

JAROSŁAW KOWALIK, ADRIANA ŁOBACZ, SYLWIA TARCZYŃSKA

## PROGNOZOWANIE WZROSTU LICZBY KOMÓREK *LISTERIA MONOCYTOGENES* W SERKU WIEJSKIM

### Streszczenie

Celem badań było oszacowanie matematycznych modeli wzrostu liczby pałeczek *Listeria monocytogenes* w twarogu „cottage cheese”. W badaniach wykorzystano model pierwszorzędowy Baranyiego i Roberta oraz drugorzędowy – Ratkowsky’ego. Dane eksperymentalne pozwoliły na konstrukcję modeli prognostycznych. Oceny dopasowania modeli dokonano poprzez wyliczenie błędu średniokwadratowego MSE, współczynników odchylenia ( $A_p$ ) i dokładności ( $B_p$ ). Na podstawie uzyskanych prognoz wykonano walidację matematyczną i graficzną modelu trzeciorzędowego ComBase Predictor (CP), bazującego na zmodyfikowanych pożywkach mikrobiologicznych i stwierdzono jego przydatność do prognozowania zachowania bakterii z gatunku *L. monocytogenes* w twarogu. Wykorzystując CP, przeprowadzono analizę ewentualnych błędów procesów technologicznych i przerwania łańcucha chłodniczego podczas dystrybucji „cottage cheese”. Wykazano, że zmiany składu i temperatury podczas produkcji i dystrybucji mają duży wpływ na stabilność mikrobiologiczną i bezpieczeństwo produktu.

**Słowa kluczowe:** modele matematyczne, twaróg „cottage cheese”, bezpieczeństwo żywności

### Wprowadzenie

Ze względu na psychrotrofowy charakter *Listeria monocytogenes* namnaża się w warunkach chłodniczych nawet przy wysokich stężeniach NaCl (do 12 %). Z tych względów jest niebezpieczna dla zdrowia człowieka [22]. Względnie beztlenowe pałeczki *Listeria* mają zdolność wzrostu w temp. od -1,5 do 45 °C, w zakresie pH od 4,4 do 9,6 [6, 19]. Do artykułów spożywczych uznanych za szczególnie narażone na obecność *L. monocytogenes* należą sery miękkie oraz żywność wysoko przetworzona [8, 18, 23]. Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (ang. *European Food Safety Authority* - EFSA) w raporcie z 2009 r. podaje, że współczynnik zapadalności na listeriozę w krajach Unii Europejskiej wynosił 0,4 na 100 000 osób [6]. Minimalna dawka infekcyjna dla zdrowej dorosłej osoby wynosi od  $10^4$  do  $10^9$  jtk/g spożytej żywności.

---

Dr inż. J. Kowalik, dr inż. A. Łobacz, dr inż. S. Tarczyńska, Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 7, 10-719 Olsztyn

W 2009 r. *L. monocytogenes* była przyczyną ok. 1600 zatruc w USA (zmarło 260 osób) [19]. Obecność komórek *Listeria* w artykułach wyprodukowanych w UE reguluje rozporządzenie Komisji Europejskiej nr 2073/2005 [17]. Zachowanie właściwej temperatury w łańcuchu chłodniczym jest bardzo ważnym czynnikiem decydującym o wzroście liczby komórek niepożądanych mikroorganizmów [15].

W celu naukowego potwierdzenia, że w produkcji spożywczym nie rozwiną się drobnoustroje niepożądane, możliwe jest przeprowadzenie badań przechowalniczych w szerokim zakresie temperatury. Przy użyciu elementów mikrobiologii prognostycznej dokonywana jest analiza wyników badań (uzyskanych z próbek celowo zanieczyszczonych określonymi patogenami).

Mikrobiologia prognostyczna i modele matematyczne służą do opisu zachowania mikroorganizmów w żywności. Właściwie walidowane modele mogą być użyte do ilościowego szacowania ryzyka mikrobiologicznego w czasie rzeczywistym [9, 10, 11]. Zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 178/2002: „Ocena ryzyka powinna opierać się na istniejących dowodach naukowych i być podejmowana w sposób niezależny, obiektywny i przejrzysty”, wobec czego mikrobiologia prognostyczna staje się skutecznym narzędziem w ujęciu prawa [16, 21].

W niniejszym opracowaniu przedstawiono możliwości rozwoju *Listeria monocytogenes* w twarożku „cottage cheese”. Wybór do badań tego produktu uzasadniają jego właściwości fizykochemiczne, które potencjalnie sprzyjają rozwojowi pałeczek *Listeria*. „Cottage cheese”, w zależności od metody produkcji, jest niedojrzewającym twarożkiem kwasowym lub kwasowo-podpuszczkowym o strukturze ziarnistej. Ziarna serka są zanurzone w śmietanie [8, 12].

