

2748-A

'Predictive modelling' van microbiële groei in voedingsmiddelen

M.H. Zwietering¹ en J.H.J. Huis in 't Veld²

¹Landbouwwuniversiteit Wageningen; ²TNO-Voeding

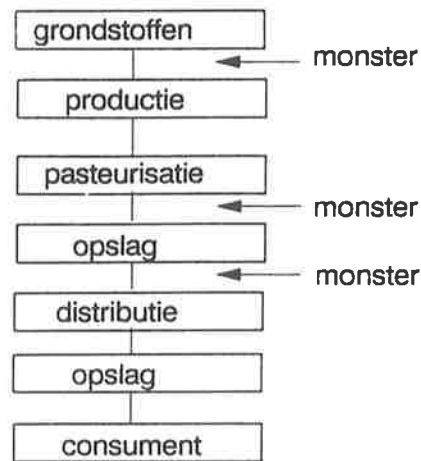
Inleiding

In de gang van grondstof tot consument ondergaat een voedingsmiddel verschillende behandelingen. Vaak worden grondstoffen bewerkt (zoals verhitten, koelen, drogen, conserveren, mengen, kruiden, enz.), op verschillende plaatsen opgeslagen (fabriek, distributiecentrum, winkel, consument), en gedistribueerd (zie figuur 1).

Voor de uiteindelijke microbiologische kwaliteit van zo'n voedingsmiddel zijn al deze fasen van belang. Van belang zijn de omstandigheden tijdens deze fasen (temperatuur, pH, wateractiviteit (a_w), enz.) alsook besmetting door toevoegingen (bijvoorbeeld kruiden) of door apparatuur (bijvoorbeeld via dode hoeken). Het is dus een erg ingewikkelde zaak de uiteindelijke kwaliteit van een voedingsmiddel te voorspellen, aangezien er binnen de gehele keten erg veel parameters van invloed zijn. Meestal wordt de microbiologische kwaliteit van voedingsmiddelen bepaald op verschillende punten in de keten (zie figuur 1). Deze metingen geven een beeld van de microbiologische kwaliteit van het voedingsmiddel en eventuele veranderingen of fluctuaties in kwaliteit. Ze geven echter nauwelijks inzicht in het verloop van de groei van de micro-organismen en over de uiteindelijke kwaliteit. De resultaten van deze metingen kunnen daarom niet worden teruggekoppeld. Voorts geeft een te groot aantal organismen in het voedingsmiddel geen uitsluitsel over waar nu het probleem zit. Deze metingen kunnen dus niet worden gebruikt voor optimalisatie van de keten. Een volgend nadeel van deze procedure is dat er altijd een lange tijd zit tussen het nemen van het monster en het microbiologische resultaat. Dit heeft tot gevolg dat een produkt gekoeld moet worden bewaard totdat de uitslag van de metingen bekend is. Door het gebruik van voorspellende microbiologische modellen zouden deze nadelen misschien kunnen worden opgelost.

Voorspellende modellen

Eerder is vermeld dat het een ingewikkelde zaak is de uiteindelijke microbiologische kwaliteit en houdbaarheid van een voedingsmiddel te voorspellen aangezien er erg veel factoren van invloed kunnen zijn op deze kwaliteit. Het gebruik van modellen kan hier uitkomst bieden. Modellen zijn een vereenvoudigde voorstelling van de werkelijkheid. Aangezien de werkelijkheid onmogelijk precies te beschrijven is,



Nadelen

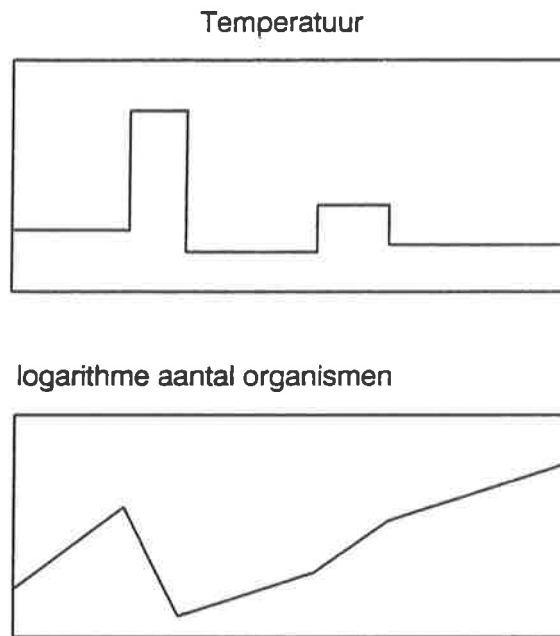
- geen inzicht in proces
- geen feed-back
- geen optimalisatie
- time-lag tussen sample en actie

