



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

Σχολή Επιστημών Τροφίμων
Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Τελευταίες εξελίξεις στην μοντελοποίηση
των παθογόνων μικροοργανισμών στα τρόφιμα

Σαμιώτη Γεωργία
ΑΜ: 14502

Επιβλέπων: Κοντελής Σπύρος, *PhD*

ΑΘΗΝΑ 2021

Εγκρίθηκε από τριμελή εξεταστική επιτροπή

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

		Υπογραφή
1	Κοντελής Σπύρος Ακαδημαϊκός Υπότροφος Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής	
2	Σπηλιώτης Βασίλειος Καθηγητής Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής	
3	Μπατρίνου Ανθιμία, Επίκουρος Καθηγήτρια, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής	

ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΔΗΛΩΣΗ ΜΗ ΛΟΓΟΚΛΟΠΗΣ

Δηλώνω υπεύθυνα και γνωρίζοντας τις κυρώσεις του νόμου περί Πνευματικής Ιδιοκτησίας, ότι είμαι η αποκλειστική συγγραφέας της παρούσας πτυχιακής εργασίας, η οποία δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής, ούτε προέρχεται από ανάθεση σε τρίτους. Όλες οι πηγές (κάθε είδους, μορφής και προέλευσης) που χρησιμοποιήθηκαν για την συγγραφή της περιλαμβάνονται στην βιβλιογραφία. Δηλώνω, επίσης, ότι αναλαμβάνω τις συνέπειες, όπως αυτές νομίμως ορίζονται, σε περίπτωση που αποδειχθεί διαχρονικά ότι η εργασία αυτή αποτελεί προϊόν λογοκλοπής

Σαμιώτη Γεωργία



Υπογραφή

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Εισαγωγή.....	8
Κεφάλαιο 1 Γενική περιγραφή λογισμικού Προγνωστικής Μικροβιολογίας	
1 Προγνωστική Μικροβιολογία.....	9
1.1 Βασικές κατηγοριοποιήσεις των προγνωστικών μοντέλων.....	10
1.2 Λογισμικά Προγνωστικής Μοντελοποίησης.....	12
1.3 Συνοπτική παρουσίαση των λογισμικών.....	13
1.4 Γενικές πληροφορίες σχετικά με τα λογισμικά	16
1.5 Λειτουργικά υπο-προγράμματα στα λογισμικά.....	17
1.5.1 Βάσεις Δεδομένων.....	19
1.5.2 Προγνωστικά μοντέλα «Ανάπτυξης/ μη-ανάπτυξης».....	22
1.5.3 Μοντέλα Προσαρμογής.....	22
1.5.4 Προγνωστικά Μοντέλα ανάπτυξης.....	24
1.5.5 Μοντέλα πρόγνωσης θανάτωσης/ αδρανοποίησης.....	25
1.5.6 Εκτίμηση Επικινδυνότητας.....	26
Κεφάλαιο 2 Ενδεικτικές Εφαρμογές σε Λογισμικά προγνωστικής μικροβιολογίας	
2 Food Spoilage and Safety Predictor και ComBase.....	27
2.1 Food Spoilage and Safety Predictor.....	28
2.2 Εκτίμηση διάρκειας ζωής ιχθυωδών συντηρούμενων στον αέρα.....	28
2.3 Εξέλιξη πληθυσμού <i>Lactobacillus</i> spp. σε ιχθυώδες με και χωρίς κάπνιση σε θερμοκρασίες ψύξης.....	31
2.4 Εξέλιξη πληθυσμών <i>Lactobacillus</i> spp. και <i>Listeria monocytogenes</i> σε μαλακό τυρί.....	32
2.5 ComeBase - Βάση Δεδομένων με λογισμικό πρόγνωσης.....	36
2.5.1 Διαθέσιμες επιλογές ComeBase.....	37
2.5.1α «Αναζήτηση/ Περιήγηση» - Browser.....	37
2.5.1β Broth models – Growth.....	37
2.5.1γ Κινητική Θερμικού Θανάτου: - Thermal Inactivation Model.....	40
2.5.1δ Κινητική μη-Θερμικού Θανάτου: - Non Thermal Survival Model.....	41

2.5.1ε	Browser – Επιλογή τροφίμου.....	42
2.5.1στ	Browser – Συνδυασμένη επιλογή τροφίμου – μικροοργανισμού.....	45
2.5.1ζ	DMFit – Data Model Fitting.....	46
2.5.1η	Προγνωστικά μοντέλα υπό δυναμικές/ μεταβαλλόμενες συνθήκες.....	47
3	Συμπεράσματα.....	48
	Βιβλιογραφία	49

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Προγνωστική Μικροβιολογία (*Predictive Microbiology*) είναι ένας κλάδος της μικροβιολογίας ο οποίος εμπλέκει και τα μαθηματικά και ήδη μετρά 30 χρόνια. Ο στόχος της ήταν και παραμένει να «μαθηματικοποιήσει», δηλαδή να περιγράψει μέσω κατάλληλων εξισώσεων φαινόμενα επιβίωσης, ανάπτυξης ή θανάτωσης μικροοργανισμών. Τα τελευταία 10 χρόνια τα μαθηματικά μοντέλα της προγνωστικής μικροβιολογίας έχουν ενσωματωθεί σε λογισμικά (*software*) διαθέσιμα είτε στο Διαδίκτυο είτε ελεύθερα να «κατέβουν» σε υπολογιστές. Ορισμένα από αυτά είναι εμπορικά διαθέσιμα κατόπιν συνδρομής, κάποια άλλα είναι ελεύθερης πρόσβασης ενώ ορισμένα έχουν ουσιαστικά εγκαταλειφθεί. Τα χαρακτηριστικά των λογισμικών αυτών διαφοροποιούνται σημαντικά μεταξύ τους, και πρακτικά δεν υπάρχει ένα το οποίο να μπορεί να διεκδικήσει το χαρακτηρισμό του «καλύτερου». Όλα έχουν περισσότερα του ενός υποπρογράμματα (*modules*) όπως: μοντέλα ανάπτυξης (*Growth Models*), κινητικής Θανάτωσης/ αδρανοποίησης (*killing/ inactivation kinetics*), Ανάπτυξης/ μη -Ανάπτυξης (*Growth/ no-Growth*), καθώς και μοντέλα παραγόμενα από εξωτερικά δεδομένα (*Fitting data models*).

ABSTRACT

Predictive Microbiology is a field of microbiology that involves mathematics and has been mainly developed the 30 years. Its aim was and remains to "*mathematize*", that is, to describe, through appropriate equations, phenomena of survival, growth, or death of microorganisms. For the past 10 years, mathematical models of predictive microbiology have been integrated with software and are available either on the Internet or freely downloaded to computers. Some of those are commercially available upon subscription, some are freely accessible, and some have been virtually abandoned. The characteristics of these software differ significantly from each other, and practically none of these could be characterized as the "best" one. All have more than one sub-program (modules) such as: "*Growth Models*", "*Death/ inactivation kinetics*", "*Growth / no-Growth models*", as well as models derived from external data (*Fitting data models*). Predictive Microbiology software are very useful as auxiliary tools for Food Development, Quality Assurance Systems, Risk Assessment, etc.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η πρόβλεψη της επιβίωσης, της ανάπτυξης καθώς και της θανάτωσης παθογόνων καθώς και αλλοιογόνων μικροοργανισμών στα τρόφιμα ήταν μια από τις πιο παραγωγικές δραστηριότητες στην Έρευνα Μικροβιολογίας Τροφίμων τις τελευταίες δύο δεκαετίες. Η δυνατότητα εφαρμογής προγνωστικών μοντέλων και η ανάπτυξη λογισμικού έχει γίνει ενεργός τομέας της εφαρμοσμένης μικροβιολογίας τροφίμων. Η ανάπτυξη μοντέλων και ειδικότερα λογισμικού γνώρισε μεγάλη άνθιση την δεκαετία που πέρασε και ειδικότερα τα έτη από το 2012 έως 2015.

Αρχικά θα γίνει μία γενική ανασκόπηση του λογισμικών που έχουν αναπτυχθεί με έμφαση σε δύο από τα κυριότερα λογισμικά που είναι ελεύθερα και διαθέσιμα και στο δεύτερο μέρος της πτυχιακής θα γίνει περιγραφή ορισμένων χαρακτηριστικών των λογισμικών αυτών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 Γενική περιγραφή λογισμικού Προγνωστικής Μικροβιολογίας

1. Προγνωστική Μικροβιολογία

Ο τομέας της μικροβιολογίας τροφίμων είναι ένας αρκετά ευρύς τομέας, ο οποίος καλύπτει την μελέτη των μικροοργανισμών που έχουν τόσο επωφελή όσο και επιβλαβή αποτελέσματα στην ασφάλεια και την ποιότητα των τροφίμων. Ο κύριος στόχος ενός μικροβιολόγου είναι να προσδιορίσει και συχνά να ποσοτικοποιήσει τους τροφιμογενείς μικροοργανισμούς. Ωστόσο οι εγγενείς ανακρίβειες στην διαδικασία της απαρίθμησης αλλά και οι φυσικές παραλλαγές που συναντώνται σε όλα τα βακτήρια, καθιστούν το έργο αυτό αρκετά δύσκολο. Η συγκέντρωση ικανοποιητικών στοιχείων για την συμπεριφορά των μικροοργανισμών, απαιτεί ένα σημαντικό ποσό εργασίας και είναι ιδιαίτερα δαπανηρή. Επιπλέον, ενώ τα δεδομένα αυτά μπορούν να περιγράψουν την συμπεριφορά ενός μικροοργανισμού σε ένα τρόφιμο, παρέχουν ελάχιστες πληροφορίες για την σχέση μεταξύ των φυσιολογικών διεργασιών και την ανάπτυξη ή επιβίωση του μικροοργανισμού. Η συσχέτιση αυτή, μπορεί να πραγματοποιηθεί ικανοποιητικά με την χρήση μαθηματικών μοντέλων.

Στην απλούστερη μορφή του, ένα μαθηματικό μοντέλο είναι μια απλή μαθηματική περιγραφή της διαδικασίας. Τα μοντέλα αυτά, άρχισαν να χρησιμοποιούνται στην μικροβιολογία τροφίμων στις αρχές του 20ου αιώνα, για να περιγράψουν την κινητική θανάτωσης/ αδρανοποίησης των τροφιμογενών παθογόνων κατά τη θερμική επεξεργασία των τροφίμων (θερμοβακτηριολογία). Από τότε, με την ανάπτυξη των υπολογιστών και την δημιουργία ισχυρών στατιστικών πακέτων λογισμικού, η χρήση των μοντέλων στην μικροβιολογία τροφίμων, έχει αναπτυχθεί τόσο, ώστε να αναγνωρίζεται ως ένας διακριτός κλάδος της, με την ονομασία προρρητική μικροβιολογία (McMeekin et al., 1993), ενώ βρίσκει εφαρμογή τόσο στην ασφάλεια όσο και στην ποιότητα των τροφίμων. Τα μοντέλα μικροβιακής ανάπτυξης και επιβίωσης, είναι πλέον αρκετά λεπτομερή και ακριβή με αποτέλεσμα να συμβάλουν σημαντικά ώστε οι επιστήμονες και οι αρμόδιες αρχές να μπορούν να κάνουν λογικές προβλέψεις για τον σχετικό κίνδυνο που μπορεί να παρουσιάζει ένα συγκεκριμένο τρόφιμο ή διαδικασία. Σε γενικές γραμμές, ένα μοντέλο απλοποιεί ένα

σύστημα, χρησιμοποιώντας ένα συνδυασμό των περιγραφών, των μαθηματικών εξισώσεων και των ειδικών συνθηκών εκκίνησης.

1.1 Βασικές κατηγοριοποιήσεις των προγνωστικών μοντέλων

Υπάρχουν διαφορετικές κατηγοριοποιήσεις των προγνωστικών μοντέλων ανάλογα με το κριτήριο που χρησιμοποιείται.

▪ **Περιγραφικά και επεξηγηματικά:** Τα περιγραφικά μοντέλα (παρατήρησης, εμπειρικά, «black box» ή επαγωγικά) είναι μοντέλα που βασίζονται αποκλειστικά στα δεδομένα. Για την ταξινόμηση των δεδομένων χρησιμοποιούνται διάφορες προσεγγίσεις, όπως οι πολυωνυμικές συναρτήσεις, η ανάλυση κύριων συνιστωσών και τα τεχνητά νευρωνικά δίκτυα. Αληθείς προβλέψεις είναι δύσκολο να γίνουν με αυτή την κατηγορία μοντέλων, λόγω της δυσκολίας τους να προεκταθούν πέρα από τα δεδομένα που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή τους. Παρά το γεγονός αυτό, τα περιγραφικά μοντέλα έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς και με ιδιαίτερη επιτυχία στην προγνωστική μικροβιολογία.

Τα επεξηγηματικά μοντέλα (μηχανιστικά, «white box» ή συμπερασματικά) στοχεύουν στο να συνδέσουν τα δεδομένα με τις θεμελιώδεις επιστημονικές αρχές ή τουλάχιστον με τις μετρήσιμες φυσιολογικές διαδικασίες. Πολλά μοντέλα της προγνωστικής μικροβιολογίας έχουν παραμέτρους που συσχετίζονται με παρατηρηθέντα φαινόμενα και επομένως θεωρούνται μηχανιστικά. Η πιο διαδεδομένη μορφή των μηχανιστικών μοντέλων είναι τα αναλυτικά μοντέλα, τα οποία είναι περιγραφικές εξισώσεις που προσαρμόζονται στα δεδομένα. Για να θεωρηθεί ένα μοντέλο πραγματικά μηχανιστικό, θα πρέπει να εγείρει νέα ερωτήματα και υποθέσεις που μπορεί να δοκιμαστούν. Αυτό όμως δεν είναι πάντα εύκολο με τις ρητές συναρτήσεις αφού είναι δύσκολο να επεκταθούν στις δυναμικές καταστάσεις ή να προστεθούν επιπλέον βήματα στο μοντέλο.

▪ **Προσδιοριστικά και Στοχαστικά:** Τα προσδιοριστικά/ κινητικά (*deterministic*) μοντέλα βασίζονται στη γνώση των συνθηκών εκκίνησης, όπου σε συνδυασμό με μια μαθηματική συνάρτηση περιγράφει τη συμπεριφορά του συστήματος κατά τη διάρκεια του χρόνου, οπότε θεωρητικά μπορεί να προβλέψει την κατάσταση του συστήματος σε οποιαδήποτε χρονική στιγμή. Τα βακτήρια, ωστόσο, δεν είναι τόσο «συνεργάσιμα». Ενώ μπορεί να είναι δυνατό να καθοριστεί μια συνάρτηση, οι

συνθήκες έναρξης συχνά είναι λιγότερο σαφείς απ' ότι απαιτείται, ειδικά όταν έχουμε να κάνουμε με επιμέρους βακτηριακά κύτταρα.

Ως Στοχαστικά (*probabilistic*) είναι τα μοντέλα αυτά που αναγνωρίζουν και έχουν εισάγει στην δομή τους, την αβεβαιότητα ή την μεταβλητότητα (*variability*). Τα μοντέλα αυτά έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς στο παρελθόν για να προβλέψουν την πιθανότητα της εκβλάστησης των σπορογόνων παθογόνων βακτηρίων. Μάλιστα, η συμπεριφορά των βακτηρίων, έχει προσεγγιστεί με αυτή των ατόμων σε μία έννοια που συχνά αναφέρεται ως *quantal microbiology*, ανάλογη, κατά ορισμένο τρόπο, με την κβαντική μηχανική (Bridson et al., 2000). Επιπρόσθετα, η επίδραση του περιβαλλοντικού στρες στους μικροοργανισμούς οδηγεί σε ενδοπληθυσμιακή διαφοροποίηση, όπου τα κύτταρα μπορεί να είναι φαινοτυπικά αλλά όχι γενετικά διαφορετικά μεταξύ τους. Οι πρόσφατες εξελίξεις στην χρήση λογισμικού που επιτρέπει την περαιτέρω ανάπτυξη των μοντέλων πιθανοτήτων, έχουν βοηθήσει ώστε αυτές οι προσεγγίσεις να γίνουν πιο προσιτές και να παρέχουν μεγαλύτερη υποστήριξη για την ανάπτυξη διαδικασιών αξιολόγησης των κινδύνων (Risk Assessment).

▪ **Πρωτογενή, δευτερογενή και τριτογενή:** Μία ακόμη σημαντική κατηγοριοποίηση είναι αυτή των Whiting και Buchanan (1993). Σύμφωνα λοιπόν με αυτούς, τα μοντέλα διακρίνονται σε πρωτογενή, δευτερογενή και τριτογενή. Τα πρωτογενή μοντέλα, περιγράφουν την μεταβολή του μικροβιακού πληθυσμού σε σχέση με τον χρόνο. Η μέτρηση του μικροβιακού πληθυσμού μπορεί να γίνει με άμεσες μεθόδους (καταμέτρηση αποικιών σε άγαρ ή μικροσκοπικά), με έμμεσες μεθόδους (μέτρηση απορρόφησης ή ηλεκτρικής αντίστασης) ή με την καταμέτρηση μεταβολικών προϊόντων (παραγωγή οξέων ή τοξινών). Τα μοντέλα αυτά χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό των κινητικών παραμέτρων ανάπτυξης (μ_{\max} , generation time, λ , γ_{\max}). Τα δευτερογενή μοντέλα περιγράφουν την απόκριση μίας ή πολλών παραμέτρων ενός πρωτογενούς μοντέλου, σε μία ή περισσότερες μεταβολές των συνθηκών της μικροβιακής καλλιέργειας. Χρησιμοποιούνται για την ποσοτικοποίηση της επίδρασης των περιβαλλοντικών συνθηκών (π.χ. θερμοκρασία, pH, a_w) στις κινητικές παραμέτρους ανάπτυξης. Τέλος, τα τριτογενή μοντέλα είναι ο συνδυασμός ενός ή

περισσότερων δευτερογενών μοντέλων για την δημιουργία λογισμικών στατιστικών πακέτων, φιλικών προς το χρήστη.

