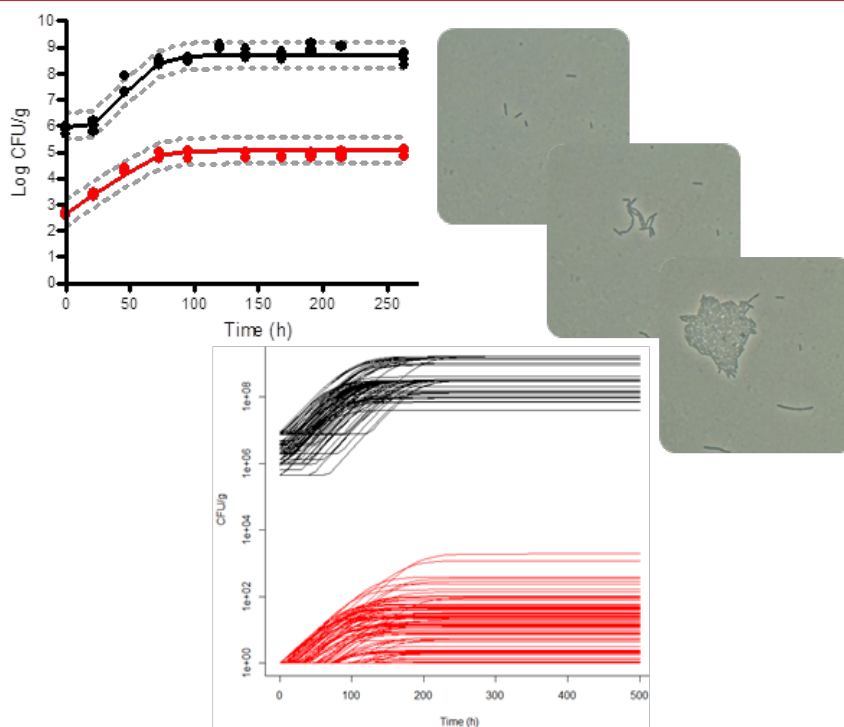


Nina Bjerre Østergaard
Sammenfatning af Ph.-D. afhandling

Predictive Food Microbiology

- new tools for risk assessment and dairy product development



Nina Bjerre Østergaard
PhD Thesis
2014

Sammendrag (summary in Danish)

Prædiktiv mikrobiologi – nye redskaber til risikovurdering og udvikling af mejeriprodukter

Listeria monocytogenes er en velkendt fødevareråren patogen der kan føre til listeriose. Ingen udbrud eller tilfælde af listeriose er blevet sat i forbindelse med hytteost, men adskillige tilfælde og udbrud af listeriose i EU og USA er blevet knyttet til mejeriprodukter lavet med rå- eller pasteuriseret mælk. Disse tilfælde, i kombination med det faktum at *Listeria monocytogenes* er i stand til at vokse i hytteost, pålægger fødevarerproducenten et dokumentationskrav. Indenfor europæisk fødevarerlovgivning er matematiske anerkendt som et velegnet supplement til traditionelle mikrobiologiske analyse metoder. Modellerne kan anvendes til at dokumentere at produktet overholder de mikrobiologiske kriterier for *Listeria monocytogenes* under forventelige forhold.

Hytteost er et frisk, syrnet mejeriprodukt. Det består af en fermenteret ostemasse der er blandet med en flødedressing med eller uden aroma kultur. Produktet indeholder en betragtelig koncentration af mælkesyrebakterier fra den tilsatte starter- og/eller aromakultur. Tilstedeværelsen af disse mælkesyrebakterier tilfører produktet nogen kompleksitet, da deres metaboliske produkter og f.eks. bakteriociner kan virke hæmmende på andre mikroorganismer såsom *Listeria monocytogenes*. Når hytteoste opbevares ved temperaturer hvor de mesofile mælkesyrebakterier kan vokse (>8-10°C) da observeres en udtalt interaktion mellem mikroorganismene og en hæmning af *Listeria monocytogenes*. Disse observationer understreger vigtigheden af at inkludere interaktion mellem mikroorganismer når vækst respons af *Listeria monocytogenes* skal forudsiges i fermenterede mejeri produkter.

Målsætningen for Ph.d.-projektet var at udvikle nye, eller udvide eksisterende, matematiske modeller der kan anvendes i forbindelse med risikovurdering og produktudvikling. Ved projektets start kunne ingen af de eksisterende modeller forudsige vækst af *Listeria monocytogenes* og mælkesyrebakterier fra starter- og aroma kultur i hytteost tilfredsstillende.