Figuur 1. Voorbeeld van een schematische productie- en distributieketen met de nadelen van de huidige procesvoering.

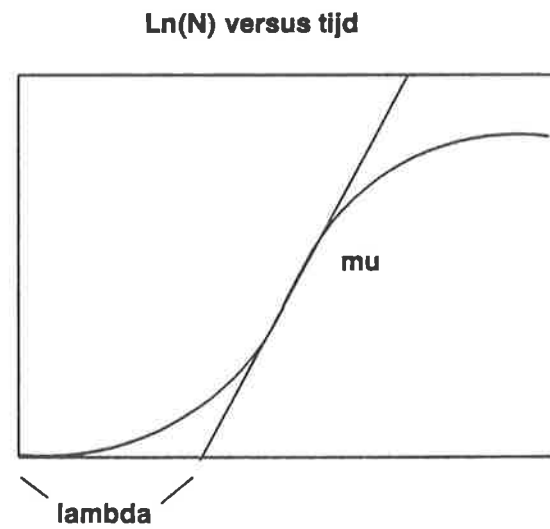
worden veronderstellingen gedaan over de belangrijkste processen die de kwaliteit bepalen. Deze veronderstellingen kunnen leiden tot een verzameling vergelijkingen die het systeem beschrijven. Met behulp van experimenten kunnen deze veronderstellingen worden getoetst en kunnen parameters uit de vergelijkingen worden bepaald. Deze parameters en vergelijkingen kunnen nu worden gebruikt om voorspellingen te doen over de microbiologische houdbaarheid van een produkt en over de effecten van veranderingen in het proces. Met behulp van zo'n model kunnen we nu inzicht verkrijgen in het verloop van het aantal organismen (figuur 2). We kunnen ook een proces optimaliseren en een voorspelling maken ten aanzien van het aantal organismen. Hiervan zullen later enkele voorbeelden volgen.

