



Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

Σχολή Χημικών Μηχανικών

Τομέας IV: *Σύνθεσης και Ανάπτυξης Βιομηχανικών Διαδικασιών*

Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Επίδραση νέων μεθόδων συσκευασίας στην ποιότητα και τη διατηρησιμότητα προϊόντων νωπού τεμαχισμένου κοτόπουλου»

Αντώνης Καλαμάρας

Επιβλέπων Καθηγητής: καθ. Πέτρος Ταούκης

ΑΘΗΝΑ, Οκτώβριος 2015

***Αφιερώνεται με αγάπη στους γονείς μου,
Φάνη και Μαίρη***

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου. Ευχαριστώ ιδιαίτερα τον καθηγητή Πέτρο Ταούκη, τόσο για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου με την ανάθεση της παραπάνω εργασίας όσο και για την καθοδήγηση, τις γνώσεις και την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε. Επίσης, ευχαριστώ τις καθηγήτριες Κων/να Τζιά και Βασιλική Ωραιοπούλου για τις συμβουλές και τις πολύτιμες γνώσεις που μου μετέδωσαν καθ' όλη την διάρκεια των σπουδών μου.

Θέλω ακόμα να ευχαριστήσω θερμά όλο το προσωπικό του εργαστηρίου Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων για την υπομονή, τη συμπαράσταση, τις συμβουλές, την προθυμία τους να βοηθήσουν και ιδιαιτέρως την Φανή Τσιρώνη και την Αθηνά Ντζιμάνη, για τη συνεχή καθοδήγηση, την εμπειρία και τη σημαντική βοήθεια που μου προσέφεραν, καθ' όλη τη διάρκεια της εργασίας.

Τέλος, την διπλωματική μου θα ήθελα να την αφιερώσω με μεγάλη αγάπη και ευγνωμοσύνη στους υπέροχους γονείς μου Φάνη και Μαίρη οι οποίοι αποτέλεσαν στήριγμα κατά τη διάρκεια των σπουδών μου αλλά και πολύτιμοι καθοδηγητές στα εύκολα και δύσκολα μονοπάτια της ζωής μου.

Αντώνης Καλαμάρας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα προϊόντα πουλερικών αποτελούν μια εξαιρετικά ευαλλοίωτη ομάδα τροφίμων προσφέροντας ιδανικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη των αλλοιογόνων μικροοργανισμών. Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η μελέτη της επίδρασης νέων τεχνολογιών συσκευασίας στην ποιότητα και τη διατηρησιμότητα σε νωπό μπουτί κοτόπουλου στις θερμοκρασίες 0, 5, 10 °C.

Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν ξεχωριστά η επίδραση της συσκευασίας τροποποιημένης ατμόσφαιρας περιεκτικότητας (v/v) σε 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂ και η συνδυαστική δράση, σε αερόβια συσκευασία, της επικάλυψης εδώδιμης μεμβράνης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – αντιμικροβιακού citrox (1% w/w) ή γλυκονο-δ- λακτόνης (0,5% w/w) στις θερμοκρασίες 0, 5, 10 °C.

Σε όλα τα δείγματα οι αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί που εξετάστηκαν εκτός από την ολική μικροβιακή χλωρίδα ήταν οι ψευδομονάδες, το *Brochothrix thermosphacta* και τα γαλακτικά βακτήρια και βρέθηκε ότι ο επικρατέστερος πληθυσμός ήταν οι ψευδομονάδες. Για την εύρεση των σταθερών k (d⁻¹) των εκθετικών ρυθμών ανάπτυξης των μικροοργανισμών έγινε η χρήση του μοντέλου Baranyi. Επίσης, έγινε μέτρηση στο pH και στο χρώμα των δειγμάτων καθώς και στη σύσταση αερίων της συσκευασίας και μελετήθηκε η υποβάθμιση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών με την πάροδο του χρόνου κάνοντας μετά από κάθε δειγματοληψία οργανοληπτικό έλεγχο με στόχο να προσδιοριστούν οι σταθερές των ρυθμών της οργανοληπτικής υποβάθμισης για κάθε οργανοληπτικό χαρακτηριστικό (όψη, οσμή, σκληρότητα, γεύση και γενική εντύπωση). Ταυτόχρονα, τόσο για την μικροβιακή ανάπτυξη όσο και για την οργανοληπτική υποβάθμιση εφαρμόστηκε το μοντέλο Arrhenius για τον προσδιορισμό των αντίστοιχων σταθερών k_{ref} (d⁻¹) με $T_{ref} = 4$ °C και της ενέργειας ενεργοποίησης E_a (kJ/mol).