Nye, deterministiske vækstmodeller blev udviklet for *Listeria monocytogenes*, starter-mælkesyrebakterier og aroma-mælkesyrebakterier. Vækstmodellerne inkluderede effekten af opbevaringstemperatur, pH, salt, mælkesyre og sorbinsyre. Kardinalparameter-vækstmodellerne blev udviklet på basis af absorbans-data i modelsystemer samt vækstdata fra hytteost med eller uden aroma mælkesyrebakterier. Et vigtigt trin i modelleringsproceduren var kalibreringen af reference-væksthastigheden (μ_{ref} , t^{-1} ved 25°C). Den var stærkt afhængig af den dominerende mælkesyrebakteriekultur. Ved at kombinere de udviklede sekundære vækstmodeller med Jameson interaktionsmodellen, kunne der opnås gode forudsigelser for den sideløbende vækst af *Listeria monocytogenes* og mælkesyrebakterier. Både væksthastighed og den maksimale populationstæthed blev forudsagt præcist under konstant og dynamisk opbevaringstemperatur (mellem 5°C og 15°C).

Det er tydeligvis vigtigt at inkludere interaktionen mellem mikroorganismene, når *Listeria monocytogenes*' vækstrespons skal forudsiges i fermenterede mejeriprodukter. Alternative, semi-

mekanistiske, metoder fra fermenteringsteknologi blev evalueret i forhold til at forudsige interaktion. Dynamisk mælkesyrekoncentration og produkt pH var relateret til væksten af mælkesyrebakterier ved at anvende "yield-factor" konceptet. Det blev evalueret hvorvidt den maksimale populationstæthed for *Listeria monocytogenes* i hytteost kunne forudsiges baseret på dynamisk mælkesyrekoncentration og pH. I hytteost uden tilsat aroma-kultur, kunne den maksimale populationstæthed forudsiges præcist ved at bruge den semi-mekanistiske interaktionsmodel. Til gengæld var mælkesyre koncentration og pH ikke tilstrækkeligt til at forudsige den væksthæmning af *Listeria monocytogenes* der blev observeret i hytteost hvor der også var tilsat aroma-kultur. En forbedring af forudsigelsen vil sandsynligvis kræve at yderligere mekanismer inkluderes i modellen. Det kunne være andre metabolitter eller dannelsen af bakteriociner. Afslutningsvist blev den semi-mekanistiske interaktionsmodel sammenlignet med den mere simple empiriske Jameson model. Den empiriske Jameson model klarede sig konsekvent lige så godt eller bedre end den mere komplicerede, semi-mekanistiske interaktionsmodel.

For at kunne evaluere vækstresponsen af mere realistiske koncentrationer af *Listeria monocytogenes* samt inkludere variabilitet i forudsigelserne blev der anvendt en stokastisk tilgang. De udviklede deterministiske vækstmodeller blev anvendt sammen med stokastiske input for startkoncentration af mikroorganismene, varighed af nølefasen og produkt egenskaber. Ved at anvende bouillonbaseret nølefase data for *Listeria monocytogenes* enkeltceller, i kombination med konceptet for relativ nølefase, var det muligt at forudsige vækst af *Listeria monocytogenes* tilfredsstillende. Yderligere blev der opnået gode forudsigelser for lave koncentrationer af *Listeria monocytogenes* i hytteost ved at anvende den observerede variabilitet i relative nølefase værdier for *Listeria monocytogenes* populationer.

Baseret på de opnåede resultater i dette Ph.d.-projekt kan gode og validerede deterministiske vækstmodeller modificeres og/eller anvendes til en række andre modellerings-formål. Yderligere blev det konkluderet at inklusion af mikrobiel interaktion var uundgåeligt når vækst af *Listeria monocytogenes* skal forudsiges i fermenterede mejeriprodukter. Generelt blev simple tilgange til modellering promoveret, såsom en empirisk tilgang til modellering af interaktion, anvendelse af populationsdata for nølefase-variabilitet når vækst af få *Listeria monocytogenes* skal forudsiges samt anvendelsen af empiriske fordelinger (bootstrapping) til at repræsentere observeret variabilitet i f.eks. produkt egenskaber. Det vurderes at det er nødvendigt at definere nogle simple og overkommelige metoder der kan følges når der skal udvikles vækstmodeller for forholdsvist komplekse produkter såsom fermenterede mejeriprodukter. Udviklingen af modeller er en meget omfattende proces og der kræves nærmest uendelige mængder af data. Det vurderes derfor at resultaterne fra dette projekt kan have vigtig indflydelse på udviklingen af værdifulde prædiktive modeller der kan finde anvendelse i fødevarerindustrien.

National Food Institute
Technical University of Denmark
Mørkhøj Bygade 19
DK - 2860 Søborg

Tel. 35 88 70 00
Fax 35 88 70 01

www.food.dtu.dk

ISBN: 978-87-93109-27-8