De invloed van de temperatuur

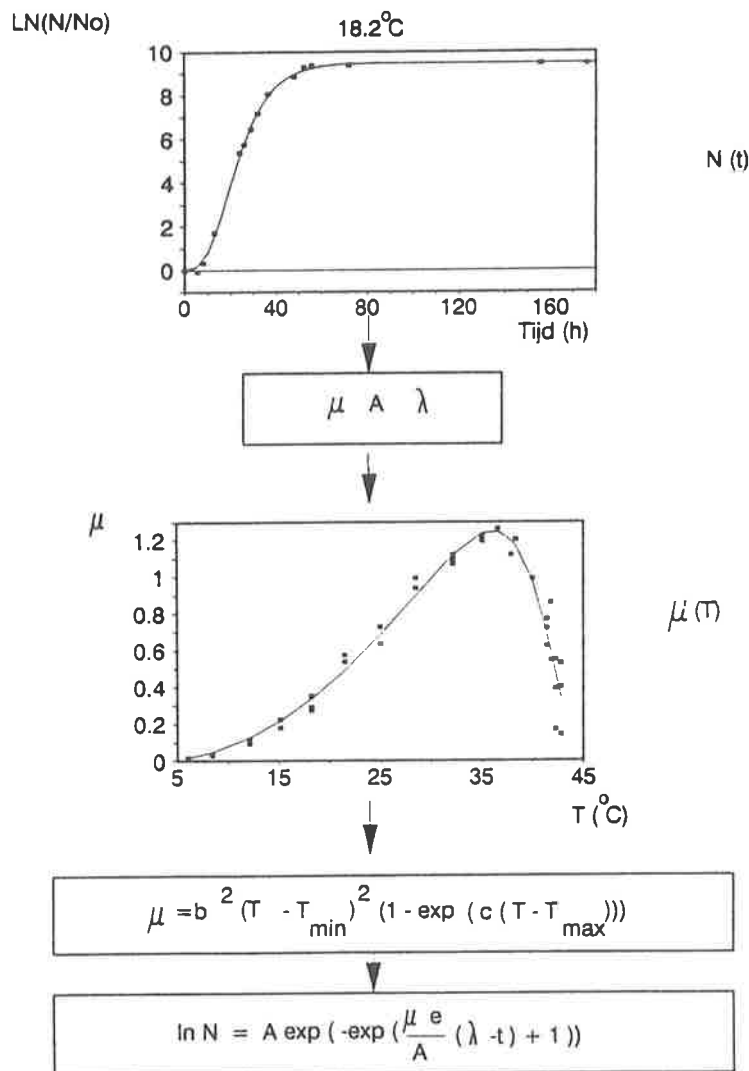
De bewaartemperatuur is een erg belangrijke factor voor de microbiologische houdbaarheid van gekoelde voedingsmiddelen. Alhoewel de pH, a_w , gassamenstelling, verpakking en dergelijke ook belangrijk zijn, heeft de temperatuur in veel gevallen de grootste invloed op de microbiologische kwaliteit. De temperatuur kan ook relatief eenvoudig worden aangepast zonder de produkteigenschappen te wijzigen. Als de modellen die de invloed van de temperatuur beschrijven zijn getoetst en blijken te voldoen, kunnen modellen voor



Figuur 2. Verloop van de temperatuur gedurende verschillende processtappen en het resulterende verloop van de logaritme van het aantal organismen.



Figuur 3. Sigmoidaal verloop van de logaritme van het aantal organismen in de tijd, met de 'lag time' (λ), de specifieke groeisnelheid (μ) en het eindniveau (asymptoot).



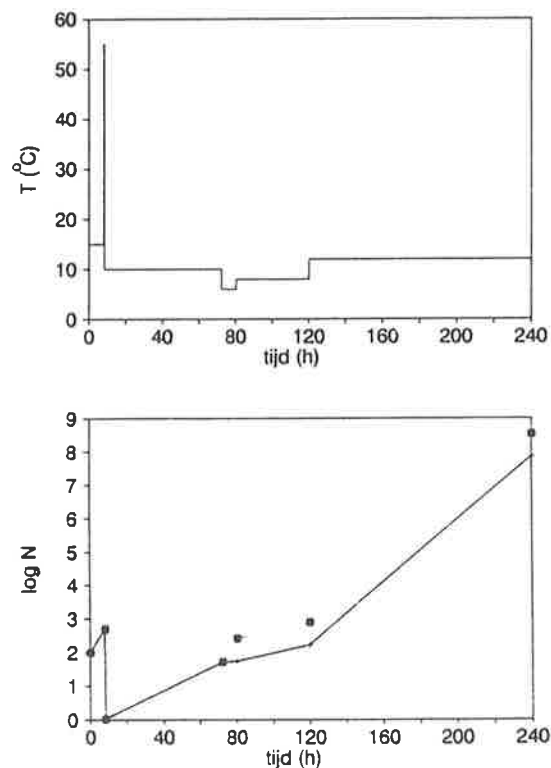
Figuur 4. Verloop van de verschillende bewerkingsstappen. Van boven naar beneden:
 – groeicurven bij verschillende temperaturen.
 – bepaling van de groeisnelheid (μ), 'lag time' (λ) en asymptoot (A) uit deze curven.
 – grafische weergave van een van deze groeiparameters (μ) als functie van de temperatuur.
 – model om deze groeisnelheid als functie van de temperatuur te beschrijven.
 – het gemodificeerde model van Gompertz om het verloop van het aantal organismen te beschrijven als functie van de tijd als de parameters μ , λ en de asymptoot bij die temperatuur bekend zijn.

andere variabelen worden toegevoegd. Het eerste doel is dus, bij een gegeven temperatuur-tijd-profiel van een bepaald productie- en distributieproces, het verloop van het aantal organismen te berekenen (zie figuur 2). Hiertoe moeten groeicurven worden gemeten bij verschillende temperaturen. Deze experimenten kunnen worden uitgevoerd in een temperatuurgradiënt-incubator en met behulp van plaattellingen.

