

Clostridium botulinum og sikre oste

Ny matematisk model kan forudsige kombinationer af produkttegenskaber, der forhindrer vækst og toksindannelse af Clostridium botulinum i smelteost.

Baggrund for projektet

Clostridium botulinum danner en meget farlig nervegift, og grundet dette 'Botulinum toksin' skal bakterien styres effektivt i fødevarer. Bakteriens toksindannelse gør det imidlertid både kostbart og tidskrævende at undersøge dens forekomst og vækst. For smelteost samt andre fødevarer, der opbevares og distribueres uden køling, er det en udfordring at finde optimale kombinationer af produkttegenskaber og lagringsbetingelser, der for-

hindrer vækst af *C. botulinum*. Cbot-Predictor projektet har set på denne udfordring med anvendelse af dels *C. sporogenes* som erstatning/surrogat for *C. botulinum* og dels mutanter af *C. botulinum*, der ikke danner nervegift. Formålet med projektet har været at udvikle en ny matematisk model, der kan forudsige kombinationer af produkttegenskaber og lagringsbetingelser til at forhindre vækst af *C. botulinum* og dermed bidrage til lettere og hurtigere at udvikle nye recepter for sikre



AF PAW DALGAARD, PROFESSOR OG IOULIA KOUKOU, PH.D., DTU FØDEVAREINSTITUTTET



Projektinfo

Titel: Clostridium botulinum og sikre oste (Cbot-Predictor)

Projektleder: Paw Dalgaard, Professor, DTU Fødevareinstituttet

Projektdeltagere: Ioulia Koukou, ph.d.-studerende, DTU Fødevareinstituttet; Chris W. Michiels, Professor, KU Leuven, Belgien; Elissavet Gkogka, Mikrobiologisk forsker og Simon Metz M. Pedersen, Leder af fødevaremikrobiologi, Arla Foods.

Projektperiode: november 2018 – oktober 2021.

Hovedformål: Udvikle en prædiktiv model der kan bidrage til lettere og hurtigere formulering af nye recepter for sikre smørbar oste. Læs mere på: <https://mejeri.dk/forskning-og-uddannelse/forskning/igangvaerende-projekter/fodevaresikkerhed-analyser/cbot-predictor-clostridium-botulinum-og-sikre-oste/> Ioulia's ph.d.-afhandling kan downloades her: <https://orbit.dtu.dk/en/publications/management-of-clostridium-botulinum-in-food-a-predictive-food-m>

MEJERIBRUGETS
FORSKNINGSFOND

Kort resumé

En ny prædiktiv model for vækst og vækstgrænse af *Clostridium botulinum* er udviklet og valideret således, at den kan forudsige kombinationer af produktegenskaber og lagringsbetingelser, der forhindrer vækst og toksindannelse. Det forventes, at dette redskab kan bidrage til produktudvikling og dokumentation af fødevarer sikkerhed for smelteost, samt andre fødevarer, der opbevares uden køling. Den nye model indeholder effekten af temperatur, pH, salt/vandaktivitet, fosfat-smeltesalte samt organiske syrer (benzoe-, citron-, eddike-, mælke- og sorbinsyre) på vækst og vækstgrænse. Den nye model er inkluderet i et prædiktionsredskab, og dette gør det forhåbentligt lettere at opnå og anvende forudsigelser fra modellen til gavn for hele mejerisektoren. Prædiktionsredskabet er tilgængeligt fra DTU Fødevarainstitutet (kontakt: pada@food.dtu.dk) og senere fra <http://fssp.food.dtu.dk/>.

oste, herunder også produkter med reduceret saltindhold.

Styring af *Clostridium botulinum* i smelteost

I første fase af projektet blev der skabt ikke-toksin-dannende mutanter ud fra fem isolater af *C. botulinum*. Disse mutanter viste sig imidlertid at være meget følsomme overfor salt og derfor ikke repræsentative for vækst af denne gruppe af bakterier. Som alternativ til brug af mutanter blev det derfor valgt at udvikle den ønskede matematiske model med brug af *C. sporogenes* isolater, da disse ikke danner botulinum-toksin og samtidig er genetisk meget nært beslægtede med *C. botulinum*.