Celem pracy było określenie możliwości rozwoju pałeczek *Listeria monocytogenes* w twarożku „cottage cheese” podczas przechowywania w temp. 3 - 15 °C. Dokonano próby wykorzystania mikrobiologii prognostycznej do określenia stabilności mikrobiologicznej produktu w przypadku różnicy parametrów technologicznych i powstałych w ich wyniku zmian fizykochemicznych. Oszacowano również konsekwencje ewentualnego przerwania łańcucha chłodniczego w czasie przechowywania i dystrybucji produktu.

### **Material i metody badań**

Do badań przeżywalności *Listeria monocytogenes* wykorzystano twarożek ziarnisty wiejski „cottage cheese” polskiego producenta, pochodzący ze sprzedaży detalicznej, o 21-dniowym terminie przydatności do spożycia.

Do zanieczyszczenia próbek produktu używano trzech szczepów *Listeria monocytogenes* (szczepy ATTC: 0232S, 0737S, 0398S; Microbiologics). W wyniku pasażowania uaktywnionych szczepów uzyskano w bulionie odżywczym wzbogaconym hodowlę na poziomie  $1 \times 10^9$  jtk/ml. W twarożku określano kwasowość czynną za po-

mocą pehametru Lab 860 (Schott Instruments). Wykonywano analizę chemiczną składu za pomocą urządzenia FoodScan Lab (FOSS). Skład chemiczny serka był następujący: białko (11,00 %), tłuszcz (5,00 %), woda (79,50 %) i sucha masa (20,50 %). Próbkę dzielono na 25-gramowe porcje i umieszczano w sterylnych torebkach przystosowanych do homogenizacji w urządzeniu typu Stomacher (Interscience). Następnie zanieczyszczano je właściwym dziesięciokrotnym rozcieńczeniem hodowli *Listeria* w liczbie zapewniającej koncentrację na poziomie 3 log jtk/g i przechowywano w inkubatorach precyzyjnych z chłodzeniem (ICP, Memmert) w temp. 3, 6, 9, 12 i 15 °C.

Do analizy liczby komórek *L. monocytogenes* wykorzystywano metodę posiewu powierzchniowego przy zastosowaniu podłoża Chromocult Agar, wybiórczego dla *Listeria* wg Ottavianiego i Agosti (Merck) [13]. Próbkę poddawano homogenizacji z jałowym płynem fizjologicznym z peptonem w stosunku 1 : 10. Czas przechowywania, po którym wykonywano analizy, zależał od tempa wzrostu badanego mikroorganizmu w produkcie.

Płytki Petriego z posiewami inkubowano w temp. 37 °C przez 48 h. Posiewano trzy kolejne rozcieńczenia w dwóch powtórzeniach. W próbkach kontrolnych (bez celowego zanieczyszczenia) określano obecność *Listeria* metodą etapowego posiewu w pożywkach Fräsera, zgodnie z normą PN-EN ISO 11290-1 [13] i nie stwierdzono jej obecności. W laboratorium mikrobiologii prognostycznej w Katedrze Mleczarstwa i Zarządzania Jakością UWM zapewniona była bezpieczna praca z mikroorganizmami.

Doświadczenie przeprowadzono na pięciu różnych partiach produktu. Z uzyskanych wyników obliczano średnią arytmetyczną, którą logarytmowano, a następnie poddawano dalszej analizie statystycznej.

Na podstawie badań eksperymentalnych oszacowano modele pierwszorzędowe (Baranyiego i Roberta) z wykorzystaniem aplikacji DMFit [1, 2, 3]. W celu porównania uzyskanych prognoz generowano modele w programie Combase Predictor (CP), który zawarty jest w bazie danych Combase [4]. Program CP prognozuje na podstawie wyników uzyskanych na pożywkach mikrobiologicznych z wykorzystaniem równania Baranyiego i Roberta. Pożywki mikrobiologiczne zmodyfikowano pod względem: pH, aktywności wody, zawartości kwasów organicznych i NaCl [4, 10].

W wyniku modelowania pierwszorzędowego uzyskano współczynniki tempa wzrostu (w każdej temperaturze eksperymentu – aplikacja DMFit) oraz prognozowane tempo wzrostu (wyliczone w programie CP) [4]. Dokonano oceny dopasowania modeli pierwszorzędowych do obserwowanych danych poprzez wyliczenie wartości błędu średniokwadratowego MSE. Następnie w aplikacji DMFit (wykorzystując tempo wzrostu obserwowane i prognozowane w CP) uzyskano współczynniki tempa wzrostu na podstawie drugorzędowego modelu pierwiastka kwadratowego Ratkowsky'ego [7]. Wykonano walidację graficzną i matematyczną wygenerowanych modeli za pomocą

wykresu równości (modele pierwszorzędowe) i wyliczenia współczynników: odchylenia (Bf) oraz dokładności (Af) (modele drugorzędowe) [7].