Uit deze plaattellingen worden groeicurven verkregen (figuur 3) waaruit de vertragingstijd ('lag time', λ), groeisnelheid (μ) en asymptoot (A) kunnen worden geschat. Hiervoor is het gemodificeerde model van Gompertz gebruikt (Zwietering et al., 1990), dat het beste het S-vormige gedrag van een groeicurve bleek te beschrijven.

Als deze parameters nu bij verschillende temperaturen worden bepaald kunnen deze parameters tegen de temperatuur worden uitgezet en kunnen verschillende modellen worden getoetst in de beschrijving van de datapunten. Uiteindelijk kunnen dan modellen worden geselecteerd die de afhankelijkheid van de temperatuur beschrijven (figuur 4).

Als deze bekend zijn kan bij elke temperatuur een schatting worden gemaakt van de groeisnelheid, de 'lag time' en de asymptoot. Hierna kan, met behulp van het gemodificeerde model van Gompertz voor de beschrijving van een groeicurve, de groeicurve bij die temperatuur worden geschat. We kunnen nu met deze modellen



Figuur 5. Verloop van de temperatuur tijdens een fictief productie- en distributieproces en het verloop van het aantal organismen. De doorgetrokken lijn behelst een proces met gekoelde distributie; de stippellijn geeft een proces met ongekoelde distributie.

een (fictief) productie- en distributieproces simuleren (figuur 5). Met behulp van dit soort simulaties komen de voordelen van het modelleren duidelijk naar voren: we krijgen inzicht in het proces, we kunnen zien waar de grootste groei van micro-organismen plaatsvindt en of er misschien een fase is waar de groei het sterkst toeneemt (kritisch punt). Als dat zo is, kunnen we bijvoorbeeld de temperatuur verlagen of de verblijftijd in die fase proberen te verkorten, of anderszins maatregelen treffen. Dit is een voorbeeld van 'feedback'. Als we bijvoorbeeld de temperatuur tijdens distributie verlagen van 15 naar 6°C, zien we een ander verloop van het aantal organismen (figuur 5). Uiteraard zien we een verbetering van de kwaliteit van ons produkt en een verlengde houdbaarheid. Aangezien deze verbetering gekwantificeerd is kunnen we deze verandering in het proces afwegen ten opzichte van de kosten (bijvoorbeeld meer energie). Dit is een voorbeeld van het gebruik van de modellen voor optimalisatie. We kunnen deze modellen ook koppelen aan andere modellen, bijvoorbeeld met die voor warmteoverdracht en -geleiding. Dit wordt toegelicht met een voorbeeld (tabel 1 en figuur 6).

We zien dat de beginbesmetting in de grondstof redelijk hoog is ($\log(N) = 5$) en tijdens het proces nog toeneemt ($\log(N) = 7$). Het zou dus nuttig kunnen zijn de grondstoffen bijvoorbeeld een hittebehandeling te geven ('feedback'). We kunnen dit doen door de grondstoffen twee uur lang in een stoof van 65°C te plaatsen (tabel 2). We zien in figuur 7 dat dit geen positief effect heeft op de microbiologische kwaliteit. Het midden van het produkt bereikt slechts temperaturen van 40°C en er vindt daar helemaal geen afsterving plaats. De buitenkant van het produkt komt op 55°C en er vindt daar slechts heel beperkt afsterving plaats. Al gauw komt men dan op het idee niet met hete lucht te behandelen, maar met bijvoorbeeld heet water, omdat dan de warmteoverdrachtscoëfficiënt veel hoger is. Als we dit simuleren (figuur 8) blijkt de temperatuur van de buitenkant van het produkt werkelijk op 65°C te komen en sterven ook alle organismen af (het bederfororganisme was een vegetatieve bacterie *Lactobacillus plantarum*). De binnenkant komt tot ongeveer 57°C, en de afsterving is ook daar behoorlijk. Daarna vindt er midden in het produkt toch nog enige groei plaats ($\log(N) = 4$).