1.2 Λογισμικά Προγνωστικής Μοντελοποίησης

Ο αυξημένος αριθμός των μικροβιακών μοντέλων που παράγονται τα τελευταία 25 χρόνια, οδήγησε στην ανάπτυξη φιλικών προς το χρήστη λύσεων τεχνολογίας πληροφοριών με σκοπό τη μεταφορά γνώσεων μεταξύ ακαδημαϊκών / ερευνητών και ενδιαφερόμενων φορέων του τομέα των τροφίμων

Η χρήση αυτών των προγραμμάτων/ λογισμικών, περισσότερο ή λιγότερο, βοηθά στην ορθή ανάπτυξη συστημάτων HACCP, την εκτίμηση της διάρκειας ζωής τροφίμων, τη συμμόρφωση με μικροβιολογικά κριτήρια, τον καθορισμό σχημάτων δειγματοληψίας καθώς και πειραματικό σχεδιασμό. Το σημαντικότερο όμως όλων από τη χρήση αυτών των προγραμμάτων είναι ότι δεν απαιτούν πολύ εξειδικευμένες γνώσεις, και δίνουν την δυνατότητα λήψεως αποφάσεων σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα. Είναι γεγονός ότι η πρακτική χρήση προγνωστικών μοντέλων εξαρτάται από τα λογισμικό και κυρίως της ευχρηστίας τους μέσω οπτικοποιημένων και φιλικών προς το χρήστη εργαλείων (*user-friendly-interface*). Ένα ακόμα, πολύ σημαντικό ζήτημα, είναι αυτό της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων στο οποίο κρίσιμο ρόλο διαδραματίζει η ποιότητα και η μεθοδολογία συλλογής των αποτελεσμάτων. Αυτονόητα, η αυξημένη αξιοπιστία, και η ευκολία χρήσης των λογισμικών μοντελοποίησης προσδίδει δυναμική στην χρήση τους, από τον ευρύτερο χώρο των Τροφίμων.

Τα διαθέσιμα αυτά λογισμικά προσφέρουν μια ποικιλία βοηθητικών προγραμμάτων για την πλειονότητα των τροφιμογενών παθογόνων βακτηρίων καθώς και αρκετών αλλοιογόνων συμπεριλαμβανομένων βάσεων δεδομένων (*data bases*), μοντέλων προσαρμογής (*fitting models*), μοντέλων πρόβλεψης (*predictive models*), μοντέλων ανάπτυξης/ μη-ανάπτυξης (*growth/ no-growth*), εκτίμησης κινδύνου (*risk assessment*).

1.3 Συνοπτική παρουσίαση των λογισμικών

Ακολουθεί συνοπτική περιγραφή των δεκαέξι (16) λογισμικών προγνωστικής μοντελοποίησης που έχουν αναπτυχθεί τα τελευταία 15 χρόνια, αν και ορισμένα από αυτά είναι πλέον ανενεργά.

- **Software:** *Baseline*
- **Δικτυακός τόπος:** www.baselineapp.com
- **Χαρακτηριστικά:** Προσομοιώνει την ανάπτυξη και την αδρανοποίηση 5 διαφορετικών παθογόνων παραγόντων σε διάφορες εξομοιώσεις τροφίμων (*food matrix*), χρησιμοποιώντας προγνωστικά μοντέλα από τη βιβλιογραφία. Περιλαμβάνεται επίσης μια ενότητα για σχέδια δειγματοληψίας (*sampling plans*).

- **Software:** *Combase*
- **Δικτυακός τόπος:** <http://www.combase.cc>
- **Χαρακτηριστικά:** Βάση δεδομένων με περισσότερα από 50.000 αρχεία για να περιγράψει την εξέλιξη (ανάπτυξη και αδρανοποίηση) πολλών μικροοργανισμών σε μέσα καλλιέργειας ή σε διαφορετικά τρόφιμα. Παρέχει επίσης μοντέλα προσαρμογής (*fitting*) και προσομοίωσης (*simulation*) για την ανάπτυξη και αδρανοποίηση μικροοργανισμών. Περιλαμβάνονται 15 μικροοργανισμοί.

- **Software:** *Dairy Products Safety Predictor*
- **Δικτυακός τόπος:** www.aqr.maisondulait.fr
- **Χαρακτηριστικά:** Είναι ένα εμπορικό λογισμικό που εκτελεί προσομοιώσεις ενός μοντέλου έκθεσης ή εκτίμησης κινδύνου που είχε αναπτυχθεί προηγουμένως για έναν συγκεκριμένο μικροοργανισμό σε συγκεκριμένα γαλακτοκομικά προϊόντα. Οι χρήστες έχουν προσωπικούς λογαριασμούς όπου μεταφορτώνονται τα μοντέλα τους και μπορούν στη συνέχεια να δοκιμάσουν νέες παραμέτρους.

- **Software:** *FDA-iRISK*
- **Δικτυακός τόπος:** <https://irisk.foodrisk.org>
- **Χαρακτηριστικά:** Το πρόγραμμα επιτρέπει την ιεράρχηση προτεραιοτήτων για την επικινδυνότητα των τροφίμων εφαρμόζοντας μοντέλα εκτίμησης κινδύνου (*risk*

assessment) για διαφορετικά παθογόνα και διαφορετικές προσομοιώσεις τροφίμων. Προτείνονται πρότυπα για μοντέλα εκτίμησης κινδύνου.

- **Software:** *FILTREX*
- **Δικτυακός τόπος:** <http://w3.jouy.inra.fr/unites/miaj/public/logiciels/filtrex/>
- **Χαρακτηριστικά:** Το FILTREX αξιολογεί με ακρίβεια τις παραμέτρους των πρωτογενών μοντέλων ανάπτυξης (*growth*) και αδρανοποίησης (*inactivation*) και παρέχει υποστήριξη/ δεδομένα για το βέλτιστο διαδοχικό σχεδιασμό πειραματικών δοκιμασιών (*challenge test*).

- **Software:** *FISHMAP*
- **Δικτυακός τόπος:** <http://www.azti.es/downloads/downloads/fishmap/#tab-description>
- **Χαρακτηριστικά:** Προσομοιώνει την ανάπτυξη 8 αλλοιογόνων ειδών σε προσομοίωση ψαριών, χρησιμοποιώντας ως παραμέτρους θερμοκρασία, αέρα και CO₂.

- **Software:** *Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP)*
- **Δικτυακός τόπος:** <http://fssp.food.dtu.dk>
- **Χαρακτηριστικά:** Προβλέπει την ανάπτυξη 3 παθογόνων, και 3 αλλοιογόνων μικροοργανισμών σε κρέας και προϊόντα θαλασσινών. Επίσης, 12 προσομοιώσεις περιβάλλοντος μπορούν να ενσωματωθούν στις προσομοιώσεις υπό δυναμικές συνθήκες. Διατίθεται σε 18 γλώσσες.

- **Software:** *GlnaFiT*
- **Δικτυακός τόπος:** <http://cit.kuleuven.be/biotec/downloads.php>
- **Χαρακτηριστικά:** Επιτρέπει την προσαρμογή δέκα μοντέλων αδρανοποίησης μικροοργανισμών σε πειραματικά δεδομένα και την επιλογή του καλύτερου μοντέλου

- **Software:** *GroPIN*
- **Δικτυακός τόπος:** www.aua.gr/psomas/gropin

- **Χαρακτηριστικά:** Προσομοιώνει τη συμπεριφορά 66 μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένων παθογόνων και ειδών αλλοίωσης σε διαφορετικές προσομοιώσεις τροφίμων (*food matrix*). Παρέχεται επίσης μια βάση δεδομένων προγνωστικών μοντέλων και μπορεί να εφαρμοστεί με νέα μοντέλα. Επίσης περιλαμβάνονται προσομοιώσεις Monte Carlo προκειμένου να λαμβάνεται υπόψη η παραλλακτικότητα (*variability*) διαφορετικών παραμέτρων.

- **Software:** *Listeria Meat Model*

- **Δικτυακός τόπος:** www.cpmf2.be

- **Χαρακτηριστικά:** Εμπορικό λογισμικό που προσομοιώνει την ανάπτυξη του παθογόνου στο κρέας και σε διάφορα προϊόντα κρέατος.

- **Software:** *MicroHibro*

- **Δικτυακός τόπος:** www.microhibro.com

- **Χαρακτηριστικά:** Αξιολογεί και επικυρώνει τις παραμέτρους ενός πρωτογενούς μοντέλου με βάση πειραματικά δεδομένα. Η εφαρμογή μοντέλων εκτίμησης κινδύνου, ακολουθούμενη από ανάλυση ευαισθησίας του μοντέλου, είναι επίσης δυνατή με βάση το συνδυασμό πολλών βασικών διαδικασιών και τη χρήση της βάσης δεδομένων των παρεχόμενων μοντέλων πρόβλεψης.

- **Software:** *MRV, Microbial Responses Viewe*

- **Δικτυακός τόπος:** <http://mrviewer.info/>

- **Χαρακτηριστικά:** Διεπαφή (*interface*) μοντέλων «Ανάπτυξης/ μη-Ανάπτυξης» (*growth/ no-growth*) που βασίζεται στη βάση δεδομένων ComBase. Παρέχει οπτικοποίηση ειδικών ρυθμών ανάπτυξης (*specific growth rates*).

- **Software:** *NIZO Premia*

- **Δικτυακός τόπος:** No Internet access

- **Χαρακτηριστικά:** Εμπορικό λογισμικό για την πρόβλεψη της συμπεριφοράς παθογόνων μικροοργανισμών και μικροοργανισμών, των οποίων τα χαρακτηριστικά παρέχονται από τον χρήστη ή ενσωματώνονται στο εργαλείο. Οι προβλέψεις αυτές

αφορούν κυρίως γαλακτοκομικά προϊόντα. Επίσης, και άλλα υποστρώματα είναι δυνατόν να αξιοποιηθούν εάν τα χαρακτηριστικά τους παρέχονται από τον χρήστη.

- **Software:** *PMM-Lab*
- **Δικτυακός τόπος:** <https://sourceforge.net/projects/pmmlab/>
- **Χαρακτηριστικά:** Το PMM-Lab είναι ένα συνεχώς εξελισσόμενο λογισμικό ανοιχτού κώδικα που προσομοιώνει τη συμπεριφορά παθογόνων και αλλοιογόνων μικροοργανισμών σε διαφορετικές προσομοιώσεις τροφίμων, υπό την προϋπόθεση ότι οι απαιτούμενες πληροφορίες δίνονται από τον χρήστη. Παρέχει ένα πρότυπο βάσης δεδομένων που βοηθά στη διαχείριση πειραματικών δεδομένων.

- **Software:** *Prediction of Microbial Safety in Meat Products*
- **Δικτυακός τόπος:** <http://dmripredict.dk>
- **Χαρακτηριστικά:** Το συγκεκριμένο λογισμικό προβλέπει και προσομοιώνει τη συμπεριφορά τεσσάρων παθογόνων ειδών σε προϊόντα κρέατος, βάσει βιβλιογραφίας καθώς και εσωτερικών προγνωστικών μοντέλων και πειραματικών δεδομένων.

- **Software:** *Sym'Previus*
- **Δικτυακός τόπος:** www.symprevius.org
- **Χαρακτηριστικά:** Εμπορικό λογισμικό που προσομοιώνει την ανάπτυξη και την αδρανοποίηση 6 παθογόνων και 13 αλλοιογόνων μικροοργανισμών σε διαφορετικές προσομοιώσεις τροφίμων (food matrix) τόσο σε στατικές όσο και σε δυναμικές συνθήκες. Οι προσδιοριστικές ή πιθανολογικές προσεγγίσεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν με βάση εσωτερικά πειραματικά δεδομένα ή δεδομένα χρηστών.

1.4 Γενικές πληροφορίες σχετικά με τα λογισμικά

Μεταξύ των 16 εφαρμογών, οι τέσσερις (25%) ήταν εμπορικά λογισμικά (*Dairy Products Safety Predictor, Listeria Meat Model, NIZO Premia* και *Sym'Previus*) ενώ οι υπόλοιπες δώδεκα (75%) ήταν δωρεάν λογισμικά.

Από τα δωρεάν λογισμικά τα μισά (6) ήταν με πρόσβαση στο διαδίκτυο (*Baseline, ComBase, FDA-iRISK, Microbial Response Viewer, MicroHibro, Prediction of*

Microbial Safety in Meat Products) ενώ τα υπόλοιπα έξι (6) ήταν εφικτό να εγκατασταθούν απ' ευθείας σε υπολογιστή (*FILTREX, FISHMAP, FSSP, GinaFit, GroPin* και *PMM-LAB*).

Το παλαιότερο αυτών ήταν το *NIZO Premia* το οποίο αναπτύχθηκε το μακρινό 1995, ενώ το 44% δημιουργήθηκε την διετία 2012 – 2013 (2012: 31%, 2013: 13%).

Τα περισσότερα από τα λογισμικά που παρουσιάστηκαν σχεδιάστηκαν για συγκεκριμένους χρήστες, συμπεριλαμβανομένων των υπεύθυνων επιχειρήσεων τροφίμων (*Food Business Operator – FBO*) – το 100% του λογισμικού, ερευνητών (81%), της κυβέρνησης (75%) και της ακαδημαϊκής κοινότητας (81%). Επίσης, ενώ μερικά από τα δωρεάν εργαλεία προσφέρουν τη δυνατότητα εφαρμογής οποιοδήποτε μοντέλου και κατά συνέπεια προορίζονται για προχωρημένους χρήστες (π.χ. *Baseline, PMM-LAB*), ορισμένα εργαλεία λογισμικού είναι πιο απλά, ειδικά σχεδιασμένα αποκλειστικά για FBOs όπως τα εμπορικά λογισμικά: *Dairy Product Safety Predictor, Listeria Meat Model, NIZO Premia, Sym'Previus*.

Από τον **Πίνακα 1** είναι φανερό ότι τα περισσότερα λογισμικά προτείνουν ντετερμινιστική προσέγγιση μοντελοποίησης για τις προβλέψεις τους, ενώ έξι από αυτά βασίζονται σε πιθανολογική προσέγγιση (*Dairy Product Safety Predictor, FDA-iRISK, FILTREX, GroPin, MicroHibro* και *Sym'Previus*) διότι λαμβάνουν υπόψη τη μεταβλητότητα (*variability*) που σχετίζεται με το υπόστρωμα, τους περιβαλλοντικού

Πίνακας 1: Γενικές πληροφορίες διαθέσιμων στην αγορά λογισμικών προγνωστικής μικροβιολογίας σχετικά με την προσβασιμότητά τους, το έτος ανάπτυξής τους, τους εν δυνάμει χρήστες τους και την επιστημονική βάση ανάπτυξής τους

ΛΟΓΙΣΜΙΚΟ	ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ	ΕΤΟΣ	ΧΡΗΣΤΕΣ	ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ
Baseline	Ανοιχτό, Διαδικτυακό	2012	Εταιρίες τροφίμων, Ερευνητές, Καθηγητές, Φοιτητές, Κυβερνητικοί Οργανισμοί	Deterministic
ComeBase	Ανοιχτό, Διαδικτυακό	2004	Εταιρίες τροφίμων, Ερευνητές, Καθηγητές, Φοιτητές, Κυβερνητικοί Οργανισμοί	Deterministic
Dairy Products Safety Predictor	Κλειστό, Διαδικτυακό	2012	Εταιρίες τροφίμων	Probabilistic

FDA-iRISK	Ανοιχτό, Διαδικτυακό	2012	Εταιρίες τροφίμων, Ερευνητές, Καθηγητές, Φοιτητές, Κυβερνητικοί Οργανισμοί	Probabilistic
FILTREX	Ανοιχτό, Διαδικτυακό	2013	Εταιρίες τροφίμων, Ερευνητές, Καθηγητές, Φοιτητές, Κυβερνητικοί Οργανισμοί	Probabilistic
FISHMAP	Ανοιχτό, Εγκατάσταση σε H/Y	2011	Εταιρίες τροφίμων, Ερευνητές, Καθηγητές, Φοιτητές, Κυβερνητικοί Οργανισμοί	Deterministic
Food Spoilage & Safety Predictor (FSSP)	Ανοιχτό, Εγκατάσταση σε H/Y	1999	Εταιρίες τροφίμων, Ερευνητές, Καθηγητές, Φοιτητές, Κυβερνητικοί Οργανισμοί	Deterministic
GInaFiT	Ανοιχτό, Εγκατάσταση σε H/Y	2003	Εταιρίες τροφίμων, Ερευνητές, Καθηγητές, Φοιτητές, Κυβερνητικοί Οργανισμοί	Deterministic
GroPIN	Ανοιχτό, Εγκατάσταση σε H/Y	2013	Εταιρίες τροφίμων, Ερευνητές, Καθηγητές, Φοιτητές, Κυβερνητικοί Οργανισμοί	Probabilistic Deterministic
Listeria Meat Model	Κλειστό, Εγκατάσταση σε H/Y	2012	Εταιρίες τροφίμων, Κυβερνητικοί Οργανισμοί	Deterministic
MicroHibro	Ανοιχτό, Διαδικτυακό	2011	Εταιρίες τροφίμων, Ερευνητές, Καθηγητές, Φοιτητές, Κυβερνητικοί Οργανισμοί	Probabilistic
Microbial Responses Viewer - MRV	Ανοιχτό, Διαδικτυακό	2008	Εταιρίες τροφίμων, Ερευνητές, Καθηγητές, Φοιτητές, Κυβερνητικοί Οργανισμοί	Deterministic
NIZO Premia	Κλειστό Εμπορικό	1995	Εταιρίες τροφίμων	Deterministic
PMM-Lab	Ανοιχτό, Διαδικτυακό	2012	Ερευνητές, Καθηγητές, Φοιτητές, Κυβερνητικοί Οργανισμοί	Deterministic

Prediction of Microbial Safety in Meat Products	Ανοιχτό, Διαδικτυακό	2006	Ερευνητές, Καθηγητές, Φοιτητές, Κυβερνητικοί Οργανισμοί	Deterministic
Sym'Previus	Κλειστό Εμπορικό Διαδικτυακό	2003	Εταιρίες τροφίμων, Ερευνητές, Καθηγητές, Φοιτητές, Κυβερνητικοί Οργανισμοί	Probabilistic Deterministic

1.5 Λειτουργικά υπο-προγράμματα στα λογισμικά

Στον **Πίνακα 2** παρουσιάζεται μια επισκόπηση των υπο-προγραμμάτων που περιλαμβάνονται σε κάθε ένα από τα λογισμικά, όπως βάσεις δεδομένων (*data bases*), προγνωστικά μοντέλα ανάπτυξης (*growth models*) και θανάτωσης (*inactivation models*), προσαρμογής της ανάπτυξης (*growth fitting*), προγνωστικά μοντέλα ανάπτυξης/ μη-ανάπτυξης (*growth/ no-growth models*) και εκτίμησης κινδύνου (*Risk assessment*). Ασφαλώς, κατά περίπτωση, παρουσιάζονται πρόσθετες ενότητες ή/και δυνατότητες.