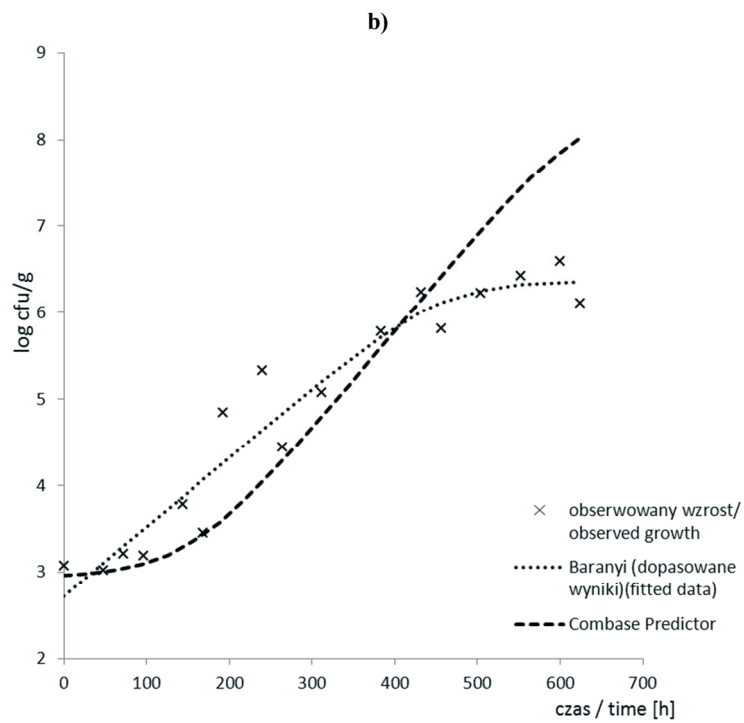
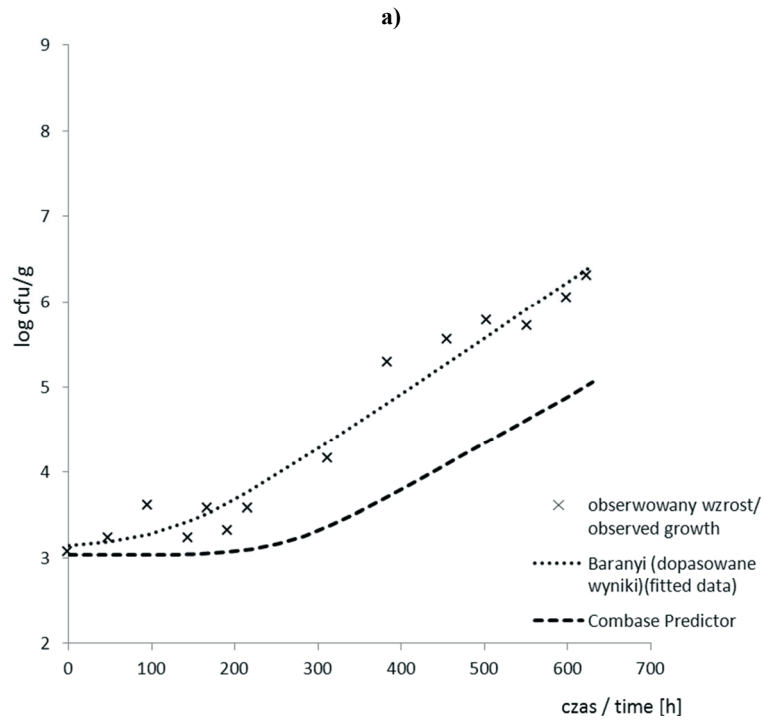
### Wyniki i dyskusja