Effekten af temperatur, pH, salt/vandaktivitet, fosfat-smeltesalte (mono-, di-, og trifosfat smeltesalte) samt organiske syrer (benzoe-, citron-, eddike-, mælke- og sorbinsyre)

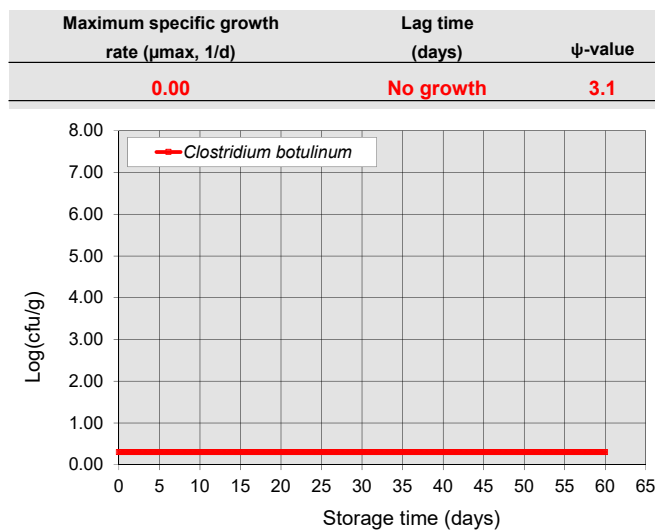
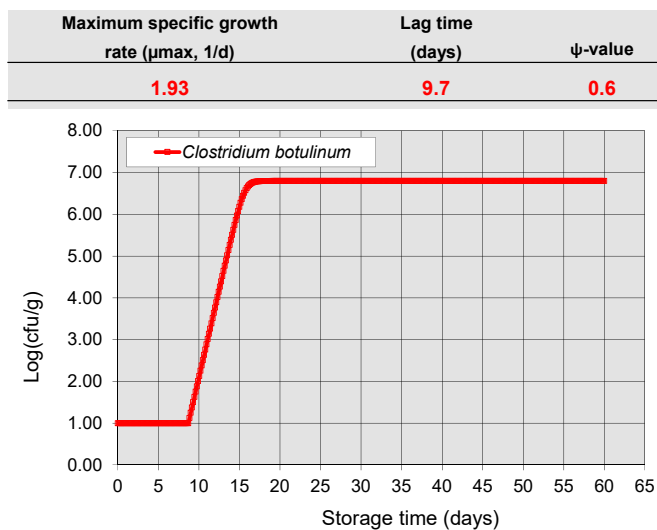
på væksthastighed for *C. sporogenes* blev bestemt under anaerobe forhold samt med anvendelse af en flydende vækstbouillon. En matematisk model blev udviklet ud fra de opnåede 626 væksthastigheder. Denne 'bouillon-model' blev derefter kalibreret til data for vækst af *C. sporogenes* i smelteost (n = 10) og efterfølgende valideret med data for vækst af *C. sporogenes* i smelteost (n = 20) samt med data for vækst og toksindannelse af *C. botulinum* i smelteost (n=78), kød/fjerkræ (n=61) og grønsager (n=69). Den nye model er mere omfattende end andre eksisterende modeller og egnet til at forudsige kombinationer af produktegenskaber og lagringsbetingelser, der forhindrer vækst og toksindannelse af *C. botulinum*.

Anvendelse af den nye model

Med det formål at lette anvendelse af den nye og omfattende vækst- og vækstgrænse-

model er denne inkluderet i et prædiktionsværktøj "DTU Food Predictive Tool for Proteolytic *Clostridium botulinum* (Group 1)". Det følgende eksempel viser, hvordan dette prædiktionsværktøj kan anvendes til at identificere kombinationer af produktegenskaber til at forhindre vækst og toksindannelse af *C. botulinum* (Figur 1). Ved 25°C forudsiges vækst i smelteost med 55% vand, 1,5% salt, 1,5% mono-fosfat, pH 6,0 samt 0,1% citronsyre, 0,1% eddikesyre og 0,5% mælkesyre (Fig. 1a). Den nye model anvender en såkaldt Ψ -værdi til at angive om et produkt tillader vækst ($\Psi < 1,0$), eller om vækst er forhindret ($\Psi > 1,0$). Til effektivt at forhindre vækst ønskes kombinationer af produktegenskaber og lagringsbetingelser svarende til en Ψ -værdi over 2,0. Med øget indhold af citronsyre (fra 0,1% til 0,2%) og pH reduceret fra 6,0 til 5,8 forudsiges, at vækst er effektivt forhindret (Fig. 1b; Ψ -værdi = 3,1). Hvis produktet med Ψ -værdi på 3,1 opbevares ved 35°C, i stedet for 25°C, forudsiges den nye model en Ψ -værdi på 1,5, og dermed at vækst er forhindret i dette produkt også ved 35°C.

Det skal bemærkes, at den nye matematiske model og prædiktionsværktøj ikke er udviklet til mere præcist at forudsige den tid, det tager *C. botulinum* at danne toksin i smelteost eller andre fødevarer. Der findes andre eksisterende modeller, der kan udføre denne type af forudsigelser. Disse modeller indeholder imidlertid ikke effekten af flere af de faktorer, som påvirker vækst og vækstgrænse af *C. botulinum* i smelteost f.eks. eddikesyre og forskellige smeltesalte. ●



Figur 1: Eksempel på anvendelse af ny model og prædiktionsværktøj.