Με την αύξηση της θερμοκρασίας συντήρησης όλων των δειγμάτων, παρατηρήθηκε αύξηση του ρυθμού ανάπτυξης των παραπάνω μικροοργανισμών και αύξηση του ρυθμού της οργανοληπτικής υποβάθμισης του κοτόπουλου με αποτέλεσμα ο χρόνος διατηρησιμότητας να μειώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας από τους 0 στους 10 °C.

Με βάση την οργανοληπτική αξιολόγηση, ο χρόνος ζωής των δειγμάτων αναφοράς (control), που συσκευάστηκαν αερόβια, ήταν 13, 7 και 4 ημέρες για τους 0, 5 και 10 °C, αντίστοιχα. Η συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας επέκτεινε την διατηρησιμότητα του κοτόπουλου κατά 7 και 2 ημέρες στους 0 και 5 °C αντίστοιχα, σε σχέση με το δείγμα αναφοράς, ενώ δεν παρατηρήθηκε επέκταση στους 10 °C. Επίσης, ο συνδυασμός πηκτίνης – αντιμικροβιακού αύξησε τον χρόνο ζωής του κοτόπουλου κατά 7 και 3 ημέρες στους 0 °C, κατά 2 και 1 ημέρες στους 5 °C και κατά 1 και 0 ημέρες στους 10 °C, για το citrox και την γλυκονο-δ- λακτόνη, αντίστοιχα. Ταυτόχρονα, αντίστοιχη επέκταση παρουσιάστηκε και κατά τον μικροβιολογικό

έλεγχο. Επίσης, το pH, το χρώμα (ΔΕ) και η φωτεινότητα (L) δεν επηρεάστηκαν σημαντικά με τις παραπάνω μεθόδους συσκευασίας σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς για όλες τις θερμοκρασίες.

Συμπερασματικά, η συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας καθώς και η επικάλυψη εδώδιμης μεμβράνης πηκτίνης μήλου – αντιμικροβιακού επέκτειναν την διατηρησιμότητα του κοτόπουλου, ιδιαίτερα στην θερμοκρασία των 0 °C, αποτελώντας σε συνδυασμό με την ψύξη σημαντικά εμπόδια στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών και κατ' επέκταση στην οργανοληπτική υποβάθμιση των προϊόντων πουλερικών.

Περιεχόμενα

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	5
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	7
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	13
1. ΚΡΕΑΣ ΚΑΙ ΠΟΥΛΕΡΙΚΑ	15
1.1 Εισαγωγή.....	15
1.2 Θρεπτική αξία πουλερικών	15
1.2.1 Γενικά.....	15
1.2.2 Πρωτεΐνες	15
1.2.3 Λίπη	16
1.2.4 Υδατάνθρακες.....	16
1.2.5 Βιταμίνες και μέταλλα.....	16
1.3 Μεταθανάτιες μεταβολές πουλερικών	16
1.3.1 Νεκρική ακαμψία.....	16
1.3.2 Ωρίμανση ή σίτεμα	17
1.3.3 Σήψη	17
1.4 Μεταφορά πουλερικών	18
1.5 Επεξεργασία πουλερικών	18
1.6 Αλλοιώσεις πουλερικών κατά τη διάρκεια της συντήρησης.....	19
1.6.1 Οξειδωση λιπιδίων.....	20
1.6.2 Μεταβολές στο Άρωμα και τη Γεύση των πουλερικών	20
1.6.3 Μεταβολές στο Χρώμα των πουλερικών.....	21
1.7 Αλλοιώσεις πουλερικών κατά τη συντήρησή τους σε κατάψυξη	23
2. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΚΡΕΑΤΟΣ ΚΑΙ ΠΟΥΛΕΡΙΚΩΝ	27
2.1 Γενικές αρχές μικροβιολογίας τροφίμων	27
2.2 Παράγοντες ανάπτυξης των μικροοργανισμών στα τρόφιμα	28
2.2.1 Θρεπτικά συστατικά του υποστρώματος.....	28
2.2.2 Θερμοκρασία αποθήκευσης.....	29
2.2.3 Υγρασία-Ενεργότητα νερού (a_w)	29
2.2.4 pH (ενεργός οξύτητα).....	31