1.5.1 Βάσεις Δεδομένων

Το 40% των λογισμικών περιλάμβαναν και βάσεις δεδομένων. Αυτές οι βάσεις δεδομένων περιέχουν δεδομένα που περιγράφουν τη συμπεριφορά πολλών μικροοργανισμών σε διαφορετικά υποστρώματα που προέρχονται είτε την επιστημονική βιβλιογραφία ή από διαθέσιμα πειραματικά δεδομένα από τον κατασκευαστή του λογισμικού. Σε ορισμένα δε λογισμικά οι βάσεις δεδομένων μπορεί να χρησιμοποιούνται απευθείας για την εξαγωγή δεδομένων και προσομοιώσεων (π.χ. ComBase, MicroHibro). Βάσεις δεδομένων προγνωστικών μοντέλων που προέρχονται από την επιστημονική βιβλιογραφία είναι και οι GinaFit και GroPIN ενώ κάποια άλλα προτείνουν νέα μοντέλα πρόβλεψης βασισμένα σε πειραματικά δεδομένα του χρήστη (π.χ. *Baseline, Listeria Meat Model, Prediction of Microbial Safety in Meat Products*).

Πίνακας 2: Υποπρογράμματα και επιμέρους χαρακτηριστικά λογισμικών προγνωστικής μικροβιολογίας

Software	Database browser	Growth/no growth predictor	Growth fitting tool	Inactivation fitting tool	Growth predictor	Inactivation predictor	Risk assessment module	Other module(s) and/or feature(s)
Baseline	-	-	-	-	x	x	-	<i>Πλάνο δειγματοληψιών</i>
Combase	x	-	x	x	x	x	-	-
Dairy Product Safety Predictor	-	-	-	-	<i>a</i>	<i>a</i>	x	-
FDA-iRISK	x	-	-	-	<i>b</i>	<i>b</i>	x	-
FILTREX	-	-	x	x	-	-	-	<i>Πειραματικός Σχεδιασμός</i>
FISHMAP	-	-	x	-	x	-	-	-
Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP)	-	x	-	-	x	-	-	- - Σύνθεση Ισταμίνης σε ιχθυηρά - Προγνωστικά μοντέλα του σχετικού ρυθμού αλλοίωσης για την πρόβλεψη της επίδρασης της θερμοκρασίας αποθήκευσης στη διάρκεια ζωής του προϊόντος
GInaFiT	-	-	-	x	-	-	-	-
GroPIN	-	x	-	-	x	x	-	<i>Βάση Δεδομένων για μοντέλα προγνωστικής μικροβιολογίας</i>

Listeria Meat Model	-	-	-	-	x	-	-	<i>Ανάλυση ευαισθησίας</i>
MicroHibro	X	x	c	c	x	x	x	<i>Ανάλυση ευαισθησίας</i>
Microbial Responses Viewer MRV	X	d	-	-	d	-	-	-
NIZO Premia	-	-	x	x	x	x	e	<i>Σχηματισμός biofilm</i>
PPM – Lab	X	x	x	x	x	x	-	<i>Ανοιχτό, δυνατότητα εισαγωγής νέων υποπρογραμμάτων</i>
Prediction of Microbial Safety in Meat Products	-	x	-	-	x	x	-	-
Sym'Previs	-	x	x	x	x	x	-	<i>Ανάλυση ευαισθησίας HACCP F-value</i>

1.5.2 Προγνωστικά μοντέλα «Ανάπτυξης/μη-ανάπτυξης»

Ορισμένα λογισμικά παρέχουν την ευκαιρία αξιολόγησης της πιθανότητας ανάπτυξης και αντίστροφα μη-ανάπτυξης παθογόνων ή αλλοιογόνων μικροοργανισμών σε συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες όπως pH, a_w , T. Η αξιολόγηση της ανάπτυξης συνήθως περιγράφεται από όρια ανάπτυξης (*growth boundaries*) συγκεκριμένων μικροοργανισμών υπό δεδομένες συνθήκες. Τα λογισμικά τα οποία εμπεριέχουν μοντέλα G/nG είναι τα FSSP, GroPin, Microbial Response Viewer, MicroHibro, PMMLab, Prediction of Microbial Safety in Meat Products and Sym'Previus. Τα μοντέλα αυτά βασίζονται και αρχικά αναπτύσσονται σε συνθετικά υποστρώματα (Augustin et al., 2005) και επικυρώνονται κατόπιν σε τρόφιμα (Sym'Previus, Augustin et al., 2007) ή βασίζονται σε μοντέλα που αναπτύσσονται απευθείας στα τρόφιμα (GroPin). Για παράδειγμα, στο λογισμικό MRV, ως "ανάπτυξη" ορίστηκε μόνο όταν η ανάπτυξη ήταν μεγαλύτερη του $1,0 \log \text{CFU/g}$. Επίσης, οι χρήστες του MRV μπορούν να επιλέξουν ένα από τα τρία βασικά μοντέλα που είναι διαθέσιμα για τον υπολογισμό του ρυθμού ανάπτυξης βακτηρίων: το πρώτο είναι ένα πολυωνυμικό μοντέλο που έχουν προτείνει οι Masana και Baranyi (2000) που προβλέπει του ειδικούς ρυθμούς ανάπτυξης βακτηρίων το οποίο εφαρμόζεται και στο λογισμικό ComBase. Το δεύτερο είναι ένα μοντέλο τετραγωνικής ρίζας για τον υπολογισμό του ρυθμού ανάπτυξης του βακτηρίου *Escherichia coli* σε διαφορετικούς συνδυασμούς θερμοκρασίας, ενεργότητας νερού, pH και της συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος (Ross et al., 2003). Το τρίτο μοντέλο, που ορίζεται ως προεπιλεγμένο μοντέλο στο MRV, υπολογίζει τους ειδικούς ρυθμούς ανάπτυξης ως συνάρτηση της θερμοκρασίας, του pH και του a_w χρησιμοποιώντας ένα μοντέλο *Poisson log-line-model*.

1.5.3 Μοντέλα Προσαρμογής

Όλα τα υποπρογράμματα (*modules*) προσαρμογής της ανάπτυξης (*growth fitting*) επιτρέπουν στο χρήστη να παράγει καμπύλες ανάπτυξης πρωταρχικών μοντέλων της βακτηριακής κινητικής υπό στατικές συνθήκες (*static conditions*). Συχνά τα μοντέλα περιλαμβάνουν και στατιστικές παραμέτρους όπως το τυπικό σφάλμα ή τα διαστήματα εμπιστοσύνης των παραμέτρων του μοντέλου καθώς και στατιστικούς δείκτες που σχετίζονται με την ποιότητα προσαρμογής ενός επιλεγμένου μοντέλου

σε πειραματικά δεδομένα, όπως άθροισμα του τετραγωνικού σφάλματος, R^2 , Akaike Information Criterion (AIC) ή Bayesian Information Criterion (BIC). Τα περισσότερα λογισμικά επιτρέπουν μια σύγκριση γραφικών παραστάσεων των πειραματικών μικροβιολογικών δεδομένων με τις αντίστοιχες καμπύλες προσαρμογής (*fitting*) της ανάπτυξης ή αδρανοποίησης (ComBase, FISHMAP, GinaFit, Sym'Previus). Όσον αφορά τις καμπύλες ανάπτυξης των μοντέλων (*fitting curves*), στα πρωτογενή μοντέλα δίδονται μεταξύ άλλων και οι ακόλουθοι παράμετροι: χρόνος της φάσης υστέρησης, μέγιστος ειδικός ρυθμός ανάπτυξης, κ.α.

Επιπρόσθετα, χρησιμοποιώντας το υποπρόγραμμα DMFit του λογισμικού ComBase, ο χρήστης μπορεί να ανεβάσει πειραματικά δεδομένα και να επιλέξει το κατάλληλο μοντέλο προσαρμογής ανάλογα με την καμπύλη ανάπτυξης. Το πλήρες μοντέλο των Baranyi και Roberts (1994) με ή χωρίς υστέρηση μπορεί να χρησιμοποιηθεί ενώ εναλλακτικά είναι διαθέσιμα και άλλα μοντέλα όπως το Διφασικό (χωρίς υστέρηση) ή το απλό γραμμικό μοντέλο (Buchanan et al., 1997).

Από την άλλη πλευρά, μόνο λίγα λογισμικά παρέχουν αξιολόγηση παραμέτρων από δευτερογενή (*secondary*) προγνωστικά μοντέλα ανάπτυξης. Βασισμένο σε μια προσαρμοσμένη έκδοση του μοντέλου Mejlholm et al. (2010) που εισάγει έναν νέο όρο στη μοντελοποίηση – αυτό της επίδρασης του οξυγόνου – το FISHMAP καθιστά δυνατή τη μοντελοποίηση της συνάρτησης του μέγιστου ειδικού ρυθμού ανάπτυξης, της θερμοκρασίας και του CO_2 . Επίσης, το Sym'Previus μπορεί να αξιοποιήσει ακέραιες τιμές για pH, θερμοκρασία, και a_w χρησιμοποιώντας τους ρυθμούς ανάπτυξης που λαμβάνονται για διαφορετικές πειραματικές συνθήκες σε συνθετικό υπόστρωμα με βάση το μοντέλο που περιγράφεται στο Augustin et al. (2005). Επίσης το ίδιο πρόγραμμα μπορεί, αξιοποιώντας, πειραματικά δεδομένα που ελήφθησαν για συγκεκριμένες παραμέτρους, να αξιολογήσει το βέλτιστο ρυθμό ανάπτυξης ενός μικροοργανισμού σε μια συγκεκριμένη εξομοίωση τροφίμου (*food matrix*) με βάση τιμές που είτε προέρχονται από το χρήστη ή προτείνονται από το λογισμικό.

Σε αρκετά από τα διαθέσιμα προγράμματα υπάρχουν εργαλεία/ υποπρογράμματα (*modules*) της προσαρμογής της κινητικής θανάτωσης/ αδρανοποίησης των μικροοργανισμών (*inactivation fitting tools*). Τέτοιου είδους εργαλεία προτείνονται από την ComBase (μέσω του DMFit), καθώς και από τα:

FILTREX, GinaFit, NIZO Premia και Sym'Previus. Είναι επίσης δυνατή η χρήση του PMM-Lab, αλλά το μοντέλο πρέπει να παρέχεται από τον χρήστη.

Αρκετά πρωτογενή μοντέλα απενεργοποίησης/ θανάτωσης μπορούν να παραχθούν χρησιμοποιώντας το λογισμικό GinaFit για να εκτιμηθούν οι παράμετροι της κινητικής θανάτωσης από συγκεκριμένα πειραματικά δεδομένα που δίνονται από το χρήστη. Στις παραμέτρους αυτές πέρα των κλασικών μη-γραμμικές καμπύλων θανάτωσης, με ή χωρίς τις λεγόμενες φάσεις «shoulder» ή και «tail». Ανάλογα με το σχήμα της καμπύλης, το συγκεκριμένο λογισμικό μπορεί να παρέχει εκτιμήσεις των τιμών D. Τέλος, το ίδιο λογισμικό καθιστά δυνατό τον υπολογισμό του χρόνου που απαιτείται για να επιτευχθούν οι επιθυμητές δεκαδικές μειώσεις (*decimal reduction*) και επίσης να αξιολογηθεί η απόδοση των διαδικασιών θερμικής επεξεργασίας των τροφίμων.

Το NIZO Premia επίσης, παρέχει τη δυνατότητα προσαρμογής (*fitting*) των δεδομένων απενεργοποίησης/ θανάτωσης που παρέχονται από τον χρήστη για την αξιολόγηση της επίδρασης της θερμικής επεξεργασίας επί του πληθυσμού.

Το Sym'Previus παρέχει ένα υποπρόγραμμα όπου ο χρήστης μπορεί να ανεβάσει τα πειραματικά δεδομένα του, να επιλέξει το μοντέλο (γραμμικό ή μη γραμμικό), να θέσει την θερμοκρασία το pH και το a_w πριν και μετά την επεξεργασία να λάβει την εκτίμηση. Μια άλλη επιλογή επιτρέπει τη βελτιστοποίηση μιας θερμικής επεξεργασίας: ο χρήστης εισάγει τις μεταβολές της θερμοκρασίας κατά την θερμική επεξεργασία καθώς και ορισμένες παραμέτρους αυτής όπως αρχική τιμή της θερμοκρασίας και η διάρκειά της. Χρησιμοποιώντας τις παραμέτρους της Ball της θερμοβακτηριολογίας είναι δυνατόν να υπολογιστούν η κινητική και οι παράμετροι της θερμικής επεξεργασίας μεταξύ αυτών και της τιμής F-Value.

1.5.4 Μοντέλα πρόγνωσης της ανάπτυξης

Δώδεκα από τα λογισμικά περιλάμβαναν υποπρόγραμμα πρόγνωσης της ανάπτυξης (*growth predictor*). Οι κυριότεροι περιβαλλοντικοί παράγοντες που λαμβάνονται υπόψη στο υποπρόγραμμα είναι: θερμοκρασία; pH, a_w , γαλακτικό οξύ, συντηρητικά, CO₂. Μάλιστα το FSSP προτείνει έως και 12 διαφορετικές παραμέτρους λαμβάνοντας ταυτόχρονα υπόψη συγκεκριμένους περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η ένταση κάπνισης, νιτρικά, καθώς και αρκετά οργανικά οξέα.

Το GroPin λαμβάνει υπόψη 23 περιβαλλοντικές παραμέτρους που μπορούν να ληφθούν υπόψη στο μοντέλο ανάλογα με τον μικροοργανισμό και το υπόστρωμα ενώ μόνο στο FSSP υπάρχει και η παράμετρος μικροβιακής αλληλεπίδρασης ως περιοριστικό παράγοντα ανάπτυξης. Η πρόβλεψη της ανάπτυξης μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε σε δυναμικές είτε σε στατικές περιβαλλοντικές συνθήκες. Ενώ ορισμένα εργαλεία λογισμικού περιλαμβάνουν ειδικές κατηγορίες τροφίμων (Dairy Products Safety Predictor, FISHMAP, Listeria Meat Model), άλλα λογισμικά διακρίνονται από την δυνατότητα να περιλαμβάνουν μεγαλύτερη ποικιλία τροφίμων, περιλαμβανομένων θαλασσινών, προϊόντα αυγών, γαλακτοκομικά προϊόντα, προϊόντα κρέατος και λαχανικά.

