le realizaron pases sucesivos tres días seguidos con el fin de obtener la cepa fisiológicamente apta. Luego del tercer pase, se realizaron estrías en medio agar nutriente inclinado, a  $37^\circ\text{C}$  por 24 h para obtener un crecimiento adecuado. Luego, se pasó la cepa a caldo nutriente y se incubó a tres rangos de temperatura de almacenamiento:  $16 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $22 \pm 3^\circ\text{C}$  y  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , rangos recomendados para la elaboración de embutidos fermentados (1). A diferentes tiempos se realizaron los recuentos microbianos con el medio agar para conteo en placas. Las placas se incubaron a la temperatura de  $37^\circ\text{C}$ . La respuesta del crecimiento microbiano se expresó como log 10 del número de colonias/ mL en función del tiempo.

Las ecuaciones utilizadas en este trabajo fueron la ecuación modificada de Gompertz y la logística sigmoideal que se han empleado ampliamente en microbiología predictiva de alimentos debido a su simplicidad y efectividad para describir curvas de crecimiento de microorganismos (4-11).

Se ajustaron todos los datos de tres réplicas del crecimiento del microorganismo y se calcularon los parámetros cinéticos de crecimiento como son: velocidad de crecimiento ( $\mu_{\text{max}}$ ), duración de la fase de latencia (LPD) y población máxima (Nmax) (10).

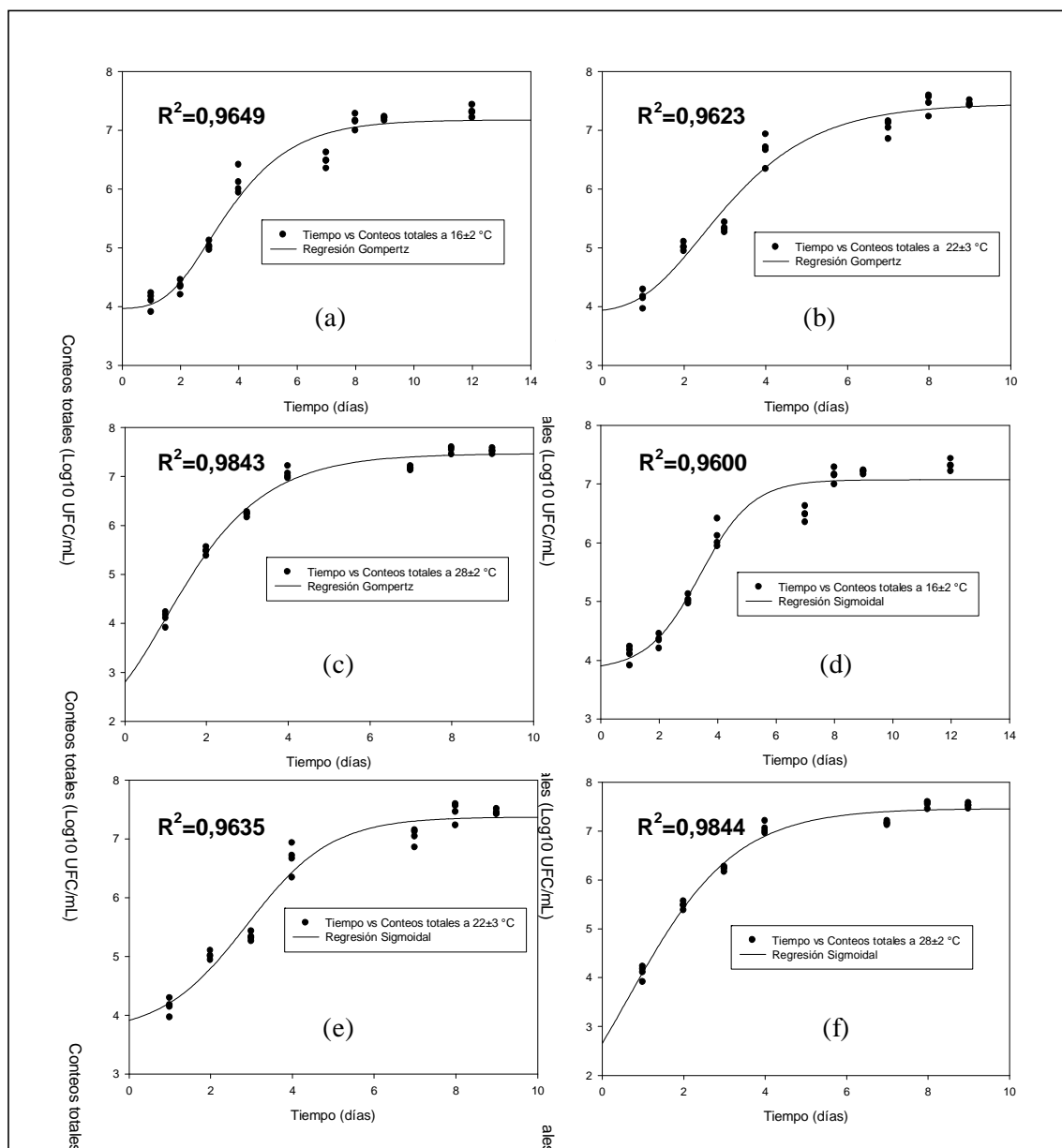
Los índices estadísticos usados para evaluar la calidad del ajuste al modelo fueron el coeficiente de determinación múltiple ( $R^2$ ) y la prueba F, para 95 % de confianza (4, 9, 12, 13). Además se realizó la prueba de comparación T-Test para medias de dos muestras pareadas a los valores experimentales y estimados por la ecuación de los conteos iniciales (A), los ciclos de crecimiento logarítmico (C) y el máximo crecimiento (Nmax).