2.2.5 Δυναμικό οξειδοαναγωγής (E _h)	31
2.2.6 Σχετική υγρασία (RH)	32
2.2.7 Παρεμποδιστές	32
2.2.8 Άλλοι παράγοντες	32
2.3 Πηγές μόλυνσης κρέατος- πουλερικών	33
2.4 Παρουσία μικροοργανισμών σε πουλερικά	34
2.4.1 Αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί.....	34
2.4.2 Παθογόνοι μικροοργανισμοί.....	36
2.5. Μικροβιακή αλλοίωση πουλερικών	39
2.6 Φάσεις ανάπτυξης μικροοργανισμών.....	41
2.7 Προρρητική μικροβιολογία	44
3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ ΤΩΝ ΠΟΥΛΕΡΙΚΩΝ	51
3.1 Εισαγωγή.....	51
3.2 Παραδοσιακές μέθοδοι επεξεργασίας πουλερικών	51
3.2.1 Ψύξη κρέατος/πουλερικών.....	51
3.2.2 Κάπνιση	52
3.2.3 Αφυδάτωση.....	52
3.2.4 Αλάτισμα	53
3.2.5 Θερμική επεξεργασία	53
3.2.6 Μαρινάρισμα.....	53
3.3 Νέες μέθοδοι επεξεργασίας και συσκευασίας πουλερικών	54
3.3.1 Συσκευασία πουλερικών σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα.....	54
3.3.2 Αντιμικροβιακοί παράγοντες	54
3.3.3 Ακτινοβόλιση.....	60
3.3.4 Ωσμωτική αφυδάτωση	60
3.3.5 Υπερυψηλή πίεση	61
3.4 Η τεχνολογία εμποδίων (hurdle technology) στην επεξεργασία πουλερικών	62
4. ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ.....	65
4.1 Εισαγωγή.....	65
4.2 Χρησιμοποιούμενα αέρια στην συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας	65

4.2.1 Διοξείδιο του άνθρακα.....	66
4.2.2 Οξυγόνο.....	67
4.2.3 Άζωτο.....	67
4.2.4 Μονοξείδιο του άνθρακα.....	67
4.2.5 Διοξείδιο του θείου.....	68
4.2.6 Αργό.....	68
4.3 Υλικά συσκευασίας περιέκτη.....	68
4.4 Εξοπλισμός για συσκευασία MAP.....	69
4.5 Εφαρμογές συσκευασίας τροποποιημένης ατμόσφαιρας σε προϊόντα πουλερικών.....	69
5. ΕΔΩΔΙΜΕΣ MEMBRANES ΚΑΙ ANTIMΙΚΡΟΒΙΑΚΑ.....	73
5.1 Οι εδώδιμες μεμβράνες και ο ρόλος τους.....	73
5.2 Είδη εδώδιμων μεμβρανών.....	74
5.2.1 Σύσταση και ιδιότητες πρωτεϊνικών μεμβρανών.....	74
5.2.2 Σύσταση και ιδιότητες πολυσακχαρικών μεμβρανών.....	75
5.2.2.1 Πηκτίνες.....	75
5.2.3 Σύσταση και ιδιότητες λιπαρών μεμβρανών.....	76
5.3 Εισαγωγή αντιμικροβιακών σε εδώδιμες μεμβράνες.....	77
5.4 Εφαρμογές των εδώδιμων μεμβρανών με προσθήκη αντιμικροβιακού σε προϊόντα κρέατος και πουλερικών.....	77
6. ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΚΡΕΑΤΟΣ.....	81
6.1 Εισαγωγή.....	81
6.2 Χρώμα και εμφάνιση του κρέατος.....	81
6.3 Άρωμα και οσμή του κρέατος.....	82
6.4 Γεύση και νοστιμάδα του κρέατος.....	83
6.5 Τρυφερότητα/σκληρότητα.....	83
7. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ/ΥΛΙΚΑ - ΜΕΘΟΔΟΙ.....	85
7.1 Σκοπός.....	85
7.2 Μεταφορά και προετοιμασία δειγμάτων.....	85
7.3 Στάδια διεξαγωγής μικροβιολογικού ελέγχου.....	86
7.4 Μέτρηση pH.....	91