Ενώ πολλά εργαλεία λογισμικού μπορούν να χρησιμοποιηθούν για παθογόνους παράγοντες και αλλοιογόνους, το FISHMAP σχεδιάστηκε ειδικά για αλλοιογόνους. Ο αριθμός δε, των μικροοργανισμών (παθογόνοι ή/και αλλοιογόνοι) που εξετάζει κάθε εργαλείο λογισμικού μπορεί να διαφέρει από 1 έως ακόμα και 60 (GroPin). Επιπλέον, ορισμένα λογισμικά (π.χ το ComBase) καθιστούν δυνατή την πρόβλεψη της ανάπτυξης οποιουδήποτε από τους μικροοργανισμούς που υπάρχουν στη βάση δεδομένων, ενώ άλλοι όπως το FSSP, το PMM-Lab ή το Sym'Previus επιτρέπουν στους χρήστες τους να επιτύχουν προβλέψεις ανάπτυξης με οποιονδήποτε μικροοργανισμό ενδιαφέροντος, υπό την προϋπόθεση ότι οι παράμετροι ανάπτυξης (π.χ. T_{min}) είναι γνωστές ή περιλαμβάνονται σε αυτές αντίστοιχες βάσεις δεδομένων.

1.5.5 Μοντέλα πρόγνωσης θανάτωσης/ αδρανοποίησης

Μοντέλα Πρόγνωσης του ρυθμού θανάτωσης/ αδρανοποίησης διαθέτουν πολλά λογισμικά όπως τα Baseline, ComBase, Dairy Product Safety Predictor, GroPin, MicroHibro, NIZO Premia, PMM-Lab, Prediction of Microbial safety in meat products, Sym'Previus, όπου σε όλα ως αίτιο θανάτωσης είναι η θερμική επεξεργασία.

Υπάρχουν όπως και λογισμικά όπου η θανάτωση/ αδρανοποίηση βασίζεται σε μη θερμικές επεξεργασίες όπως pH, aw, NaCl ή το νιτρώδες νάτριο. Οι μικροοργανισμοί που εξετάζονται είναι ως επί το πλείστον παθογόνοι παράγοντες και η ποικιλία των παραγόντων που λαμβάνονται υπόψη για την κινητική της θανάτωσης δεν είναι τόσο ευρεία όσο για τα μοντέλα ανάπτυξης.

1.5.6 Εκτίμηση Επικινδυνότητας

Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι προγνωστικοί παράγοντες (*growth predictors*) ανάπτυξης και αδρανοποίησης (*inactivation predictors*), που ουσιαστικά ποσοτικοποιούν την αύξηση και τη μείωση του μικροβιολογικού πληθυσμού, αντίστοιχα, ενσωματώνονται ως μέρος ενός μοντέλου εκτίμησης έκθεσης στον Κίνδυνο (*Risk Assessment*) που περιγράφει μια συγκεκριμένη διαδικασία ξεκινώντας από την πρώτη ύλη και τελειώνει στο τελικό προϊόν. Σε αυτήν την περίπτωση, η διαδικασία προσεγγίζεται μέσω διαδοχικών σταδίων όπως π.χ. ανάπτυξη, αδρανοποίηση, καταμερισμό αλλά και προσθήκη και αναδιανομή. Τρία εργαλεία λογισμικού περιλαμβάνουν υποπρόγραμμα Εκτίμησης Επικινδυνότητας (*Risk assessment*) - Dairy Product Safety Predictor, FDA-iRISK, MicroHibro, με διαφορετικές ωστόσο στρατηγικές σχετικές με την ενσωμάτωση των προβλέψεων ανάπτυξης και απενεργοποίησης.

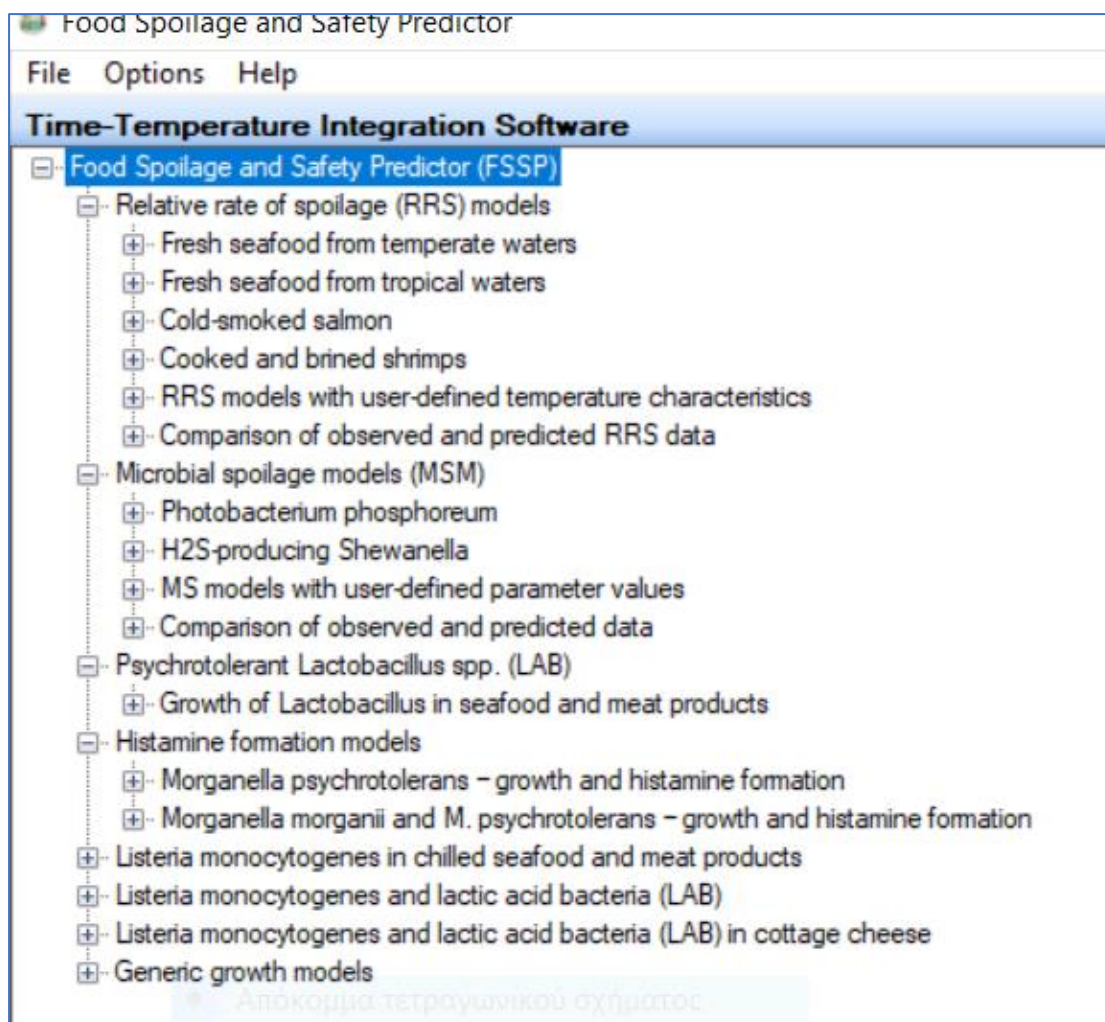
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 Ενδεικτικές Εφαρμογές σε Λογισμικά προγνωστικής μικροβιολογίας

2. Food Spoilage and Safety Predictor και ComBase

Δύο από τα περισσότερα χρησιμοποιούμενα ελεύθερης Πρόσβασης λογισμικά στο Διαδίκτυο είναι το Food Spoilage and Safety Predictor – FSSP και η Βάση Δεδομένων ComeBase.

2.1 Food Spoilage and Safety Predictor

Πρόκειται για λογισμικό το οποίο ελεύθερα εγκαθίσταται σε υπολογιστή και είναι διαθέσιμο προς χρήση. Η πρώτη εικόνα που εμφανίζεται είναι η ακόλουθη στην οποία υπάρχουν τα βασικά προγράμματα και ακολούθως υποπρογράμματα.



Εικόνα 1: Εναρκτήριο παράθυρο πρόσβασης στο πρόγραμμα FSSP

Ανάλογα με το ζήτημα που διαπραγματευόμαστε επιλέγουμε το Πρόγραμμα που μας ενδιαφέρει.

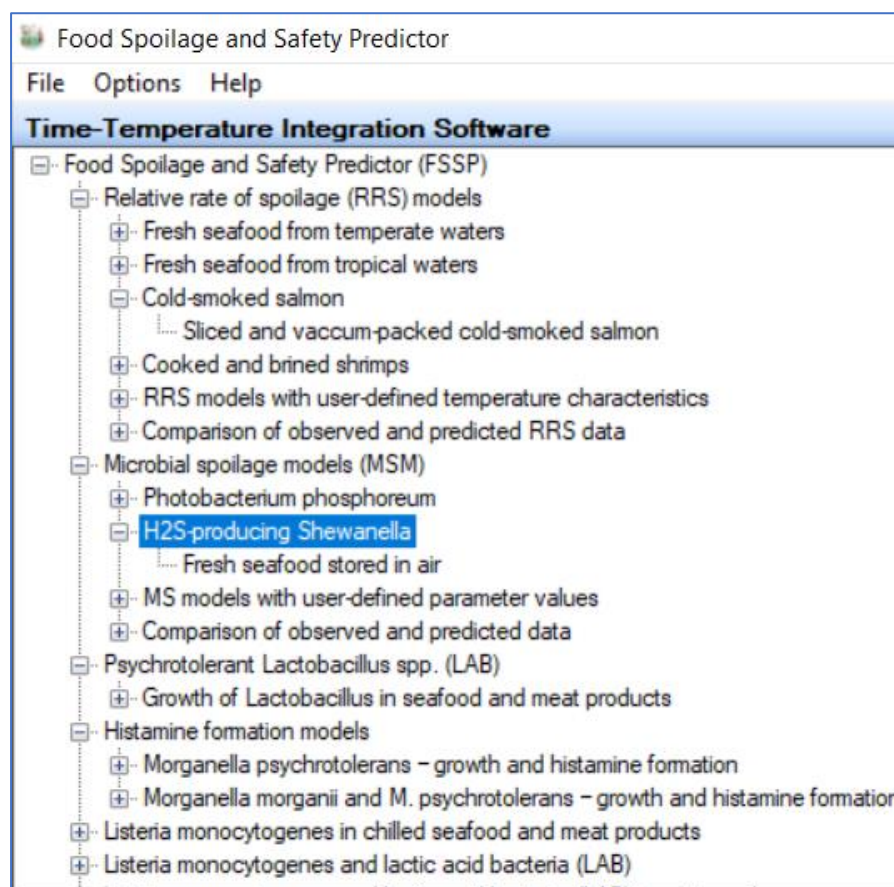
2.2 Εκτίμηση διάρκειας ζωής ιχθυωδών συντηρούμενων στον αέρα

Μας ενδιαφέρει να εκτιμήσουμε την διάρκεια ζωής ιχθυωδών σε ψυγείο. Στην περίπτωση αυτή επιλέγουμε τα ακόλουθα:

Microbial spoilage models (MSM)

H₂S – producing *Shewanella*

Fresh seafood stored in air



Εικόνα 2: Εικόνα επιλογής υπο-προγράμματος *H₂S – producing Shewanella*

Επιλέγοντας και πατώντας το υποπρόγραμμα «*Fresh seafood stored in air*» εμφανίζεται η ακόλουθη εικόνα (Εικόνα 3). Έστω ότι από την εμπειρία μας ή από μικροβιολογικά δεδομένα γνωρίζουμε ότι το αρχικό μικροβιακό φορτίο είναι 1000 cfu/g και η προβλεπόμενη θερμοκρασία είναι 0°C (πάγος). Τότε εμφανίζεται στην

οθόνη το εικονίδιο της **Εικόνας 3** όπου και συμπληρώνουμε το μικροβιακό φορτίο (*Initial cell density, cfu/g*) και την θερμοκρασία συντήρησης *Temperature (°C)*.

The screenshot shows the 'MS model: Fresh seafood stored in air' window. Under 'Product characteristics', the 'Initial cell density (cfu/g)' field is empty, and the 'Temperature (°C)' field contains '0'. Other fields for 'Shelf-life (days)' and 'Growth rate (μmax, 1/h)' are also empty. There are 'Apply' and 'Clear' buttons. Below, the 'Shelf-life prediction for:' section has 'Series of constant temperatures' selected, and 'Remaining shelf-life (hours)' is set to '0' with a 'Storage time (hours)' of '24'.

Εικόνα 3: Εικονίδιο συμπλήρωσης των δεδομένων *Initial cell density (cfu/g)* και *Temperature (°C)*.

29

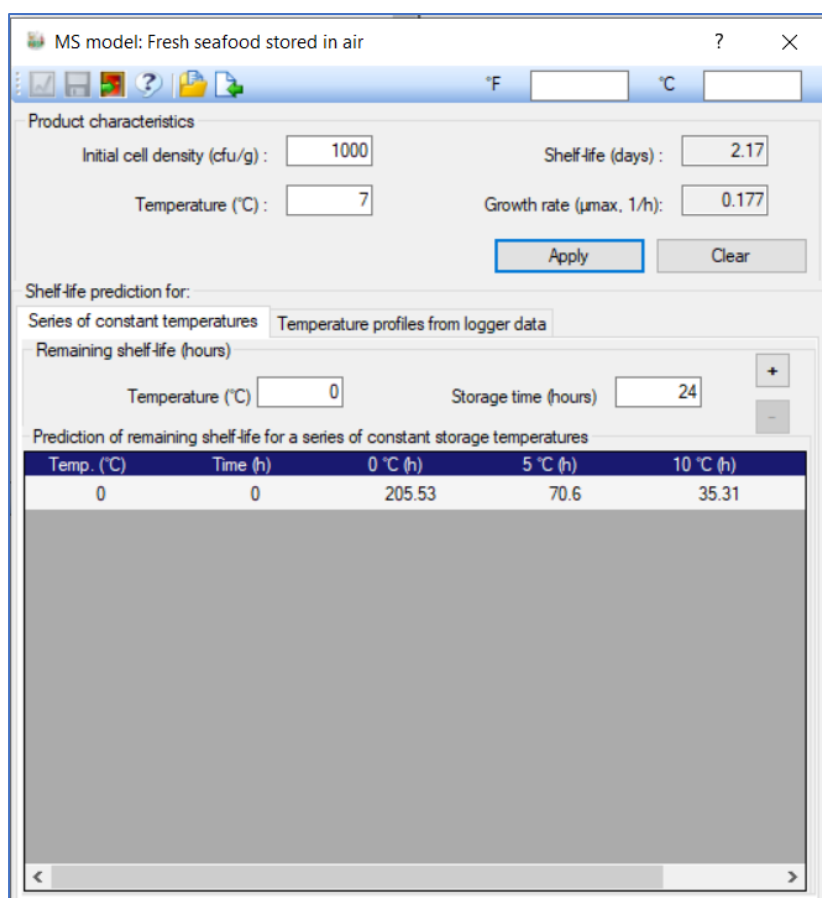
The screenshot shows the same software window after calculation. The 'Initial cell density (cfu/g)' is now '1000', 'Shelf-life (days)' is '8.56', and 'Growth rate (μmax, 1/h)' is '0.045'. The 'Apply' button is highlighted. The 'Prediction of remaining shelf-life for a series of constant storage temperatures' table is displayed below.

Temp. (°C)	Time (h)	0 °C (h)	5 °C (h)	10 °C (h)
0	0	205.53	70.6	35.31

Εικόνα 4: Εικονίδιο εμφάνισης αποτελεσμάτων *Shelf – life (days)*

Κατόπιν επιλέγουμε το “Apply” και εμφανίζεται το εικονίδιο της **Εικόνας 4**, στο οποίο δίνονται οι υπολογισμένες με βάση το μοντέλο ημέρες διάρκειας ζωής. Στην συγκεκριμένη περίπτωση είναι τα αποτελέσματα είναι: διάρκεια ζωής **8,56** ημέρες σε θερμοκρασία 0°C.

Μια άλλη περίπτωση είναι να διατηρήσουμε σταθερό το μικροβιακό φορτίο αλλά αυτή τη φορά η θερμοκρασία συντήρησης είναι 7°C. Και πάλι επιλέγουμε το «Apply» και η διάρκεια ζωής ιχθυωδών συντηρούμενων σε 7°C είναι **2.17** ημέρες (**Εικόνα 5**)



Εικόνα 5: Εικονίδιο εμφάνισης αποτελεσμάτων Shelf – life (days)

Είναι σαφές ότι ο παραπάνω υπό-πρόγραμμα δίνει μια γενική εικόνα της διάρκειας ζωής ενός συγκεκριμένου προϊόντος. Ίσως να μην είναι η πιο ακριβής πρόβλεψη αλλά οπωσδήποτε δίνει μια καλή γενική εικόνα.

2.3 Εξέλιξη πληθυσμού *Lactobacillus* spp. σε ιχθυώδες με και χωρίς κάπνιση σε θερμοκρασίες ψύξης.

Έστω ότι μια επιχείρηση ενδιαφέρεται να εκτιμήσει τη διάρκεια ζωής π.χ. καπνιστού σολομού ή μη σολομού υπό συνθήκες ψύξης.