Se eligieron estos parámetros porque su comportamiento es independiente de las condiciones ambientales y todos los parámetros cinéticos calculados dependen directa o indirectamente de los valores de A, C o Nmax. Se tomó el 95 % para el intervalo de confianza. Para el ajuste a los modelos de regresión no lineal y el procesamiento de los resultados se empleó el sistema Sigmaplot versión 7,101 (2001).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la regresión de los modelos ajustados se obtuvieron valores de  $R^2$  elevados, mayores de 0,96 (Fig. 1); esto garantizó la calidad de los ajustes realizados con las ecuaciones a las temperaturas estudiadas. Sin embargo, la ecuación logística sigmoideal no ajustó los datos experimentales de casei para  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  porque no pudo imitar con exactitud el nivel inicial de bacterias de la respuesta microbiana (4,10 y -0,35 Log<sub>10</sub> UFC/mL para A experimental y estimado, respectivamente) lo que se considera como más importante a la hora de elegir un modelo matemático para predecir el comportamiento de los microorganismos en condiciones controladas y no cuan bien ajusta (14).

Por lo tanto, con relación a este resultado, la ecuación modificada de Gompertz ajustó para las tres temperaturas estudiadas mientras que la función logística sigmoideal sólo ajustó para temperaturas inferiores a  $28^\circ\text{C}$ .



**Fig. 1. Resultados de los valores medios del crecimiento de *Lactobacillus casei* a diferentes condiciones de temperatura ajustados a las ecuaciones modificada de Gompertz (a:  $16 \pm 2$  °C, b:  $22 \pm 3$  °C, c:  $28 \pm 2$  °C) y logística sigmoidal (d:  $16 \pm 2$  °C, e:  $22 \pm 3$  °C, f:  $28 \pm 2$  °C).**

Con los resultados obtenidos en la prueba F también se corroboró que los modelos ajustaron bien porque todas las F calculadas fueron menores que las tabuladas (Tabla 1), pero se mantiene el planteamiento anterior de la selección del modelo.

La Tabla 2 muestra los valores de A, C, B y M estimados por las ecuaciones y los parámetros calculados a partir de ellos. A partir de los cálculos se observa que

al incrementarse la temperatura disminuye el tiempo de duración de la fase de latencia y aumenta la velocidad de crecimiento y población máxima.

La prueba de comparación de las medias de los valores A, C y N<sub>max</sub> experimentales y estimados por la ecuación de Gompertz (Tabla 3) resultó significativa y en el caso de la sigmoidal no significativa, por lo que la ecuación de Gompertz no fue efectiva para predecir

**Tabla 1. Resultados de la prueba F usados para evaluar el ajuste de los datos experimentales a los modelos**

Ecuación	Temp. (°C)	GL	RSS	RsMSE modelo	rMSE modelo	rMSE datos	Fcalc.	Ftabla
1	16 ± 2	28	1,6971	0,24619	0,06061	0,6222	0,10	1,84
	22 ± 3	24	1,5932	0,25764	0,06638	0,5774	0,11	1,93
	28 ± 2	24	0,6117	0,15964	0,02549	0,5774	0,04	1,93
2	16 ± 2	28	1,9367	0,26299	0,06917	0,6222	0,11	1,84
	22 ± 3	24	1,5402	0,25332	0,06418	0,5774	0,11	1,93
	28 ± 2	24	0,6101	0,15943	0,02542	0,5774	0,04	1,93

1: ecuación de Gompertz; 2: ecuación sigmoidal; GL: grados de libertad; RSS: suma de cuadrados de residuos; rMSE: cuadrado medio del error de residuos; RsMSE: raíz de rMSE

**Tabla 2. Resultados de los diferentes parámetros cinéticos que describen el crecimiento de *Lactobacillus casei* a diferentes temperaturas a partir del ajuste de los modelos**