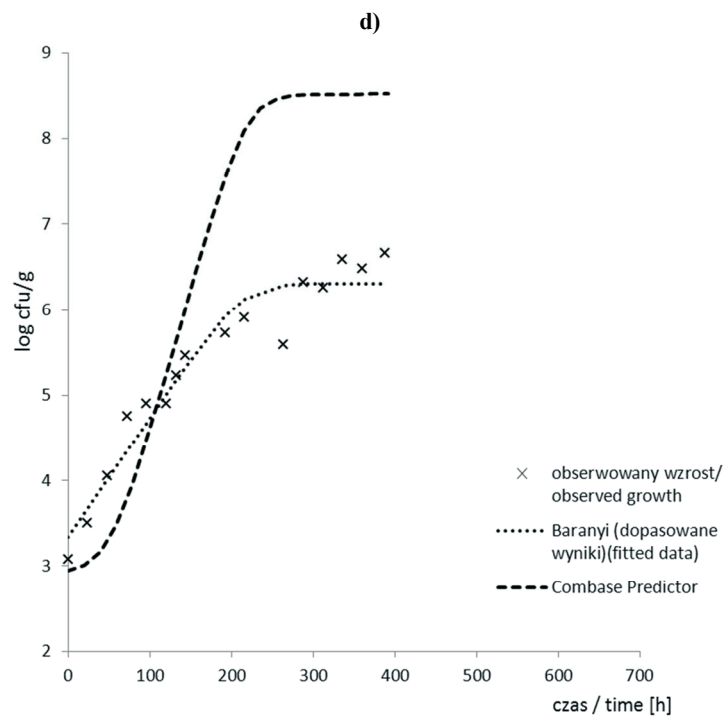
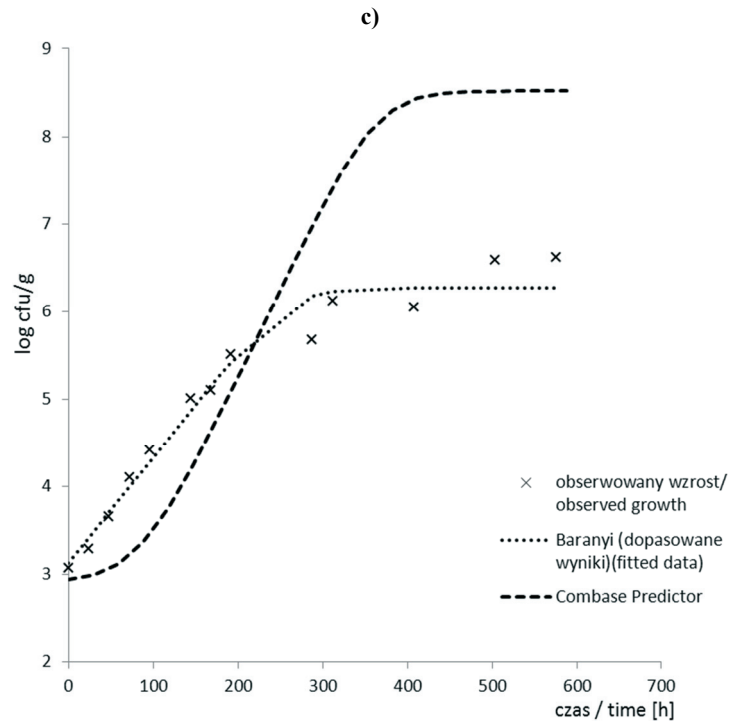
Próbki przechowywano do osiągnięcia maksymalnej gęstości populacji *L. monocytogenes*. Na rys. 1. (a-e) przedstawiono wzrost liczby komórek *Listeria* w przechowywanym twarogu „cottage cheese”. Czas przechowywania wynosił 624 h w temp. 3 i 6 °C, 576 h w 9 °C oraz 388 h w 12 i 15 °C. Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem temperatury następowało większe tempo wzrostu liczby komórek *Listeria*. Podobne badania prowadzili Chen i Hotchkiss [5], którzy próbki „cottage cheese” (celowo zanieczyszczone *L. monocytogenes*) przechowywali w warunkach tlenowych w temp.: 4, 7 i 21 °C przez 1512 h. Wykazali wzrost liczby komórek *Listeria* z 4 log do 7 log jtk/g po 1512 h w temp. 4 °C, zaś po 384 h w 7 °C. Czas trwania lagfazy wynosił odpowiednio: 672 h i 168 h [5].

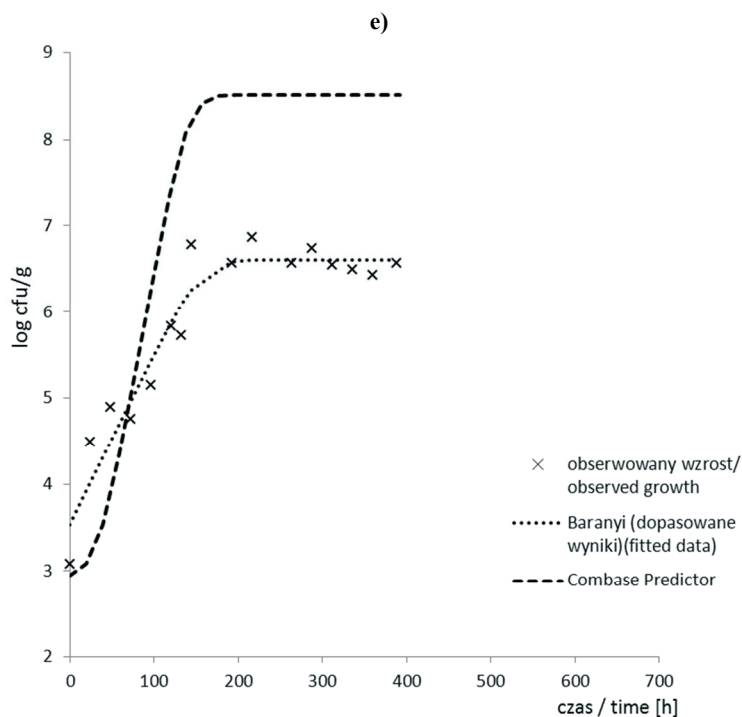
Odmienne wyniki badań uzyskali Stańczak i wsp. [20]. Wykonali oni próby przechowalnicze serka termizowanego („grani quark”) zanieczyszczonego *Listeria* na poziomie 3 log jtk/g i przechowywanego w temp. 10 i 20 °C. Największą redukcję bakterii (o 2 cykle logarytmiczne) zaobserwowano w temp. 10 °C pomiędzy 240. a 336. h przechowywania. Po tym czasie nie wykryto komórek *L. monocytogenes* zastosowanymi metodami badawczymi (podłoże selektywne Oxford (Oxoid)). W temp. 20 °C zaobserwowano brak obecności *Listeria* już po 240 h. Kwasowość czynna (pH) serka podczas przechowywania kształtowała się na poziomie 4,55 - 5,26. Większe tempo obumierania bakterii zaobserwowano w wyższej temperaturze, mimo sprzyjającego czynnika środowiskowego (pH powyżej 5,2). Główny wpływ na efekt letalny miał rozwój mikroflory antagonistycznej [20].