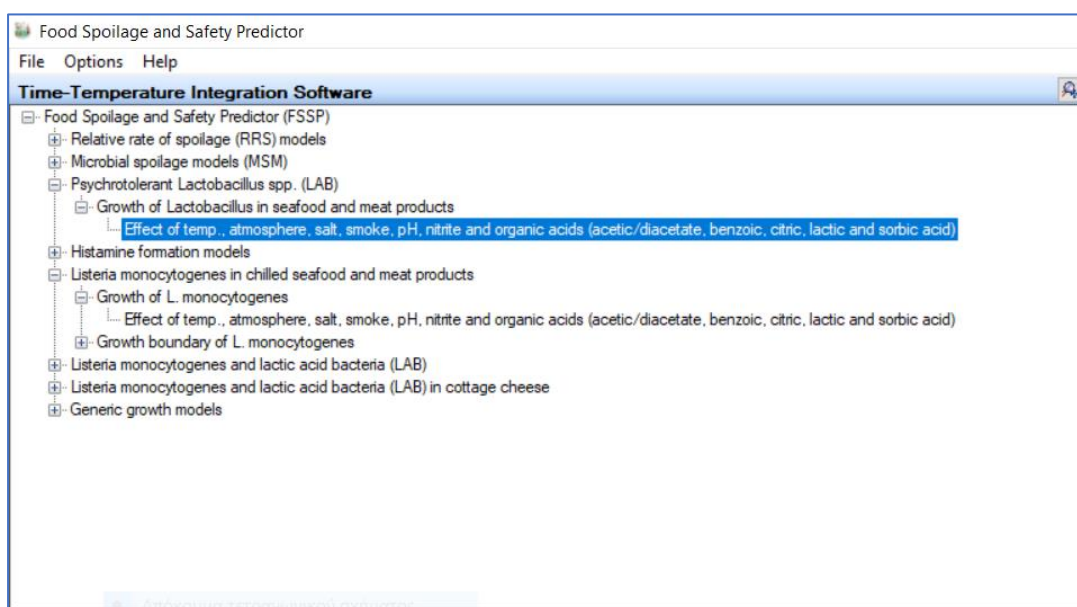
Στην περίπτωση αυτή επιλέγουμε τα ακόλουθα (Εικόνα 6)

- Microbial spoilage models (MSM)

Psychrotolerant *Lactobacillus* spp. (LAB)

Growth of *Lactobacillus* in seafood and meat products

Effect of temp. atm., salt, smoke, and organic acids



Εικόνα 6: Εικόνα επιλογής υποπρογράμματος «*Effect of temp. atm., salt, smoke,*»

Κατόπιν πατώντας επί του υπο-προγράμματος προκύπτει η Εικόνα 7 στην οθόνη:

Στο συγκεκριμένο «παράθυρο» υπάρχει η δυνατότητα συμπλήρωσης δεδομένων για σύγκριση δυο διαφορετικών προϊόντων. Έστω λοιπόν ότι μία επιχείρηση έχει νωπό σολομό να αναρωτιέται εάν η κάπνιση αυξάνει σημαντικά ή όχι την διάρκεια ζωής.

Το αρχικό μικροβιακό φορτίο και στα δυο δείγματα σε *Lactobacillus* είναι:

- 1000 cfu/g,
- θερμοκρασία είναι 4°C,
- NaCl 2%,
- pH 6.0

Psychrotolerant *Lactobacillus* spp. (LAB) growth model

Product characteristics

	Product 1	Product 2
LAB initial cell level (cfu/g)	1	1
Temperature (°C)	5.0	5.0
NaCl in water phase %	4.0	4.0
pH	6.2	6.2
Smoke components - phenol (ppm)	10	10
% CO2 in headspace gas at equilibrium	0	0
Nitrite, mg/kg	0	0
Storage period (d)	40	

Organic acids in water phase of product

	Product 1	Product 2
Acetic acid (ppm)	0	0
Benzoic acid (ppm)	0	0
Citric acid (ppm)	0	0
Diacetate (ppm)	0	0
Lactic acid (ppm)	0	0
Sorbic acid (ppm)	0	0

Apply Clear

Constant temperature Series of constant temperatures Temperature profiles from logger data

Growth rate, lag time and growth boundary parameter (psi)

	μ_{max} (1/h)	lag time (d)	Psi (Ψ)
Product 1			
Product 2			

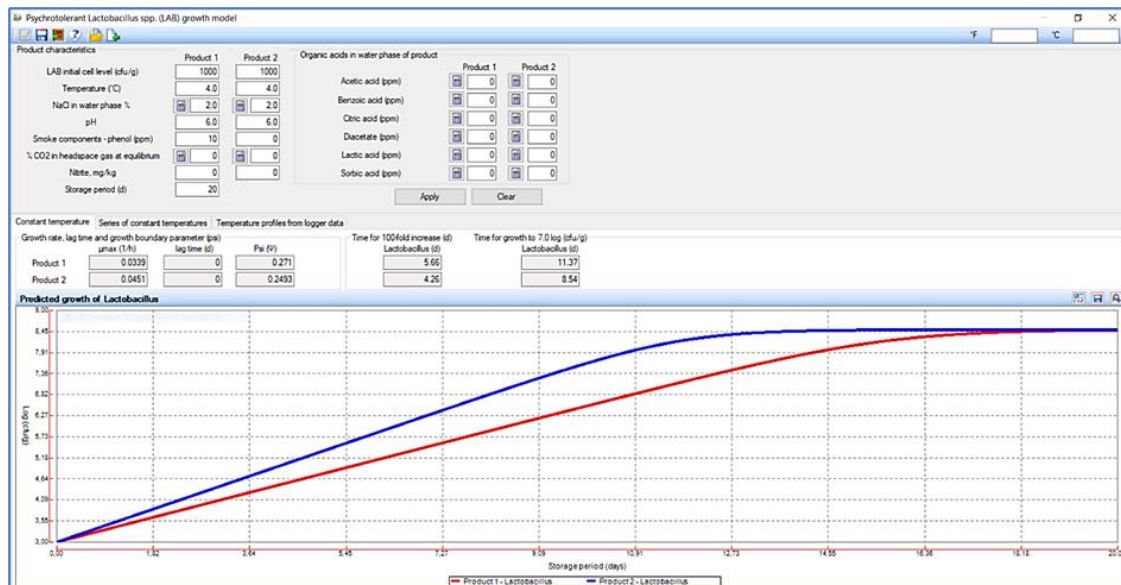
Time for 100-fold increase (d) Time for growth to 7.0 log (cfu/g)

	Lactobacillus (d)	Lactobacillus (d)
Product 1		
Product 2		

Εικόνα 7: Εικόνα συμπλήρωσης δεδομένων του υποπρογράμματος «*Effect of temp. atm., salt, smoke,*»

Αυθαίρετα ορίσαμε ως 15 ημέρες τη διερεύνηση της διάρκειας ζωής και για τα δύο υπό μελέτη τρόφιμα. Το 1^ο – μπλε γραμμή – είχε υποστεί καπνισμό (smoke components – phenols 10 ppm) ενώ το 2^ο δεν είχε υποστεί καπνισμό – κόκκινη γραμμή.

32



Εικόνα 8: Πρόβλεψη εξέλιξης πληθυσμού *Lactobacillus* spp., σε ιχθυώδες στους 4°C με και χωρίς κάπνιση με μπλε και κόκκινη γραμμή, αντίστοιχα.

Από την εικόνα του μοντέλου είναι σαφές ότι η κάπνιση περιορίζει χωρίς να εξαλείφει την ανάπτυξη του πληθυσμού *Lactobacillus* spp., ο οποίος μπορεί να θεωρηθεί και αλλοιογόνος.

2.4 Εξέλιξη πληθυσμών *Lactobacillus* spp. και *Listeria monocytogenes* σε μαλακό τυρί.

Έστω ότι μία εταιρία παράγει και διακινεί μαλακά τυριά όπως π.χ. ανθότυρο. Στο πρόγραμμα FSSP υπάρχει υποπρόγραμμα για τυρί τύπου *cottage* το οποίο είναι ένα μαλακό τυρί που προσομοιάζει με Ελληνικά τυριά άλμης.

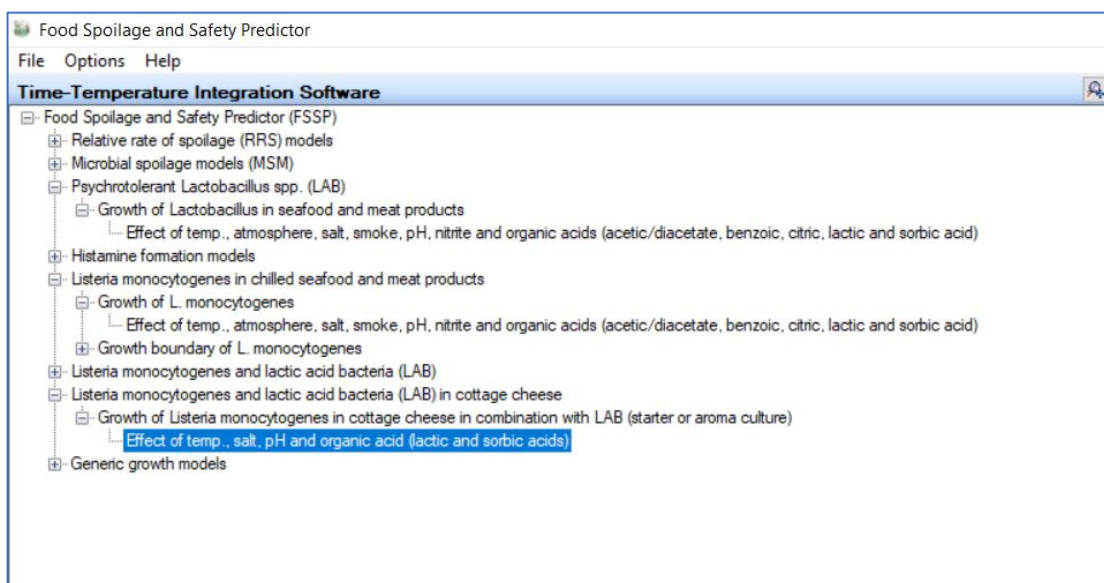
Στην **Εικόνα 8** δίδεται και πάλι ο «καταρράκτης» των υποπρογραμμάτων της συγκεκριμένης ενότητας.

Το βασικό Πρόγραμμα είναι:

“Listeria monocytogenes and lactic acid bacteria (LAB) in cottage cheese.

“Listeria monocytogenes in cottage cheese in combination with LAB (Starter or aroma culture)”

Effect of temp. salt, pH, and organic acid (lactic and sorbic acids)



Εικόνα 8: Εικόνα επιλογής υποπρογράμματος «*Effect of temp. salt, pH, and organic acid (lactic and sorbic acids)*».

Το επόμενο «παράθυρο» που εμφανίζεται στην οθόνη του υπολογιστή είναι αυτό που φαίνεται στην **Εικόνα 9**.

Εικόνα 9: Εικόνα συμπλήρωσης δεδομένων του υποπρογράμματος «*Effect of temp. salt, pH, and organic acid (lactic and sorbic acids)*».

Στο συγκεκριμένο «παράθυρο» υπάρχει η δυνατότητα συμπλήρωσης δεδομένων για σύγκριση δυο διαφορετικών προϊόντων. Έστω λοιπόν ότι μία επιχείρηση έχει ανθότυπο με δύο διαφορετικούς πληθυσμούς του ψυχρότροφου παθογόνου *Listeria monocytogenes*,

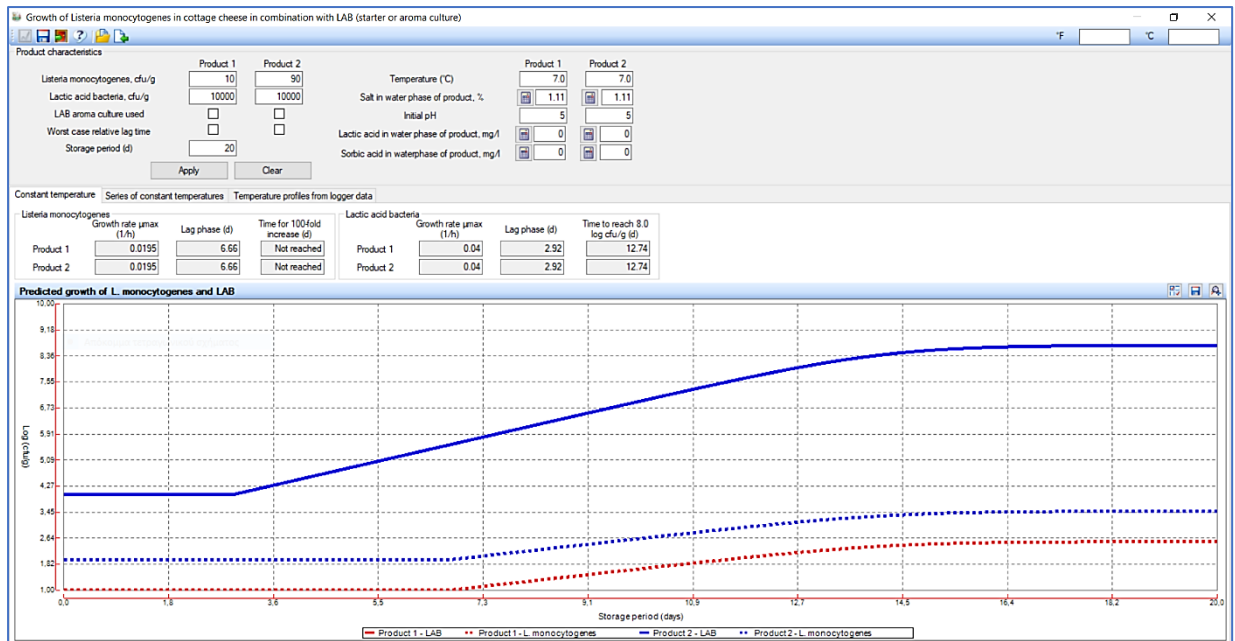
Προϊόν Α: 10 cfu/g – κόκκινη γραμμή

Προϊόν Β: 90 cfu/g – μπλε γραμμή

Το αρχικό μικροβιακό φορτίο και στα δυο δείγματα σε *Lactobacillus* είναι υψηλό: 10.000 cfu/g. ,

- θερμοκρασία είναι 7°C,
- NaCl 1.1.%,
- pH 5.0,

Ενδεικτικά επιλέξαμε ως 20 ημέρες τη διερεύνηση της διάρκειας ζωής και για τα δύο υπό μελέτη τρόφιμα.

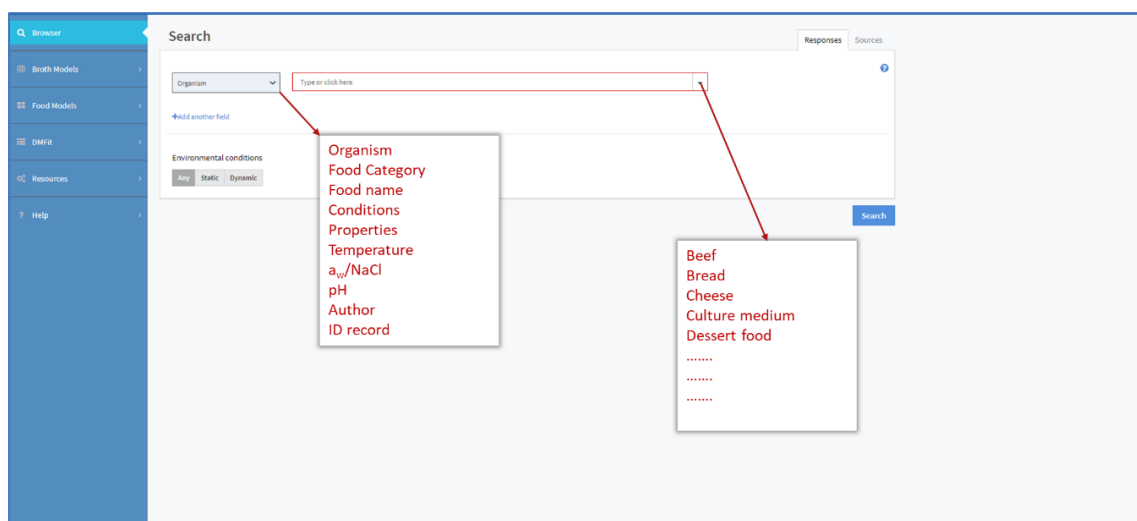


Εικόνα 10: Πρόβλεψη εξέλιξης πληθυσμού στο ίδιο τρόφιμο, στους 7°C *Lactobacillus* spp σε πληθυσμό 10^5 cfu/g και *Listeria monocytogenes* σε δυο διαφορετικούς πληθυσμούς, 10 cfu/g (κόκκινη γραμμή) και 90 cfu/g (μπλε γραμμή).

Στο Διάγραμμα της **Εικόνας 10** εμφανίζονται τρεις καμπύλες. Η μπλε πλήρης καμπύλη είναι ταυτόσημη για τα Lab βακτήρια και για τα δύο δείγματα τυριού. Οι διακεκομμένες γραμμές είναι η εξέλιξη του πληθυσμού *L. monocytogenes* στα δυο διαφορετικά μικροβιακά φορτία ο οποίος παρέμεινε σταθερός και στα δύο δείγματα για περίπου μία εβδομάδα και σε καμιά περίπτωση δεν επηρεάστηκε ο ρυθμός ανάπτυξης του πληθυσμού από το υψηλό μικροβιακό φορτίο των LAB. Αντίθετα από την 7^η έως και τη 14^η ημέρα υπήρχε μια ήπια αλλά σταθερή ανάπτυξη του πληθυσμού της *L. monocytogenes*. Αυτό που αξίζει να σημειωθεί είναι ότι μέχρι και την 9^η ημέρα ο πληθυσμός της *L. monocytogenes* ήτα χαμηλότερα από το όριο που απαιτεί η Νομοθεσία (99 cfu/g). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι το παραπάνω παράδειγμα είναι απλά βοηθητικό των πειραματισμών και σε καμιά περίπτωση δεν υποκαθιστά τα πραγματικά πειράματα που πρέπει να γίνουν στο τελικό προϊόν.