Ecuación	Temp. (°C)	Parámetros estimados				Parámetros calculados			
		A (Log <sub>10</sub> UFC/mL)	C (Log <sub>10</sub> UFC/mL)	B (días <sup>-1</sup> )	m (días)	μmax (días <sup>-1</sup> )	LPD (días)	Nmax (Log <sub>10</sub> UFC/mL)	
1	16 ± 2	3,97	3,21	0,65	3,03	0,77	1,49	7,18	
	22 ± 3	3,91	3,54	0,65	2,45	0,85	< 1	7,45	
	28 ± 2	2,08	5,39	0,72	0,97	1,43	< 1	7,47	
2	16 ± 2	3,84	3,23	1,12	3,40	1,33	2,51	7,07	
	22 ± 3	3,69	3,68	0,96	2,88	1,34	1,84	7,37	

1: ecuación de Gompertz; 2: ecuación sigmoidal; A: conteos iniciales de bacterias; B: velocidad de crecimiento; M: tiempo de crecimiento máximo; C: diferencia de Nmax y A; μ: velocidad específica de crecimiento; LPD: tiempo de fase de latencia; Nmax: población máxima

**Tabla 3. Valores de A, C y Nmax expresados en Log<sub>10</sub> ufc/mL**

Ecuación	Temp. (°C)	A exp.	A est.	C exp.	C est.	Nmax exp.	Nmax est.
1	16 ± 2	3,91	3,97	3,52	3,21	7,43	7,18
	22 ± 3	3,96	3,91	3,63	3,54	7,59	7,45
	28 ± 2	3,91	2,08	3,69	5,39	7,60	7,47
2	16 ± 2	3,91	3,84	3,52	3,23	7,43	7,07
	22 ± 3	3,96	3,69	3,63	3,68	7,59	7,37

1: ecuación de Gompertz; 2: ecuación sigmoidal; A: conteos iniciales de bacterias; Nmax: población máxima; C: diferencia de Nmax y A; exp.: experimental; est.: estimado

con exactitud los parámetros cinéticos del crecimiento de casei. Con relación a la sigmoidal, en este sentido, fue efectiva para ambas temperaturas ajustadas.

Tomando en consideración los criterios de la calidad del ajuste y los resultados de la prueba T-Test, la función logística sigmoidal fue el mejor modelo para predecir el comportamiento del crecimiento de casei para temperaturas menores de 28 °C.

## CONCLUSIONES

La ecuación modificada de Gompertz ajustó para las tres temperaturas estudiadas mientras que la función logística sigmoidal no ajustó a  $28 \pm 2$  °C. La ecuación de Gompertz no fue efectiva para predecir con exactitud los parámetros cinéticos del crecimiento de *Lactobacillus casei* mientras que la sigmoidal si. La función logística sigmoidal fue el mejor modelo para predecir el comportamiento del crecimiento de *Lactobacillus casei* a temperaturas inferiores a 28 °C.

## REFERENCIAS

1. Mata, M.C. y Cuvello, M.T. (2000). Eurocarne 90: 12.
2. Bruselas, A.; Beldarraín, T.; Moya, Y. y Francisco, M. (2010). La Industria Cárnica Latinoamericana 166:68-75.
3. Bruselas, A.; Beldarraín, T.; Moya, Y. y Francisco, M. (2010). La Industria Cárnica Latinoamericana 168: 46-51.
4. Zwietering, M.H.; Jongenburger, I.; Rombouts, F.M. y Van 'T Riet, K. (1990). Appl. Env. Microb. 60 (1): 204-213.
5. Patterson, M.F.; Damoglou, A.P. y Buick, R.K. (1993). Food Microbiol. 10 (3): 197-202.
6. Willcox, F.; Mercier, M.; Hendrick, M. y Tobback, P. (1993). Food Microbiol. 18 (5): 539-545.
7. Bello, J. y Sanchez-Fuertes, M.A. (1995). Int. J. Food Microbiol. 27 (2/3): 215-221.
8. Sorensen, B.B. y Jakobsen, M. (1996). Food Microbiol. 13 (3): 265-271.
9. Matagaras, M.; Drosinos, E.H.; Vaidanis, A. y Metaxopoulos, I. (2006). J. Food. Sci. 71 (6): 157-161.
10. Beldarraín, T.; Núñez, M.; Bruselas, A.; Ramos, M.; Santos, R. y Vergara, N. (2007). Ciencia y Tecnología de los Alimentos 17 (3): 31-37.
11. Gibson, A.M.; Bratchell, N. y Roberts, T.A. (1987). J. Applied Bacteriol. 62 (6): 479-486.
12. Zwietering, M.H.; Jongenburger, I., Rombouts, F.M. y Van 'T Riet, K. (1990). Modelling of the bacterial growth curve. Appl. Environ. Microbiol. 56, 1875-1881.
13. Beldarraín, T.; Núñez, M. y Bruselas, A. (2007). Modelación matemática del crecimiento de microorganismos aislados de productos cárnicos. Monografía 53101802. Centro de documentación e información IIIA, La Habana.
14. Baranyi, J. y Roberts, T.A. (1995). Int. J. Food Microbiol 26: 199-218.