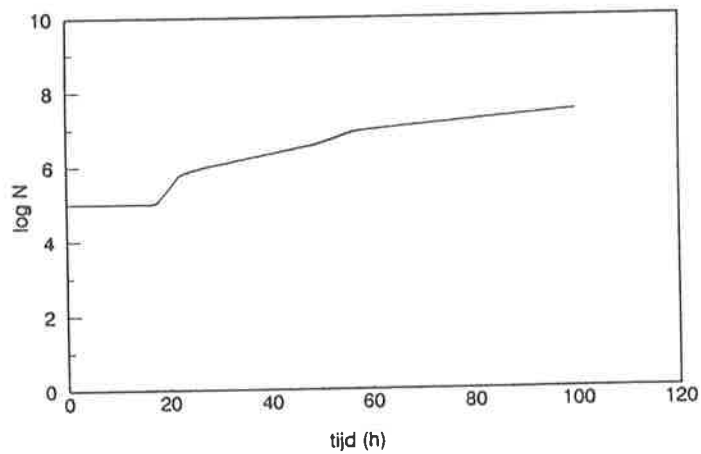
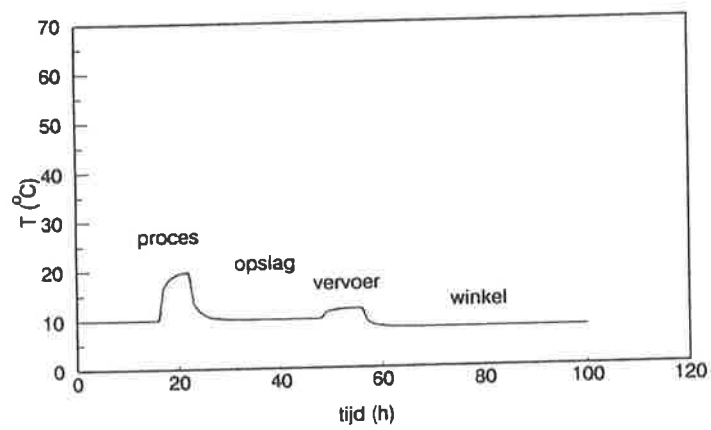
Op deze manier kunnen snel verschillende omstandigheden worden doorgerekend en kunnen de voordelen van veranderingen in het proces worden gekwantificeerd. Het ontwerpen van een optimaal proces, met relatief eenvoudige middelen, kan een aanzienlijk financieel voordeel opleveren. Simulatie is veel goedkoper dan laboratoriumwerk of 'pilot plant'-experimenten.

Andere variabelen

Zoals gezegd, zijn ook verschillende andere variabelen van invloed op de microbiologische houdbaarheid van voedingsmiddelen, zoals pH, a_w , gassamenstelling en verpakking. Het effect van deze variabelen op de bacteriële groei kan natuurlijk ook worden gemeten en gekwantificeerd, en ook hiervoor kunnen modellen worden opgesteld, zodat deze ook bij een eventuele optimalisatie of voorspelling kunnen worden betrokken. Zo modelleert de groep van Roberts

Tabel 1. Fictief productie- en distributieschema.