7.5 Μέτρηση χρώματος.....	91
7.6 Οργανοληπτικός έλεγχος δειγμάτων	93
7.7 Στατιστική επεξεργασία	96
8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ	97
8.1 Μικροβιακή ανάλυση δειγμάτων	97
8.1.1 Ολική μικροβιακή χλωρίδα	97
8.1.2 Μοντέλο Arrhenius για την ολική μικροβιακή χλωρίδα	101
8.1.3 Ψευδομονάδες	104
8.1.4 Μοντέλο Arrhenius για τις ψευδομονάδες	108
8.1.5 <i>Brochothrix Thermosphacta</i>	110
8.1.6 Μοντέλο Arrhenius για τις <i>Brochothrix Thermosphacta</i>	114
8.1.7 Γαλακτικά βακτήρια	116
8.1.8 Μοντέλο Arrhenius για τα γαλακτικά βακτήρια	119
8.2 Χρώμα των δειγμάτων	122
8.3 Σύσταση αερίων των δειγμάτων	125
8.4 Μέτρηση pH	129
8.5 Οργανοληπτικός έλεγχος των δειγμάτων	131
8.5.1 Όψη νωπού (μη μαγειρεμένου) προϊόντος.....	132
8.5.2 Μοντέλο Arrhenius για την όψη.....	135
8.5.3 Οσμή νωπού (μη μαγειρεμένου) προϊόντος	141
8.5.4 Μοντέλο Arrhenius για την οσμή.....	145
8.5.5 Σκληρότητα μαγειρεμένου προϊόντος.....	147
8.5.6 Γεύση μαγειρεμένου προϊόντος.....	149
8.5.7 Μοντέλο Arrhenius για την γεύση.....	152
8.5.8 Γενική εντύπωση του προϊόντος	155
8.5.9 Μοντέλο Arrhenius για την γενική εντύπωση	158
8.6 Προσδιορισμός διατηρησιμότητας των δειγμάτων	160
9. ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ.....	165
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	167

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα προϊόντα κρέατος και πουλερικών αποτελούν μια σημαντική πηγή θρεπτικών συστατικών για την διατροφή του ανθρώπου εδώ και πάρα πολλά χρόνια. Ειδικότερα, τα προϊόντα πουλερικών παρουσιάζουν υψηλή διατροφική αξία και χαρακτηρίζονται από υψηλό πρωτεϊνικό περιεχόμενο και χαμηλότερη περιεκτικότητα σε λιπαρά σε σχέση με το κόκκινο κρέας.

Τα τελευταία χρόνια οι απαιτήσεις των καταναλωτών για ποιοτικότερα και ασφαλέστερα τρόφιμα ολοένα και αυξάνονται. Τα νωπά προϊόντα κρέατος και πουλερικών συγκαταλέγονται στην κατηγορία υψηλής απαίτησης όσον αφορά στην ποιότητα και την ασφάλεια από τους καταναλωτές. Προς απάντηση, η βιομηχανία τροφίμων, υποστηριζόμενη από την ερευνητική κοινότητα, προσπαθεί να βελτιώσει την ποιότητα και την ασφάλεια των προϊόντων κρέατος και πουλερικών και να ανακαλύψει νέες μεθόδους διατήρησής τους, καλύπτοντας τις απαιτήσεις των καταναλωτών. Η έννοια της ποιότητας του κρέατος των πουλερικών περιλαμβάνει ενδογενή ποιοτικά χαρακτηριστικά, όπως το χρώμα, την οσμή, την σκληρότητα, την εμφάνιση και τη γεύση καθώς και χαρακτηριστικά όπως την υγιεινή και την ασφάλεια.