2.5 ComeBase - Βάση Δεδομένων με λογισμικό πρόγνωσης

Ίσως πρόκειται για το καλύτερο και διαρκώς εξελισσόμενο ανοιχτό – χωρίς χρέωση – λογισμικό προγνωστικής μικροβιολογίας. Βάση δεδομένων με περισσότερα από 50.000 αρχεία για να περιγράψει την εξέλιξη (ανάπτυξη και αδρανοποίηση) πολλών μικροοργανισμών σε μέσα καλλιέργειας ή σε διαφορετικά τρόφιμα. Η πρώτη σελίδα της ComeBase είναι η ακόλουθη (**Εικόνα 11**)



Εικόνα 11: Εναρκτήρια σελίδα της ComBase

36

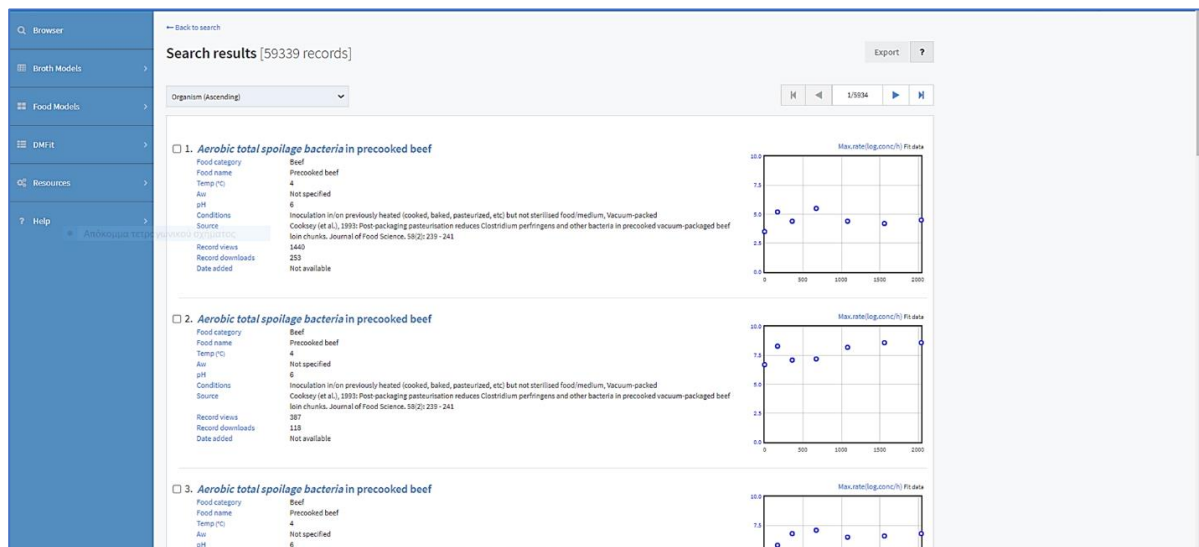
Όπως φαίνεται στην **Εικόνα 11** υπάρχει μια σειρά επιλογών ορισμένες από τις οποίες λειτουργούν συνδυαστικά

- Browser (Αναζήτηση)
- Μοντέλα σε υγρά συνθετικά υποστρώματα
- Μοντέλα προσαρμογής (Data Model Fitting – DMFit)
- Επιλογή Μικροοργανισμών (Organism)
- Είδος τροφίμου
- Όνομα τροφίμου
-
-

Ορισμένες από αυτές λειτουργούν είτε αυτοτελώς είτε συνδυαστικά.

Στις επόμενες παραγράφους θα αναλυθούν ορισμένες από τις παραπάνω επιλογές.

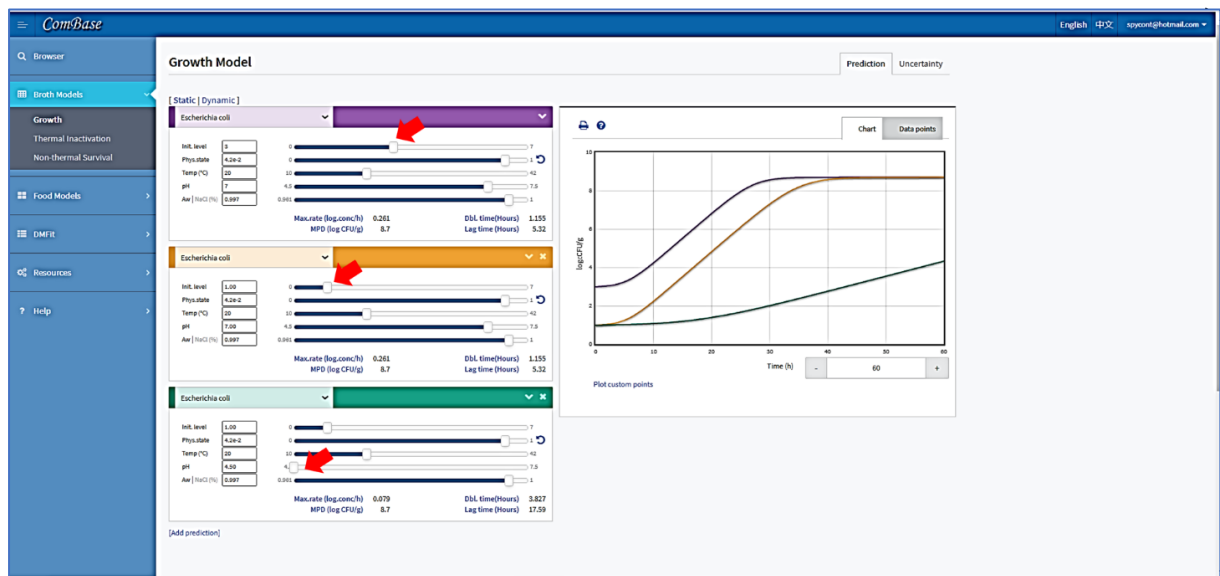
2.5.1α «Αναζήτηση» - Browser



Εικόνα 10: Παράθυρο επιλογής «Browser»

Αν επιλεγθεί η λέξη «Αναζήτηση/ Περιήγηση» (browser) είναι σαφές ότι την τρέχουσα στιγμή υπάρχουν 59.339 αρχεία προς αξιοποίηση.

2.5.1β Broth models – Growth



Εικόνα 11: Παράθυρο επιλογής «Broth Models – Growth»

Πρόκειται για μοντέλα ανάπτυξης υπό τέσσερις διαφορετικές παραμέτρους για μικροοργανισμούς κατόπιν επιλογής (π.χ. *Escherichia coli*). Οι παράμετροι επιλογής είναι οι ακόλουθοι:

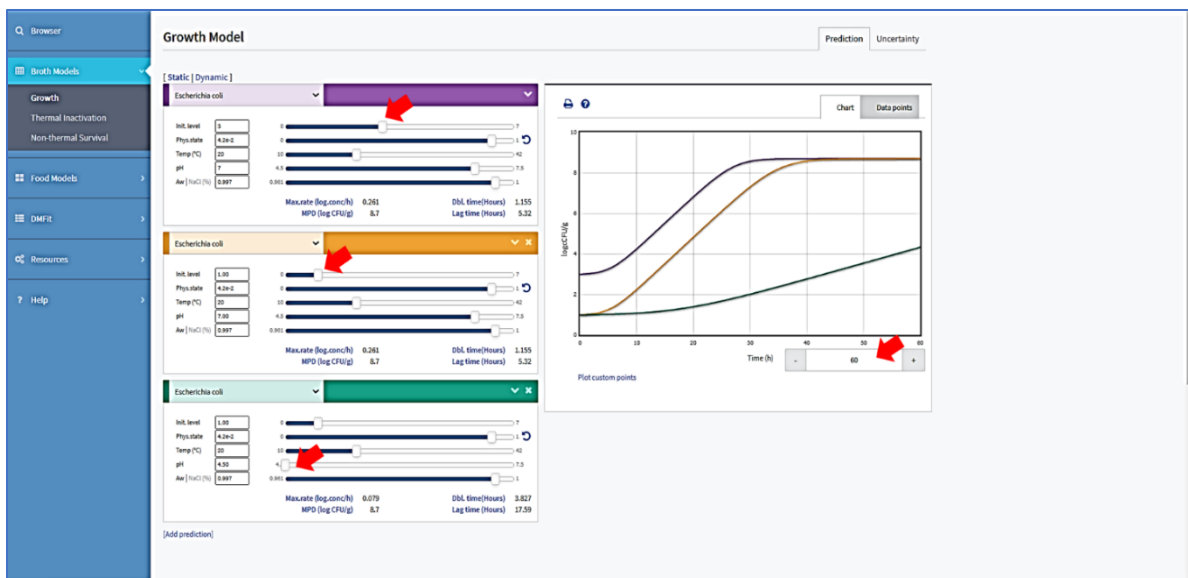
- i. Μικροοργανισμός
- ii. Αρχικό Μικροβιακό φορτίο

- iii. Φυσιολογική κατάσταση του βακτηρίου
- iv. Θερμοκρασία επώασης
- v. pH
- vi. Ενεργότητα νερού
- vii. Χρόνος παρατήρησης/ επώασης

Όλοι οι ως άνω παράμετροι είτε εισάγονται αριθμητικά είτε με εικονικούς μοχλούς επί του παραθύρου. Σε ό,τι αφορά την παράμετρο «Φυσιολογική κατάσταση» αυτό ορίζεται εμπειρικά από το χρήστη κατ' εκτίμηση και όσο πιο χαμηλή η τιμή τόσο μεγαλύτερη είναι η δυσκολία ανάπτυξης του μικροοργανισμού (1 είναι η μέγιστη και βέλτιστη τιμή). Στην δεξιά πλευρά του παραθύρου εμφανίζεται η καμπύλη ανάπτυξης με βάση τα στοιχεία που έχουν δοθεί.

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι στην κάτω πλευρά των επιλογών υπάρχει ακόμα μία επιλογή: «Add prediction» όπου μπορεί παράλληλα να φορτωθεί μία ακόμα πρόγνωση είτε για τον ίδιο μικροοργανισμό είτε για άλλους.

Στην **Εικόνα 12** που ακολουθεί δίνεται η το παράθυρο τριών διαφορετικών συνδυασμών παραμέτρων ανάπτυξης για το βακτήριο *E. coli*.



Εικόνα 13: Παράθυρο πολλαπλής επιλογής ανάπτυξης *Escherichia coli* υπό τρεις διαφορετικές συνθήκες για 60 h επώασης.

Στον 1^ο συνδυασμό οι συνθήκες ήταν:

1. Μικροοργανισμός:

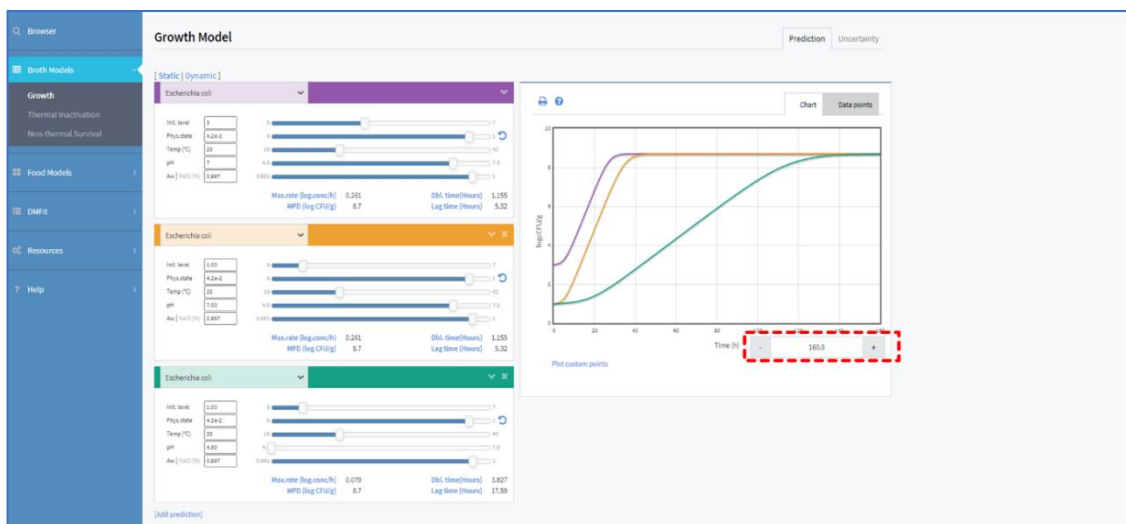
Escherichia coli

2. Αρχικό Μικροβιακό φορτίο	1000 cfu/mL
3. Φυσιολογική κατάσταση του βακτηρίου	Μέτρια
4. Θερμοκρασία επώασης	20°C
5. pH	7.0
6. Ενεργότητα νερού	0.997
7. Χρόνος παρατήρησης/ επώασης	60 h

Στον 2^ο συνδυασμό οι συνθήκες όπως στον 1^ο με τη διαφορά ότι η παράμετρος 2, το αρχικό μικροβιακό φορτίο ήταν πολύ χαμηλό 10 cfu/mL ενώ στον 3^ο συνδυασμό οι παράμετροι ήταν όπως στον 2^ο αλλά το pH στην χαμηλότερη τιμή τους (pH 4.5).

Οι καμπύλες ανάπτυξης εμφανίζονται δεξιά στην οθόνη (**Εικόνα 14**) όπου είναι σαφές ότι το αρχικό μικροβιακό φορτίο δεν επηρεάζει τον ρυθμό ανάπτυξης αλλά μόνο το χρονικό σημείο όπου ο πληθυσμός θα φτάσει στην στατική φάση ανάπτυξης ενώ αντίθετα πολύ σημαντική επιβράδυνση στην ταχύτητα αναδιπλασιασμού έχει το pH, όπου η φάση προσαρμογής ήταν πολύ μεγάλη – περίπου 15 h. Πολύ ενδιαφέρουσα είναι η επιλογή του χρόνου επώασης. Όταν αντί για 60 ώρες χρόνος επώασης τέθηκε στις 160 – τότε αυτόματα άλλαξαν και οι καμπύλες ανάπτυξης.

39



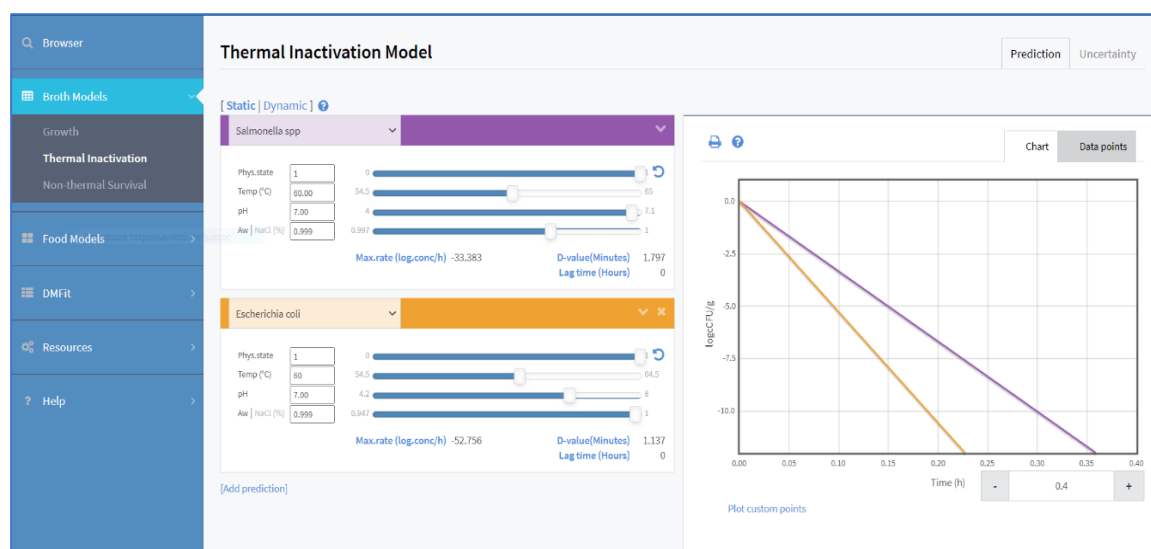
Εικόνα 14: Παράθυρο πολλαπλών συγκρίσεων ανάπτυξης *Escherichia coli* υπό τρεις διαφορετικές συνθήκες για 160 h επώασης

Στην περίπτωση αυτή είναι πολύ ενδιαφέρον να παρατηρηθεί ότι η τιμή pH 4.5 και σε θερμοκρασία 20°C δεν κατάφερε να αναχαιτίσει πλήρως την ανάπτυξη του

βακτηρίου *Escherichia coli*. Αντίθετα μετά από 130 h επώασης όλοι οι πληθυσμοί *E. coli* είχαν φτάσει στο ίδιο πληθυσμιακό επίπεδο.

2.5.1γ Κινητική Θερμικού Θανάτου: - Thermal Inactivation Model

Μία κλασσική και πολύ χρήσιμη επιλογή είναι η επιλογή της κινητικής θανάτωσης μέσω της εφαρμογής της θερμότητας υπό διαφορετικές και επιλεγμένες θερμοκρασίες (Εικόνα 15)



Εικόνα 15: Παράθυρο περιγραφής της κινητικής θανάτωσης *Salmonella* spp., και *Escherichia coli* υπό συγκεκριμένες και επιλεγμένες κάθε φορά συνθήκες.