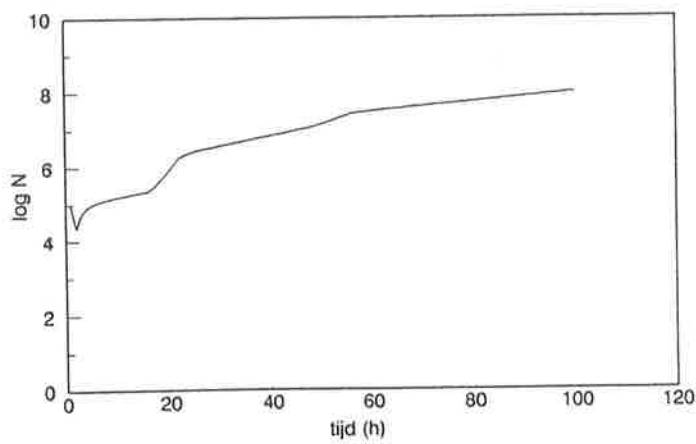
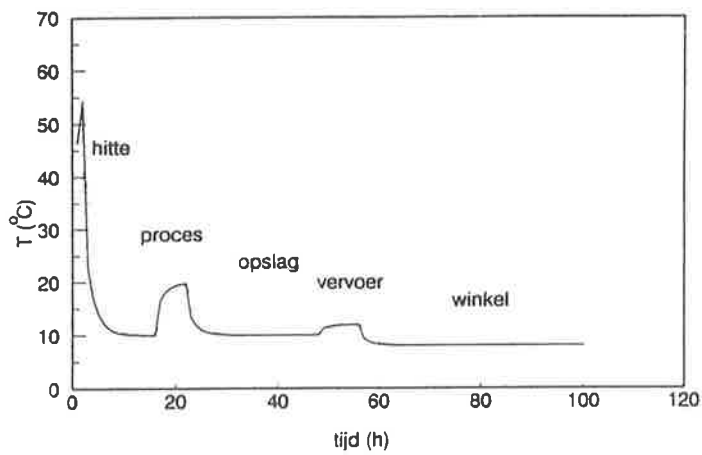
Processtap	Tijdsduur processtap (uren)	Tijdsduur cumulatief (uren)	Temperatuur (°C)
Opslag grondstof	2	2	10
Opslag grondstof	14	16	10
Productie	6	22	20
Opslag produkt	26	48	10
Distributie	8	56	12
Winkel	45	101	8



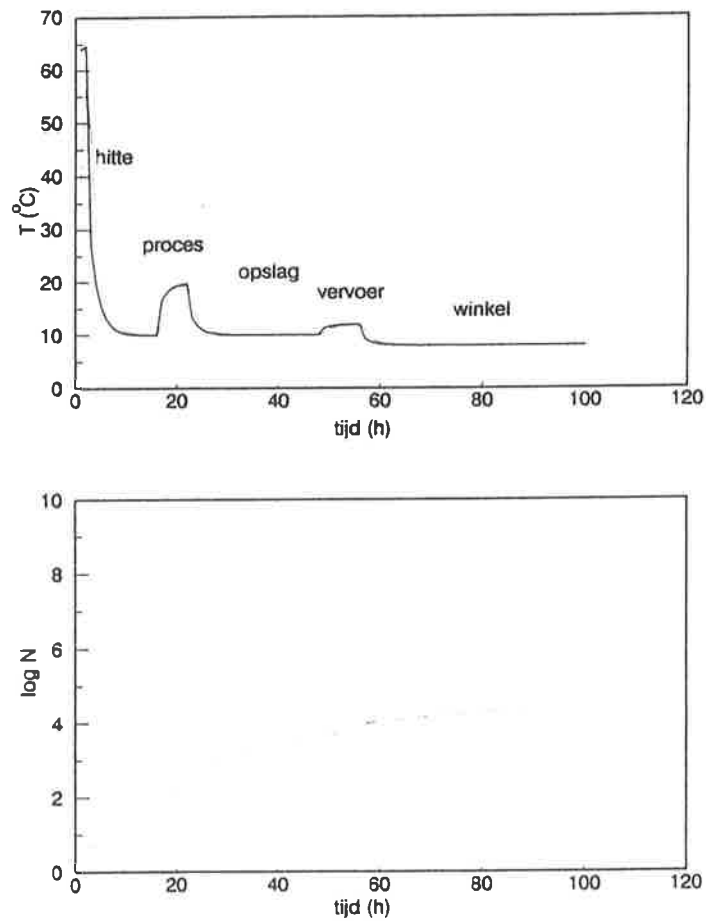
Figuur 6. Verloop van de temperatuur en het aantal organismen bij een fictief proces en distributieschema (zie tabel 1). De doorgetrokken lijn is het verloop aan de buitenkant van het produkt; de stippellijn is het verloop midden in het produkt.

Tabel 2. Fictief productie- en distributieschema, met hittebehandeling.