Η συσκευασία των προϊόντων κρέατος και πουλερικών σε συνδυασμό με την ψύξη στοχεύει στην αποφυγή της μόλυνσης από μικροοργανισμούς καθώς και στην καθυστέρηση μικροβιολογικής, χημικής, ενζυμικής και οργανοληπτικής υποβάθμισης. Για την συντήρηση καθώς και την επέκταση της διατηρησιμότητας εφαρμόζονται ακόμα οι παραδοσιακές μέθοδοι όπως η ψύξη, η κατάψυξη, η αφυδάτωση, το αλάτισμα, η κάπνιση, το μαρινάρισμα καθώς και νέες μέθοδοι όπως η υπερυψηλή πίεση, η ωσμωτική αφυδάτωση, η ακτινοβολήση, η συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας και η προσθήκη αντιμικροβιακών. Όσον αφορά στη συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, ο συνδυασμός κατάλληλων αερίων όπως διοξείδιο του άνθρακα, οξυγόνο και άζωτο επιφέρει σημαντικά πλεονεκτήματα καθώς επιβραδύνει την μικροβιακή αλλοίωση λόγω της παρουσίας του διοξειδίου του άνθρακα και διατηρεί τη φρεσκάδα και το κόκκινο χρώμα του κρέατος. Επίσης, υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον για την εύρεση υλικών με δυνατότητα σχηματισμού μεμβρανών οι οποίες θα είναι εδώδιμες. Οι εδώδιμες μεμβράνες χρησιμοποιούνται για την προστασία και την μείωση του ρυθμού υποβάθμισης ενός τροφίμου διότι αποτελούν φράγμα στην διάχυση του οξυγόνου και της απώλειας της υγρασίας. Πολλές φορές χρησιμοποιούνται συνδυαστικά και με άλλες κοινές συσκευασίες τροφίμων αυξάνοντας έτσι την αντίσταση στην μεταφορά αερίων και την απώλεια υγρασίας. Τα τελευταία χρόνια, οι μελέτες της προσθήκης αντιμικροβιακών παραγόντων στις εδώδιμες μεμβράνες όλο και αυξάνουν με αποτέλεσμα την συνδυαστική τους δράση για την επέκταση της διατηρησιμότητας των τροφίμων. Εκτός από την συνδυαστική τους δράση, η προσθήκη αντιμικροβιακών στις εδώδιμες μεμβράνες έχει ως πλεονέκτημα την σταδιακή απελευθέρωση του αντιμικροβιακού στο τρόφιμο με αποτέλεσμα

να μην προκαλούνται αλλαγές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που μπορεί να επιφέρει η απευθείας εφαρμογή των αντιμικροβιακών.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκε η επίδραση της συσκευασίας τροποποιημένης ατμόσφαιρας και της επικάλυψης εδώδιμης μεμβράνης πηκτίνης μήλου με προσθήκη αντιμικροβιακών citrox ή γλυκονο-δ-λακτόνης στην διατηρησιμότητα και την ποιότητα νωπού τεμαχισμένου κοτόπουλου και συγκεκριμένα σε μπούτι κοτόπουλου. Ειδικότερα, πραγματοποιήθηκε έλεγχος της αλλοίωσης που προκαλείται υπό ψύξη από τους σημαντικότερους αλλοιογόνους μικροοργανισμούς, μέτρηση χρώματος και pH καθώς και οργανοληπτική εξέταση των δειγμάτων με σκοπό να μελετηθεί η οργανοληπτική υποβάθμιση σε θερμοκρασίες συντήρησης 0, 5 και 10 °C.

Τέλος, η επιλογή του συγκεκριμένου μέρους τεμαχισμένου νωπού κοτόπουλου έγινε εξαιτίας της μεγάλης ζήτησης και κατανάλωσης του σε χώρους μαζικής εστίασης όπως στρατόπεδα, νοσοκομεία, εστιατόρια κ.α καθώς επίσης και της έλλειψης αναφορών από τη βιβλιογραφία λόγω του ότι οι μελέτες νέων μεθόδων συσκευασίας έχουν επικεντρωθεί σε φιλέτα στήθους κοτόπουλου ή σε τεμαχισμένο κοτόπουλο χωρίς την παρουσία δέρματος που αποτελεί σημαντικό φορέα μικροοργανισμών. Επομένως, η μελέτη της επίδρασης των παραπάνω μεθόδων στην επέκταση της διατηρησιμότητας και στην ποιότητα σε νωπό μπούτι κοτόπουλο παρουσιάζει εξαιρετικό ενδιαφέρον για τη βιομηχανία καθώς η επέκταση του χρόνου ζωής και η βελτίωση της ποιότητας του κοτόπουλου επιφέρει σημαντικά οικονομικά πλεονεκτήματα με ταυτόχρονη ικανοποίηση των συνεχών απαιτήσεων του καταναλωτή.