Επιλέχθηκε να γίνει σύγκριση της κινητικής θανάτωσης δύο παθογόνων μικροοργανισμών υπό ταυτόσημες συνθήκες. Τα βακτήρια ήταν *Salmonella* spp. και *Escherichia coli* και οι συνθήκες που επιλέχθηκαν ήταν:

Φυσιολογική κατάσταση του βακτηρίου	Αρίστη
Θερμοκρασία επεξεργασίας	60°C
pH	7.0
Ενεργότητα νερού	0.999
Χρόνος παρατήρησης	1 h

Από τα αποτελέσματα των κινητικών θανάτωσης είναι σαφές ότι περισσότερο ευαίσθητο στην θερμική επεξεργασία είναι το βακτήριο *Escherichia coli* σε σύγκριση

με το βακτήριο *Salmonella* spp. Μάλιστα στην βάση κάθε ενός από τα διαγράμματα δίνονται και οι τιμές D. Υπάρχει η δυνατότητα πάρα πολλών συγκριτικών δοκιμών, αν και για μία ακόμα φορά πρέπει να σημειωθεί ότι πρόκειται για προγνωστικά μοντέλα που βασίζονται σε επεκτάσεις δεδομένων που έχουν ήδη αποθηκευτεί στο σύστημα. Επίσης στα μειονεκτήματα του συστήματος είναι ότι είναι διαθέσιμοι στο συγκεκριμένο υποπρόγραμμα έξι (6) μικροοργανισμοί:

- *Yersinia enterocolitica*
- *Bacillus cereus*
- *Brochothrix thermosphacta*
- *Clostridium botulinum*
- *Escherichia coli*
- *Listeria monocytogenes*
- *Salmonella* spp.

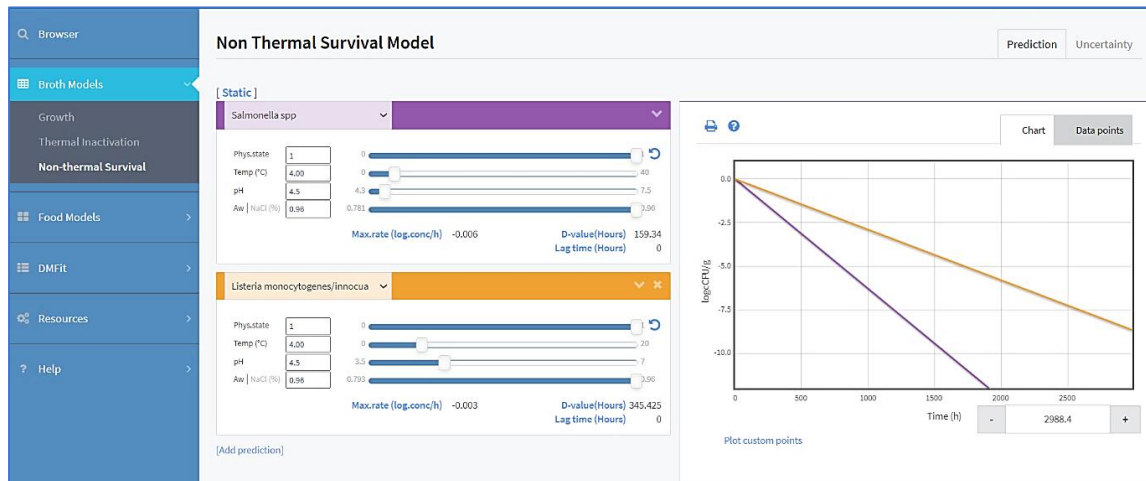
2.5.1δ Κινητική μη-Θερμικού Θανάτου: - Non Thermal Survival Model

Ένα ακόμα μοντέλο κινητικής της θανάτωσης αλλά όχι θερμικού θανάτου αλλά λόγω χαμηλής τιμής pH είναι διαθέσιμο από την ComBase.

Ενδεικτικά επιλέχθηκαν οι ακόλουθοι παράμετροι για δύο παθογόνα βακτήρια *Salmonella* spp. και *Escherichia coli*.

Φυσιολογική κατάσταση του βακτηρίου	Αρίστη
Θερμοκρασία	4°C
pH	4.0
Ενεργότητα νερού	0.999

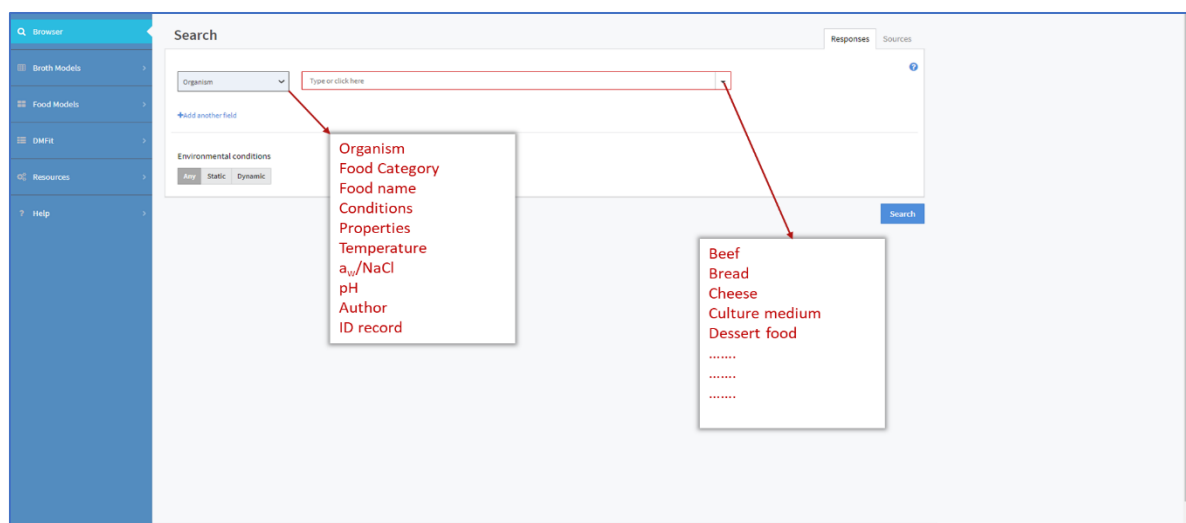
Από το διάγραμμα της **Εικόνας 16** είναι σαφές ότι το βακτήριο *Listeria monocytogenes* είναι πολύ πιο ανθεκτικό σε χαμηλές τιμές pH απ' ό τι το βακτήριο *Salmonella* spp. Δυστυχώς μόνο δυο μικροοργανισμοί είναι διαθέσιμοι για τα μοντέλα αυτά: *Listeria monocytogenes* και *Salmonella* spp



Εικόνα 16: Παράθυρο περιγραφής της κινητικής θανάτωσης λόγω χαμηλής τιμής pH των βακτηρίων *Salmonella* spp., και *Escherichia coli* υπό συγκεκριμένες και επιλεγμένες κάθε φορά συνθήκες.

2.5.1ε Browser – Επιλογή τροφίμου

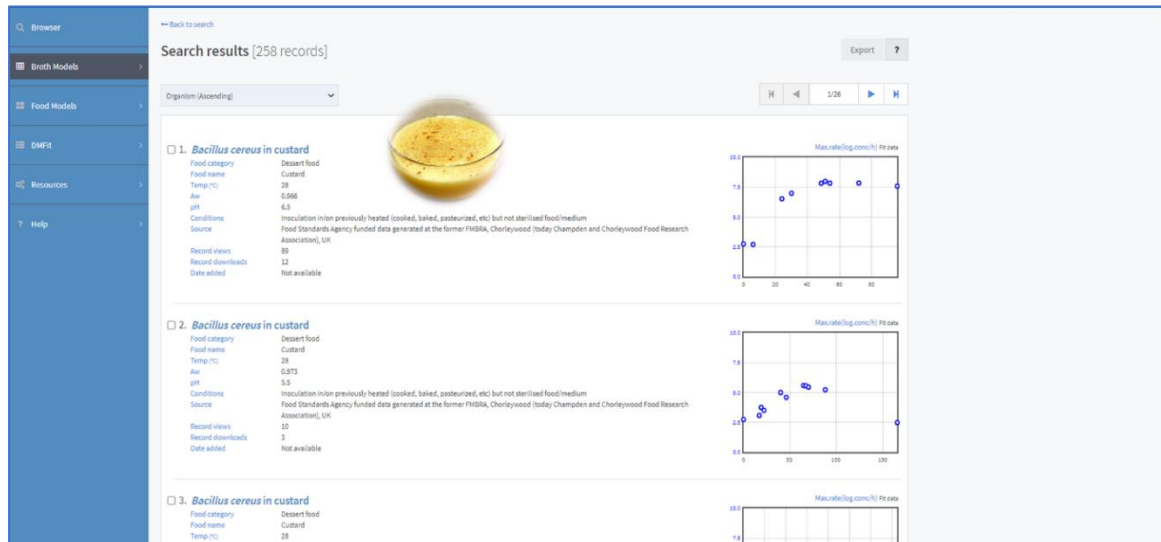
Μία πολύ ενδιαφέρουσα παράμετρος της ComeBase είναι η επιλογή τροφίμου από την αρχική σελίδα της.



Εικόνα 17: Παράθυρο της αρχικής σελίδας της ComeBase όπου δίνεται η δυνατότητα επιλογής και αναζήτησης αρχείων με κριτήριο «Είδος Τροφίμου».

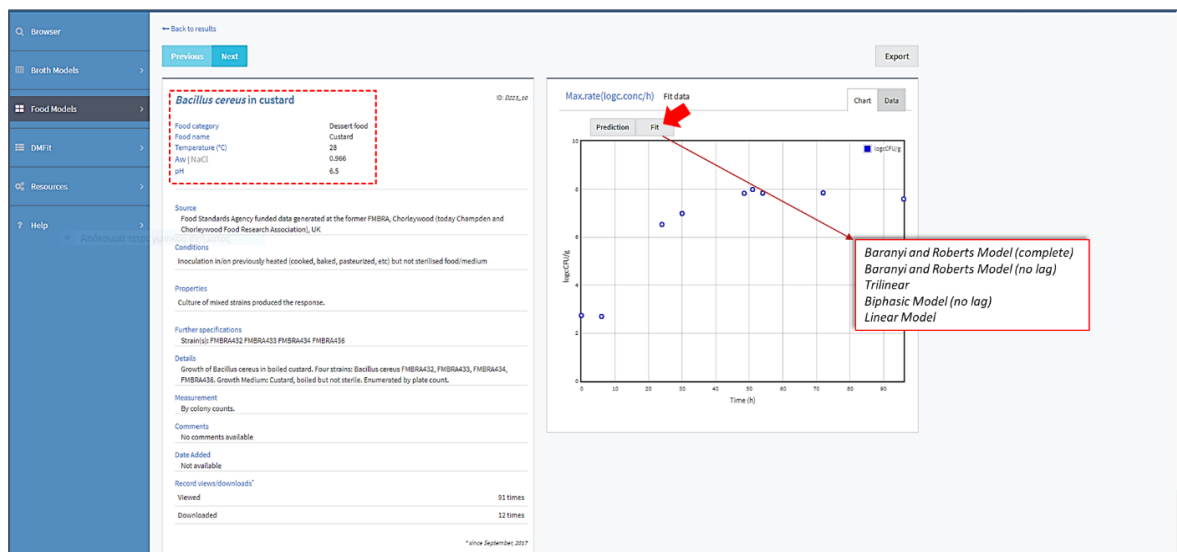
Ως παράδειγμα επιλέχθηκε το «*Dessert food*» και μετά την επιλογή «*Search*» στην ComeBase εμφανίστηκε το παράθυρο της **Εικόνας 17**.

Όπως αναφέρεται στην βάση δεδομένων υπάρχουν 258 αρχεία που αφορούν γλυκίσματα (dessert) σε ποικιλία μικροοργανισμών. Στην περίπτωση 1 πρόκειται για την εξέλιξη πληθυσμού του παθογόνου βακτηρίου *Bacillus cereus* σε γλύκισμα που θυμίζει την κρέμα.



Εικόνα 17: Παράθυρο εμφάνισης αρχείων με λέξη κλειδί, είδος τροφίμου (*dessert*) Επιλέγοντας το **Αρχείο 1** μεταπίπτουμε στο παράθυρο της **Εικόνας 18** όπου

43



Εικόνα 18: Παράθυρο εμφάνισης των πλήρων στοιχείων και πληροφοριών του αρχείου.

παρέχεται πλήθος πληροφοριών σχετικά με τον τρόπο και τις συνθήκες υπό τις οποίες παρήχθησαν όπως:

Food category:	Dessert food
Food name:	Custard
Temperature (°C):	28
Aw NaCl	0.966
pH	6.5
Source:	Food Standards Agency funded data generated at the former FMBRA, Chorleywood (today Champden and Chorleywood Food Research Association), UK
Conditions:	Inoculation in/on previously heated (cooked, baked, pasteurized, etc) but not sterilized food/medium
Properties:	Culture of mixed strains produced the response.
Strain(s):	FMBRA432 FMBRA433 FMBRA434 FMBRA436
Details:	Growth of <i>Bacillus cereus</i> in boiled custard.

Four strains: *Bacillus cereus* FMBRA432, FMBRA433, FMBRA434, FMBRA436.

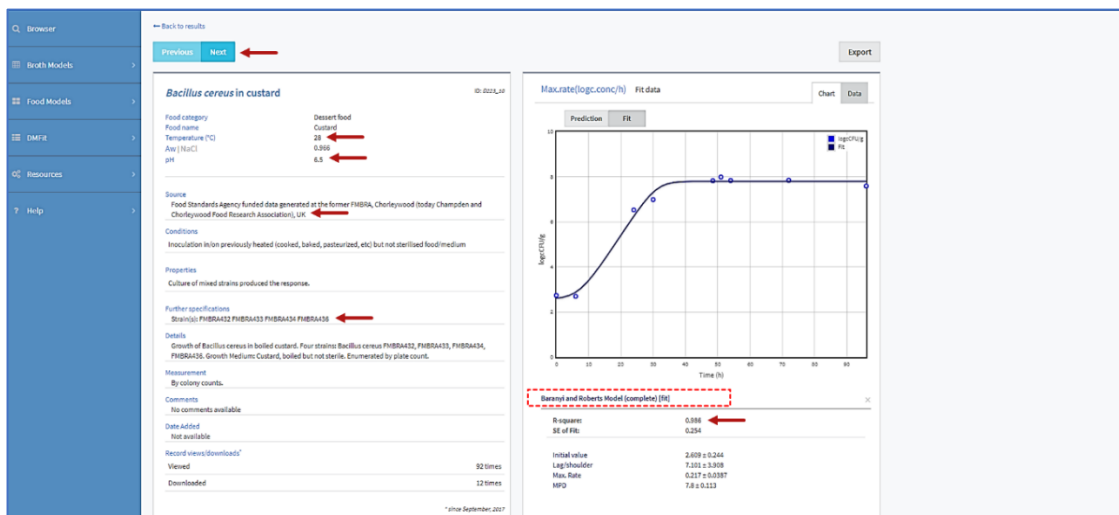
Growth Medium: Custard, boiled but not sterile. Enumerated by plate count.

Στην δεξιά πλευρά της οθόνης παρουσιάζονται τα αποτελέσματα χωρίς κάποια άλλη πληροφορία. Όμως στην πάνω πλευρά υπάρχει η επιλογή «Fit» όπου δίνει την δυνατότητα στον χρήστη να «μοντελοποιήσει» τα αποτελέσματα μέσω πέντε διαφορετικών μοντέλων:

- *Baranyi and Roberts Model (complete)*
- *Baranyi and Roberts Model (no lag)*
- *Trilinear*
- *Biphasic Model (no lag)*
- *Linear Model*

Μπορούν να γίνουν επιλογές διαφορετικών μοντέλων και η τελική επιλογή γίνεται με την βοήθεια του στατιστικού δείκτη συσχέτισης R^2 .