Przy użyciu aplikacji DMFit wyliczono współczynniki determinacji  $R^2$ , które świadczą o dopasowaniu modelu. Współczynniki wynosiły w temp.: 3 °C – 0,96, 6 °C – 0,92, 9 °C – 0,96; 12 °C – 0,92 oraz 15 °C – 0,92. Oprócz  $R^2$  aplikacja DMFit oblicza błąd standardowy dopasowania SE(fit) (odchylenie standardowe obserwowanych, niezależnych zmiennych). Wartości SE(fit) wynosiły odpowiednio w temp.: 3 °C – 0,2593, 6 °C – 0,3656, 9 °C – 0,2497; 12 °C – 0,2972 oraz 15 °C – 0,3118. Liczba stopni swobody w przypadku modelu Baranyiego, na którym bazuje aplikacja DMFit, wynosi 5.

Na podstawie wyliczeń w DMFit określono wartości współczynników tempa wzrostu *L. monocytogenes*, które wynosiły odpowiednio w temp.: 3 °C – 0,0066 [h<sup>-1</sup>], 6 °C – 0,0080 [h<sup>-1</sup>], 9 °C – 0,0121 [h<sup>-1</sup>], 12 °C – 0,0139 [h<sup>-1</sup>] oraz 15 °C – 0,0197 [h<sup>-1</sup>]. Zaobserwowano, że im wyższa była temperatura przechowywania produktu, tym wyższy współczynnik tempa wzrostu.







Legenda: / Legends: x – obserwowany wzrost / observed growth; ..... - model Baranyiego (dopasowane wyniki) / Baranyi model (fitted data), - - - - - Combase Predictor.

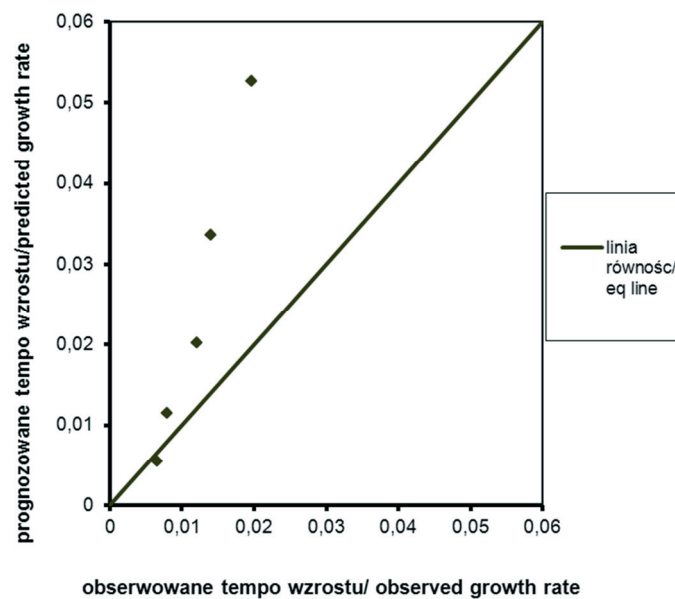
Rys. 1. Wyniki modelowania pierwszorzędowego opisujące wzrost liczby *Listeria monocytogenes* w temp.: a) 3 °C, b) 6 °C, c) 9 °C, d) 12 °C, e) 15 °C.

Fig. 1. Results of primary modelling to describe increase in *Listeria monocytogenes* count at a temperature: a) 3 °C, b) 6 °C, c) 9 °C, d) 12 °C, e) 15 °C.

Następnie wygenerowano w programie CP prognozy uwzględniające podobne parametry środowiska: temperaturę, czas, pH, zawartość kwasu mlekowego (rys. 1 a-e). W czasie przechowywania produktu w temp. 3 - 15 °C pH wynosiło od 4,9 do 5,2. Na potrzeby generowania modeli wzrostu w programie CP wpisano wartość 5,2, przy której patogeny mają korzystniejsze warunki do rozwoju, co zapewnia większy margines bezpieczeństwa prognoz. Kwasowość miareczkowa „cottage cheese” wynosiła 27 °SH (odpowiada to 0,6 % kwasu mlekowego, czyli 6000 ppm, a więc ilości wymaganej przez program CP). Zawartość NaCl, charakterystyczną dla tego typu produktu, ustalono w programie na poziomie 1 %.