Processtap	Tijdsduur processtap (uren)	Tijdsduur cumulatief (uren)	Temperatuur (°C)
Hittebehandeling	2	2	65
Opslag grondstof	14	16	10
Productie	6	22	20
Opslag produkt	26	48	10
Distributie	8	56	12
Winkel	45	101	8



Figuur 7. Hittebehandeling met hete lucht (vgl. figuur 6 en tabel 2).



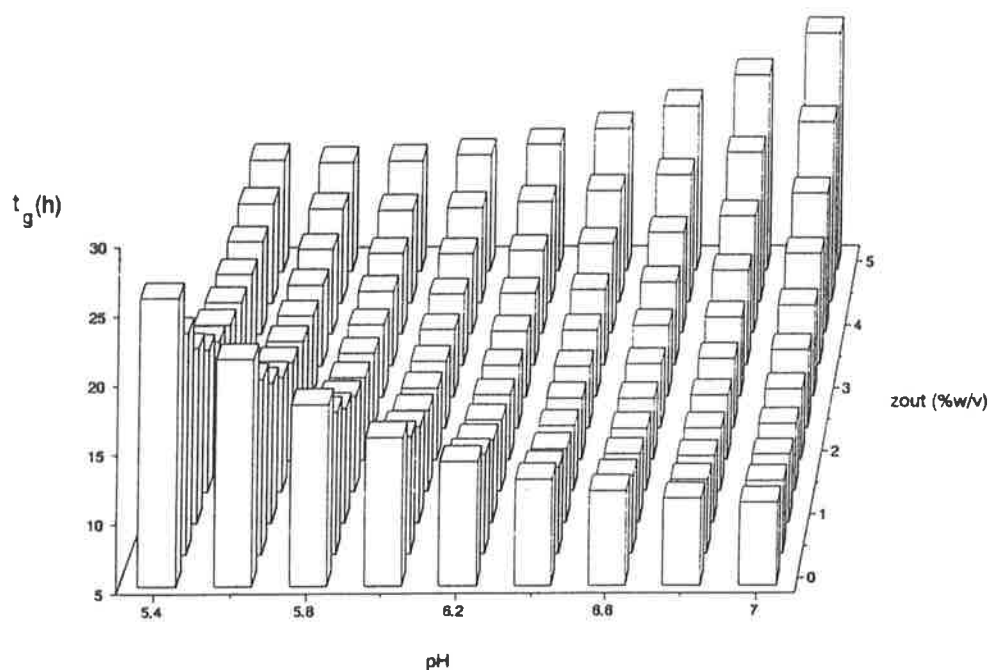
Figuur 8. Hittebehandeling met heet water (vgl. figuur 6 en tabel 2).

(Bratchel et al., 1989) de effecten van pH, zout en temperatuur op verschillende organismen. Een voorbeeld van hun resultaten wordt gegeven in figuur 9.

Het huidige onderzoek

Landbouwniversiteit

In de sectie Proceskunde van de Landbouwniversiteit wordt, in nauwe samenwerking met de sectie Levensmiddelenmicrobiologie en Unilever Research in Vlaardingen, onderzoek gedaan naar modellen die de invloed van de temperatuur



Figuur 9. Effect van pH en zoutgehalte op de generatietijd van *Salmonella* (uit: Brachel et al., 1989).

beschrijven. Hierbij ligt de nadruk op het doen van metingen, het selecteren van modellen en het ontwerpen van nieuwe modellen. Er wordt gewerkt aan eenvoudige simulatieprogramma's voor het berekenen van microbiële groei, alsook aan uitgebreidere modellen die ook de invloed van warmteoverdracht en geleiding in het produkt meenemen. Verder wordt de invloed van de logistiek van een proces op de microbiologische kwaliteit bestudeerd. Voorts wordt aandacht geschonken aan de ontwikkeling van een intelligent systeem, dat kan aangeven welke organismen mogelijk in welk produkt kunnen voorkomen en welke waarden de groeiparameters voor deze organismen in dat produkt ongeveer zullen hebben.