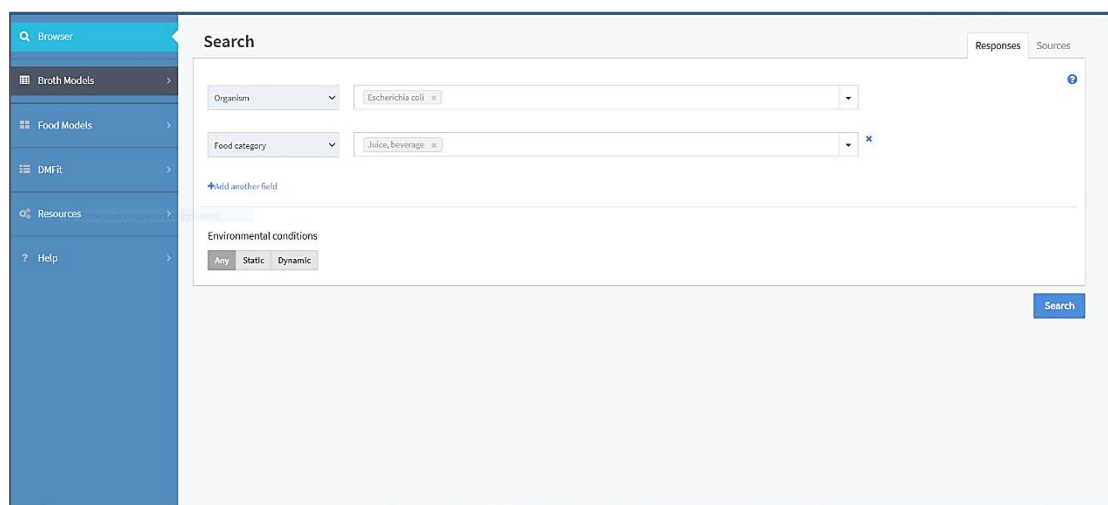
Στο συγκεκριμένο παράδειγμα και υπό τις δεδομένες συνθήκες την καλύτερη περιγραφή έδινε το μοντέλο *Baranyi and Roberts Model (complete)* με συντελεστή $R^2 = 0,986$ (Εικόνα 19)



Εικόνα 19: Παράθυρο εμφάνισης των πλήρων στοιχείων και πληροφοριών του επιλεγμένου αρχείου καθώς και του *fitting model*

2.5.1στ Browser – Συνδυασμένη επιλογή τροφίμου – μικροοργανισμού

Μια από τις πιο ενδιαφέρουσες επιλογές στο λογισμικό ComBase είναι η δυνατότητα συνδυασμών όπως π.χ. μικροοργανισμού και τροφίμου (Εικόνα 20)



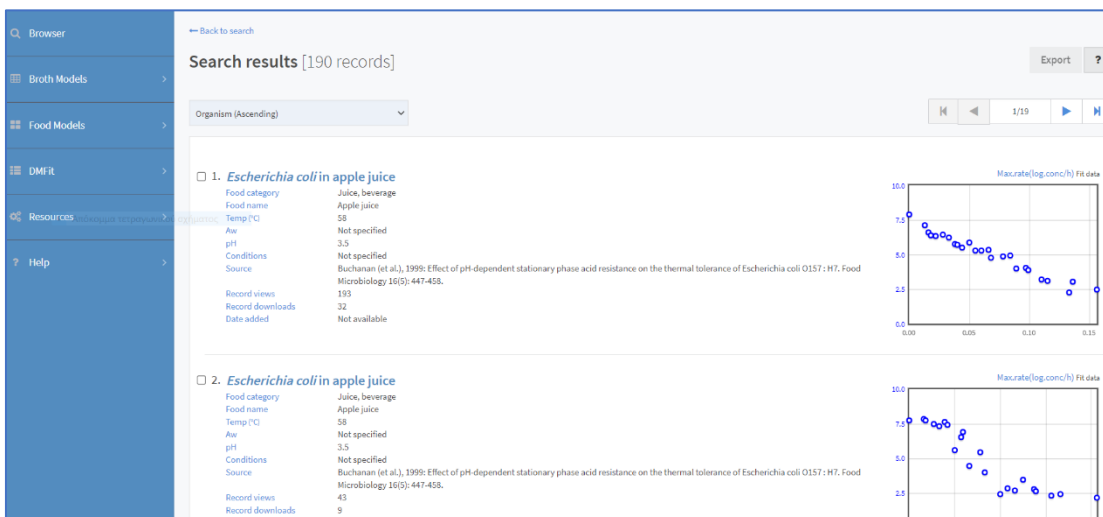
Εικόνα 20: Παράθυρο συνδυαστικής επιλογής παραμέτρων.

Στην συγκεκριμένη περίπτωση η επιλογή ήταν:

Μικροοργανισμός: *Escherichia coli*

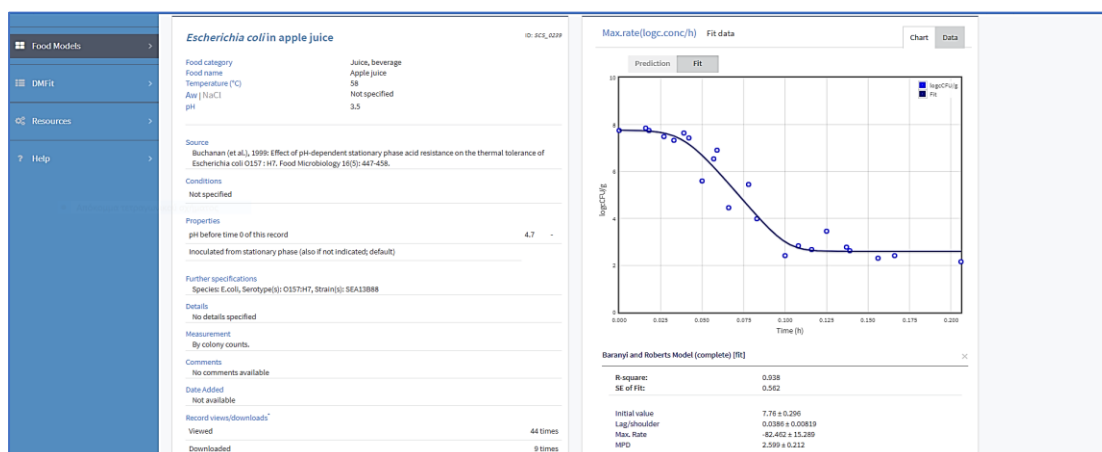
Τρόφιμο: *Juice beverage*

και τα διαθέσιμα αρχεία είναι **190** (Εικόνα 21)



Εικόνα 21: Παράθυρο εμφάνισης αποτελεσμάτων/ αρχείων συνδυαστικής επιλογής

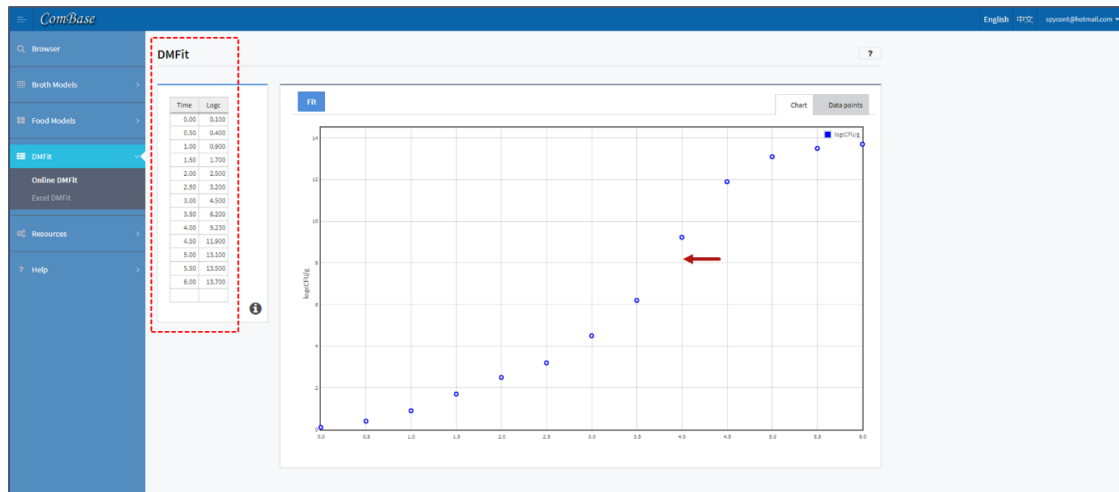
Επιλέχθηκε το Αρχείο 2 της συγκεκριμένης σελίδας το οποίο άνοιξε στο ακόλουθο «Παράθυρο» (Εικόνα 22) το οποίο έδωσε πολύ καλό συντελεστή συσχέτισης $R^2 = 0.938$



Εικόνα 22: Παράθυρο εμφάνισης της καμπύλης συσχέτισης πληθυσμού *Escherichia coli* σε

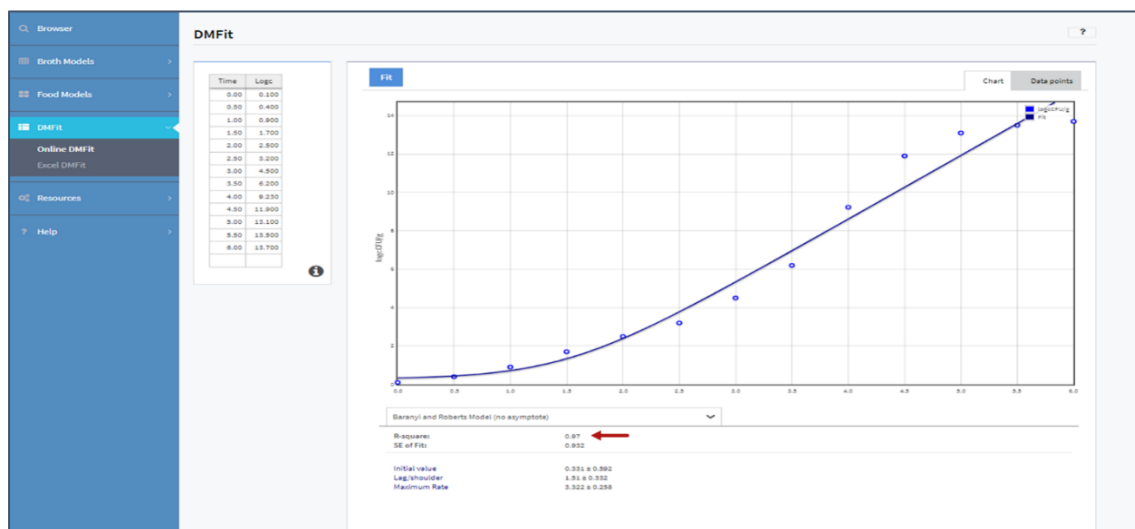
2.5.1ζ Επιλογή DMFit – Data Model Fitting

Πρόκειται για μία δυνατότητα όπου ο χρήστης εισάγει τα δικά του στοιχεία/δεδομένα στο Πρόγραμμα και παράγεται το μοντέλο. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 23 στην αριστερή πλευρά του παραθύρου υπάρχουν στήλες στις οποίες ο χρήστης εισάγει δεδομένα.



Εικόνα 22: Παράθυρο εμφάνισης του υπο-προγράμματος εισαγωγής δεδομένων και δημιουργίας καμπυλών και μοντέλων

Αυτόματα το σύστημα εμφανίζει στο πεδίο μεταξύ των δύο αξόνων τα δεδομένα και ακολούθως με την επιλογή «Fit» σχηματίζεται η γραμμή συσχέτισης (*fitting*) καθώς και το μοντέλο από το οποίο προήλθε. Ασφαλώς υπάρχει και στην περίπτωση αυτή και ο δείκτης R^2 για την ορθότερη επιλογή του μοντέλου.



Εικόνα 23: Παραγωγή καμπύλης μετά την εισαγωγή των δεδομένων από το χρήστη.

2.5.1η Προγνωστικά μοντέλα υπό δυναμικές/ μεταβαλλόμενες συνθήκες

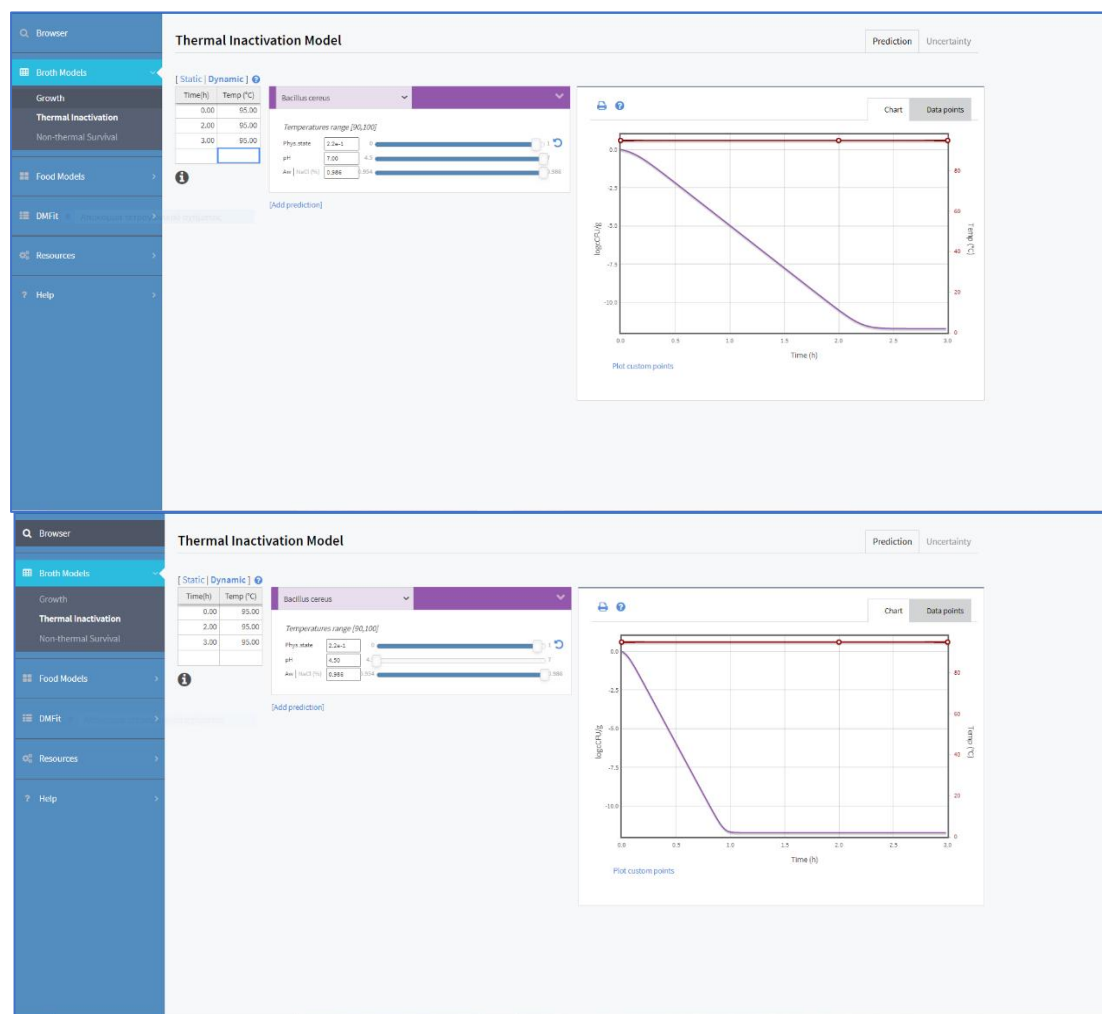
Σε όλα σχεδόν τα διαθέσιμα προγράμματα υπάρχουν δυο βασικές επιλογές:

- **Στατικές (Static):** δεν υπεισέρχεται ο παράγοντας χρόνος
- **Δυναμικές (Dynamic):** υπεισέρχεται ο παράγοντας χρόνος

Παράλληλα είναι δυνατόν να γίνει παραμετροποίηση και ως προς τα εξής:

- Φυσιολογική κατάσταση του βακτηρίου – κατ' εκτίμηση
- pH
- a_w – ενεργότητα νερού

Στην **Εικόνα 24** παρουσιάζεται η κινητική θανάτωσης του βακτηρίου *B. cereus* για θερμοκρασία 95°C για χρονική περίοδο 3 ωρών σε τιμές pH 7.0 και pH 4.5.



48

Εικόνα 24: Παραγωγή κινητικής θανάτωσης/ αδρανοποίησης λόγω θερμικής επεξεργασίας σε τιμή pH 7.0 (πάνω) και pH 4.0 (κάτω).

3. Συμπεράσματα

Από τα παραπάνω είναι σαφές ότι τα διαθέσιμα λογισμικά μπορεί να είναι εξαιρετικά χρήσιμα σε πολλές εφαρμογές. Ασφαλώς δεν μπορεί πάντοτε και υπό οποιασδήποτε συνθήκες να είναι απόλυτα ακριβή. Σε κάθε περίπτωση όμως είναι εξαιρετικά εργαλεία διαμοιρασμού πάρα πολλών πληροφοριών, οι οποίες συνδυάζονται πολύ

εύκολα στην οθόνη ενός υπολογιστή και έχουν προκύψει μετά από χιλιάδες ώρες εργασίας, πάρα πολλών ερευνητών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Augustin, J.C., Zuliani, V., Cornu, M., Guillier, L., (2005). Growth rate and growth probability of *Listeria monocytogenes* in dairy, meat and seafood products in suboptimal conditions. *J. Appl. Microbiol.* 99 (5).

Augustin, J.-C., Zuliani, V., Garry, P., (2007). Growth probability of *Listeria monocytogenes* and classification of pork meat products. In: 5th International Conference “Predictive Modelling in Foods”, 16e19 September, Athens, Greece.

Bridson, E.Y. and Gould, G.W. (2000), Quantal microbiology. *Letters in Applied Microbiology*, 30: 95-98. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765x.2000.00673.x>

McMeekin TA, Olley J, Ross T, Ratkowsky DA (Eds): *Predictive Microbiology: Theory and Application*. Taunton, UK: Research Studies Press; 1993.

Ross, T., Ratkowsky, D.A., Mellefont, L.A., McMeekin, T.A., (2003). Modelling the effects of temperature, water activity, pH, and lactic acid concentration on the growth rate of *Escherichia coli*. *Int. J. Food Microbiol.* 82.

Tenenhaus-Aziza, F., Ellouze, M., (2014), Software for predictive microbiology and risk assessment: A description and comparison of tools presented at the ICPMF8 Software Fair, *Food Microbiology*, 45, 290-299.

Whiting R.C., Buchanan R.L. (1993) Letter to the editor: A classification of models in predictive microbiology - a reply to K. R. Davey. *Food Microbiol.* 10:175-177.