Na podstawie obliczeń stwierdzono, że błąd średniokwadratowy sum błędów wartości obserwowanych (DMFit) i prognozowanych (CP) wynosił 0,00031, co wskazuje na dobre dopasowanie modelu [7, 10]. Walidacja graficzna (rys. 2) pozwoliła

stwierdzić dużą przydatność prognoz uzyskanych w CP. Poprzez wizualne porównanie obserwowanego (badania własne) i prognozowanego tempa wzrostu stwierdzono, że 4 punkty odpowiadające prognozowanym wartościom w CP leżą powyżej linii równości, zaś 1 punkt leży na jej granicy. Prognozowane w CP wartości tempa wzrostu w większości przypadków miały wyższą wartość niż obserwowane, co potwierdziło wysoki margines bezpieczeństwa predykcji. Modele prognostyczne zawsze obciążone są błędem, ale w celu uzyskania bezpieczeństwa żywności prognozowany współczynnik tempa wzrostu musi mieć wartość wyższą aniżeli obserwowany.



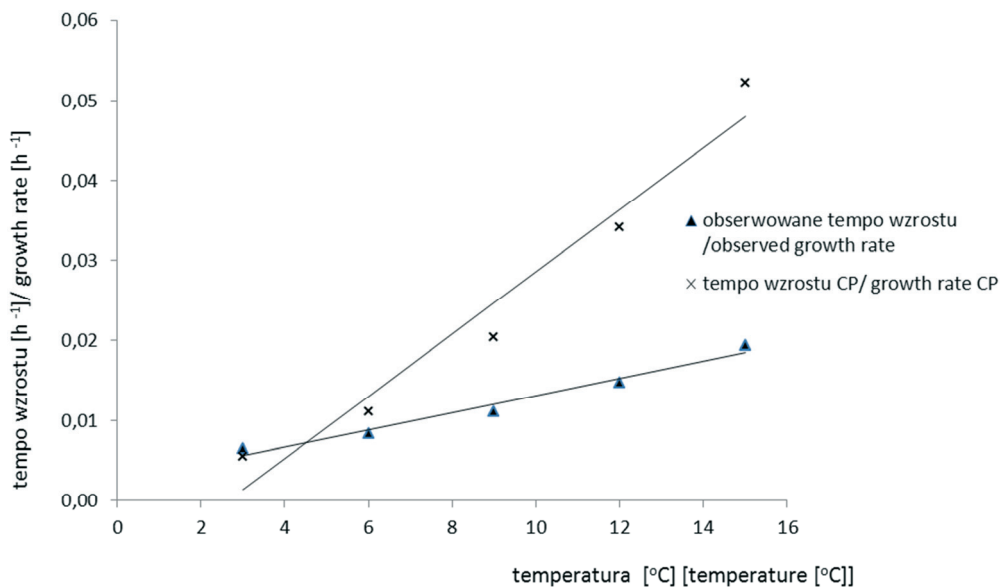
Rys. 2. Porównanie obserwowanego (DMFit) i prognozowanego (CP) tempa wzrostu  $\mu$  *Listeria monocytogenes* w „cottage cheese” podczas przechowywania (temp.: 3, 6, 9, 12 i 15 °C).

Fig. 2. Comparing observed (DMFit) and predicted (CP)  $\mu$  growth rate of *Listeria monocytogenes* in cottage cheese during storage (3, 6, 9, 12 and 15 °C).

W wyniku modelowania drugorzędowego (równanie Ratkowsky’ego) uzyskano możliwość prognozy tempa wzrostu *Listeria* w zależności od temperatury przechowywania (rys. 3). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że program CP dla określonych warunków środowiska („cottage cheese”) pozwolił na bezpieczne prognozy tempa wzrostu *Listeria*. Zauważono, że w miarę wzrostu temperatury przechowywania prognozowany współczynnik tempa wzrostu, a tym samym margines bezpieczeństwa uzyskanych prognoz, miał znacznie wyższą wartość od obserwowanego. Walidacji modelu Ratkowsky’ego dokonano poprzez wyliczenie współczynnika odchylenia ( $B_f$ ) i współczynnika dokładności ( $A_f$ ) (tab. 1). Stwierdzono zgodność między



wartościami obserwowanymi i prognozowanymi w CP a uzyskanymi podczas modelowania drugorzędowego (model Ratkowsky’ego). W przypadku  $B_f$  wartość równa jeden świadczy o idealnej zgodności. Wartość współczynnika  $A_f$  na poziomie 1 świadczy o dobrej korelacji, natomiast poniżej 0,5 – informuje o nieprecyzyjności prognoz [10].