TNO-Voeding en de Universiteit van Utrecht

TNO-Voeding (tot voor kort de Hoofdgroep Voeding en Voedingsmiddelen TNO) en de vakgroep Voedingsmiddelen van Dierlijke Oorsprong van de Faculteit Diergeneeskunde van de RUU doen gezamenlijk onderzoek naar de modellering van de houdbaarheid van vlees en vleeswaren.

De bederfflora van vleeswaar (meestal lactobacillen) is minder complex dan die van vlees. Naast temperatuur als belangrijke factor dienen tevens parameters zoals pH en a_w bij dit modelleren te worden betrokken. Er is een begin gemaakt met het meten van groeicurves van specifieke bederf-micro-organismen onder verschillende condities, waarna vergelijkingen met praktijksituaties worden uitgevoerd. Hierbij wordt tevens aandacht geschonken aan de gevolgen van interacties tussen verschillende conserveringstechnieken voor de microbiële groei. Het modelleren van

deze variabele omstandigheden kan het onderzoek naar de stabiliteit en veiligheid van nieuwe produkten aanzienlijk vereenvoudigen.

Ogenschijnlijk complexer lijkt het modelleren van de houdbaarheid van rauw vlees. Wegens de hoge wateractiviteit en het in voldoende mate aanwezig zijn van nutriënten is de belangrijkste houdbaarheidsbepalende factor voor rauw vlees de bewaartemperatuur. De temperatuur kan tijdens de verschillende stadia, zoals bewerking, opslag, distributie en verkoop, nogal variëren, hetgeen betekent dat de houdbaarheid van vlees op elk willekeurig moment wordt bepaald door de cumulatieve temperatuureffecten van de achterliggende periode. Voor een zinvolle voorspelling van de houdbaarheid worden daarom de temperatuurschommelingen continu gevolgd. Deze mogelijkheid wordt geboden door apparaten die bekend zijn als 'time/temperature integrators'. Op basis van de zojuist beschreven modellen kunnen we de effecten van de gemeten temperatuurschommelingen omzetten in een maat van bederf. Zo is op elk willekeurig tijdstip een schatting te geven van de resterende houdbaarheid van het vlees. Een probleem hierbij is echter dat deze bederfflora niet alleen complex is, maar ook in de tijd nogal varieert. Dit stelt extra hoge eisen aan de mathematische modellen. Voorwaarde is tevens dat de pH van het vlees relatief constant blijft.

'Predictive modelling' kan een wezenlijke bijdrage leveren aan het opsporen en elimineren van zwakke plekken in bijvoorbeeld de koelketen, waardoor een effectievere integrale ketenbewaking en een maximale houdbaarheid kan worden verkregen.

Europese samenwerking.

In het kader van een FLAIR-project zoeken verschillende onderzoeksinstituten en bedrijven contact om nauwer samen te gaan werken binnen het gebied van de modellering van de microbiologische kwaliteit. Men probeert onderzoeksprogramma's beter op elkaar af te stemmen, resultaten beter uitwisselbaar te maken en op de hoogte te blijven van elkaars vorderingen.

Literatuur

- Bratchel, N., Gibson, A.M., Truman, M., Kelly, T.M. & Roberts, T.A., 1989. Predicting microbial growth: The consequences of the quantity of data. *International Journal of Food Microbiology* 8: 47 - 58.
- Stekelenburg, F. & Huis in 't Veld, J.H.J., 1990. De praktische betekenis van voorspellende modellen voor de vleesindustrie. *Vleesdistributie en Vleestechnologie* 25: 48 - 50.
- Zwietering, M.H., Jongenburger, I., Rombouts, F.M. & van 't Riet, K., 1990. Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and Environmental Microbiology* 6: 1875 - 1881.
- Zwietering, M.H., Koos, J.T., Hasenack, B.E., de Wit, J.C. & van 't Riet, K., 1990. Modeling of the bacterial growth as function of temperature. Aangeboden aan: *Applied and Environmental Microbiology*.

Dokkum, W. van, D.G. van der Heij (Red.).
Voedsel in beweging.
Symposium 50 jaar voedingsonderzoek TNO,
154 Utrecht, 3-5 oktober 1990.
Wageningen, Pudoc, 1990.