Rys. 3. Zachowanie *L. monocytogenes* w „cottage cheese” według modelu drugorzędowego Ratkowsky’ego.

Fig. 3. Behaviour of *L. monocytogenes* in cottage cheese according to secondary Ratkowsky model.

Tabela 1

Parametry charakteryzujące poprawność dopasowania modelu Ratkowsky’ego.  
Parameters to characterize correctness of Ratkowsky model fitting.

Współczynniki matematyczne Mathematical coefficients	Model
DMFit / Ratkowsky	
Wsp. odchylenia / Bias factor	1,0511
Wsp.dokładności / Accuracy factor	1,0025
CP / Ratkowsky	
Wsp. odchylenia / Bias factor	1,0159
Wsp.dokładności / Accuracy factor	1,00025

W wyniku walidacji modeli wykazano, że prognozy wygenerowane w CP umożliwiają przewidywanie wzrostu liczby komórek *Listeria* podczas produkcji i dystrybucji „cottage cheese”. Na podstawie wykonanej walidacji CP może być przydatnym narzędziem w szacowaniu ryzyka mikrobiologicznego. W tab. 2. przedstawiono wyniki i prognozy skutków błędnie przeprowadzonego procesu technologicznego, w wyniku którego nastąpiła zmiana pH i zawartości kwasu mlekowego. Wyznacznikiem stabilności mikrobiologicznej jest czas trwania lagfazy. Na podstawie oszacowanych wyników uzyskanych w programie CP zaobserwowano, że w przypadku reinfekcji *L. monocytogenes* (np. podczas dystrybucji i przerywania łańcucha chłodniczego) w temp. 6, 10 i 14 °C czas stabilności mikrobiologicznej był dłuższy przy niższym pH i wyższej zawartości kwasu mlekowego. Najdłuższy czas stabilności mikrobiologicznej dotyczył parametrów produktu w temp. 6 °C o wartości pH 5,2 i zawartości kwasu mlekowego 0,6 %, najkrótszy zaś w temp. 14 °C przy pH 5,8 i zawartości kwasu mlekowego 0,4 %. Po tym czasie, według programu CP, nastąpiła faza logarytmicznego wzrostu.

Tabela 2

Parametry fizykochemiczne i warunki przechowywania produktu w przypadku nieprawidłowości technologicznych i reinfekcji *L. monocytogenes*.

Physical-chemical parameters and storage conditions of product in case of technological failure and re-infection by *L. monocytogenes*.

pH produktu Product pH	Kwas mlekowy Lactic acid [ppm] / [%]	Temperatura / Temperature [°C]					
		6		10		14	
		tempo wzrostu growth rate [h <sup>-1</sup> ]	lagfaza lag phase [h]	tempo wzrostu growth rate [h <sup>-1</sup> ]	lagfaza lag phase [h]	tempo wzrostu growth rate [h <sup>-1</sup> ]	lagfaza lag phase [h]
5,2	6000 / 0,6	0,0112	150	0,0241	72	0,0456	38
5,5	5000 / 0,5	0,0155	113	0,0326	54	0,0617	29
5,8	4000 / 0,4	0,0195	89	0,0412	42	0,0752	13

Dostępne bazy danych dotyczące mikroorganizmów w żywności opisują zachowanie drobnoustrojów w zmodyfikowanych pożywkach mikrobiologicznych. Wyniki niniejszej pracy mogą być przydatne do implementacji w bazie danych WaMa Predictor (WMP) [14]. Polska baza danych (WMP) zawiera m.in. opracowane modele matematyczne służące określaniu zachowania drobnoustrojów w rzeczywistych warunkach produktów spożywczych.

## Wnioski

1. Twarożek ziarnisty („cottage cheese”) stanowił dobrą pożywkę dla rozwoju pałeczek *Listeria monocytogenes* w zakresie temperatur 3 - 15 °C.
2. Istnieje potrzeba tworzenia modeli prognostycznych na podstawie danych eksperymentalnych pochodzących z badań nad rozwojem patogenów i bakterii niepożądaných w gotowych produktach spożywczych.
3. Prognozowanie mikrobiologiczne stanowi nowe, naukowe podejście do oszacowania ilościowego i jakościowego ryzyka mikrobiologicznego w łańcuchu dystrybucyjnym serka „cottage cheese”.

*Praca naukowa finansowana ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach projektu badawczego pt. Zastosowanie mikrobiologii prognostycznej do modelowania bezpieczeństwa żywności (N R12 0097 06).*

## Literatura

- [1] Baranyi J., Le Marc Y.: DMFit manual, Version 2.0, Institute of Food Research, Norwich Research Park, UK.
- [2] Baranyi J.: Stochastic modelling of bacterial lag phase. *Int. J. Food Microbiol.*, 2002, **73**, 203-206.
- [3] Baranyi, J., Roberts, T.A.: A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *Int. J. Food Microbiol.*, 1994, **23**, 277-294.
- [4] Baza danych ComBase. [online]. [dostęp 25.11.2012]. Dostępna w Internecie: <http://www.combase.cc/index.php/en/>.
- [5] Chen J.H. Hotchkiss J.H.: Growth of *Listeria monocytogenes* and *Clostridium sporogenes* in cottage cheese in modified atmosphere packaging. *J. Dairy Sci.*, 1993, **76**, 972-977.
- [6] Dmowska K., Osek J.: Molekularne aspekty chorobotwórczości *Listeria monocytogenes*. *Med. Wet.*, 2010, **66 (4)**, 236-241.
- [7] Giffel M.C., Zwietering M.H.: Validation of predictive models describing the growth of *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.*, 1999, **46**, 135-149.
- [8] Holanowski A.: Twarogi i serki twarogowe. Wyd. Spółdzielcze, Warszawa 1986.
- [9] Kowalik J., Łobacz A., Tarczyńska A.S., Ziajka S.: Zastosowanie mikrobiologicznych modeli prognostycznych w produkcji bezpiecznej żywności. *Med. Wet.*, 2009, **65 (06)**, 381-381.
- [10] Kowalik J., Łobacz A., Tarczyńska A.S., Ziajka S.: Graphic validation of growth models for *Listeria monocytogenes* in the milk during storage. *Milchwissenschaft*, 2012, **1 (67)**, 38-42.
- [11] McMeekin T.A., Ross T.: Predictive microbiology: providing a knowledge-based framework for change management. *Int. J. Food Microbiol.*, 2002, **78**, 133-153.
- [12] Pijanowski E., Gawęł J.: Zarys chemii i technologii mleczarstwa. Tom III. Sery, kazeina, produkty z serwatki. PWRiL, Warszawa 1985.
- [13] PN-EN ISO 11290-2:2003/A1:2005. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania obecności i oznaczania liczby *Listeria monocytogenes*.
- [14] Portal Internetowy WaMaPredictor. [online]. [dostęp 25.11.2012]. Dostępny w Internecie: <http://wamapredictor.uwm.edu.pl/WaMaPredictor>.
- [15] Rosiak E., Kołożyn-Krajewska D.: Modele wzrostu bakterii *Pseudomonas* w produktach gotowych do spożycia. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **3 (44)**, 191-205.

- [16] Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności. Dz. Urz. L 31 z 1.2.2002, str. 1.
- [17] Rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych. Dz. Urz. L 338 z 22.12.2005, str. 1.
- [18] Sip A., Więckowicz M., Grajek W.: Sery regionalne potencjalne źródło *Listeria monocytogenes*. Przem. Spoż., 2008, **10**, 30-34.
- [19] Sip A., Więckowicz M., Olejnik-Schmidt A., Grajek W.: Anti-listeria activity of lactic acid bacteria isolated from golka, a regional cheese produced in Poland. Food Control, 2012, **26**, 117-124.
- [20] Stańczak B., Szczawiński J., Peconek J.: Przeżywalność *Listeria monocytogenes* w serze twarogowym termizowanym. Med. Wet., 2000, **56** (4), 251-254.
- [21] Tarczyńska A.S., Kowalik J., Łobacz A.: Modelowanie mikrobiologicznego bezpieczeństwa żywności. Przem. Spoż., 2012, **6**, 35-38.
- [22] Walczycka M.: Metody inaktywacji i hamowania wzrostu *Listeria monocytogenes* w przetworach mięsnych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2005, **43** (2), 61-72.
- [23] Zadernowska A., Łaniewska-Trokenheim Ł., Chajęcka W.: Wykrywanie pałeczek *Listeria monocytogenes* i *Salmonella* sp. w rybach i produktach rybnych z użyciem aparatu mini Vidas. Med. Wet., 2010, **66** (4), 264-267.

## PREDICTING GROWTH OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* CELL COUNT IN COTTAGE CHEESE

### S u m m a r y

#### Summary

The objective of the research study was to develop mathematical models of the growth of number of *Listeria monocytogenes* rods in cottage cheese. In the study, a primary Baranyi and Roberts model and a secondary Ratkowsky model were applied. The experimental data made it possible to construct prognostic models. A mean square error (MSE), bias (Bf), and accuracy (Af) factors were calculated and applied to assess the goodness-of-fit of the constructed models. Based on the predictions obtained, a mathematical and graphical validation was performed of the tertiary Combase Predictor (CP) model, which was based on the modified microbiological culture media; its usefulness was confirmed to predict the behaviour of bacteria of the species *L. monocytogenes* in cottage cheese. Then, using CP, possible technological errors were analyzed as was the break of the cold chain while distributing cottage cheese. It was proved that the changes in the composition and temperature during the production and distribution had a high impact on the microbiological stability and safety of the product.

**Key words:** mathematical models, cottage cheese, food safety 