1. ΚΡΕΑΣ ΚΑΙ ΠΟΥΛΕΡΙΚΑ

1.1 Εισαγωγή

Κρέας είναι τα αυτοτελή σώματα ή τμήματα σωμάτων των θερμόαιμων ζώων και πτηνών, που είναι κατάλληλα για την διατροφή του ανθρώπου και διατίθενται στην κατανάλωση όπως έχουν, χωρίς καμιά επεξεργασία εκτός από την ψύξη. Το κρέας λαμβάνεται με θανάτωση των ζώων, που άλλοτε γίνεται με τρόπο ώστε το περισσότερο μέρος του αίματος να παραμείνει στο σώμα και άλλοτε γίνεται με τρόπο ώστε το περισσότερο μέρος του αίματος να απομακρυνθεί, όπως στην συνήθη περίπτωση σφαγής με αποκοπή της καρωτίδας. Τα κρέατα διακρίνονται συνήθως σε ερυθρά, λευκά και μελανά.

Τα πουλερικά θεωρούνται λευκό κρέας. Το χρώμα του κρέατος πουλερικών παρουσιάζει μεγάλες διαφορές ανάλογα με το είδος, την ηλικία και το μέρος του σώματος από το οποίο προέρχεται. Το κρέας του στήθους έχει ανοιχτότερο χρώμα, ενώ το κρέας των κάτω άκρων είναι περισσότερο σκοτεινό. Οι ιδιότητες και κυρίως η γεύση του κρέατος των πουλερικών επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες όπως η τροφή του ζώου, η ηλικία του, το γένος, η φυλή. Γενικά πάντως έχει μεγάλη θρεπτική αξία, λόγω της μεγάλης περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες. Η παραγωγή κρέατος πουλερικών έχει σήμερα μία έντονα βιομηχανοποιημένη μορφή. Στα πτηνοτροφεία η ανάπτυξη επιλεγμένων ειδών, υπό καθορισμένες συνθήκες διατροφής, θερμοκρασίας και υγρασίας, δίνει μέσα σε 8 εβδομάδες κοτόπουλα βάρους 1,5 περίπου kg. Η γεύση του κρέατος επηρεάζεται πολύ από την παρεχόμενη τροφή και μάλιστα κατά τις τελευταίες προ της σφαγής εβδομάδες (James et al., 2006).

1.2 Θρεπτική αξία πουλερικών

1.2.1 Γενικά

Το κρέας αποτελεί συγκεντρωτική πηγή θρεπτικών συστατικών, απαραίτητων για την ανάπτυξη του ανθρώπινου οργανισμού. Αν και κάποια επιδημιολογικά δεδομένα φέρνουν στην επιφάνεια έναν πιθανό συσχετισμό μεταξύ της κατανάλωσής του και ορισμένων ειδών καρκίνου, καρδιαγγειακών και μεταβολικών ασθενειών, η κατανάλωση κρέατος διαδραμάτισε σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη του ανθρώπινου είδους, κυρίως στην ανάπτυξη του εγκεφάλου και στην πνευματική ανάπτυξη.

1.2.2 Πρωτεΐνες

Το κρέας αποτελεί σημαντική πηγή πρωτεϊνών. Ωστόσο, το πρωτεϊνικό περιεχόμενο του κρέατος ποικίλει σημαντικά. Το μέσο πρωτεϊνικό περιεχόμενο είναι 22%, ωστόσο μπορεί να είναι υψηλό όπως 34,5% στο στήθος κοτόπουλου, ή χαμηλό όπως 12,3% στο κρέας πάπιας. Είναι επίσης σημαντικό να σημειωθεί ότι αυτού του είδους οι πρωτεΐνες, παρουσιάζουν υψηλή ποιότητα, όπως υπολογίζεται από τη βιολογική αξία και τον συντελεστή πεπτικότητας. Η υψηλότερη βαθμολογία 1,00 έχει αποδοθεί στο ασπράδι του αυγού και στις πρωτεΐνες

καζεΐνης. Το κρέας βαθμολογείται με 0,92, ενώ τα όσπρια τα οποία θεωρούνται σημαντική πηγή πρωτεϊνών στις χορτοφαγικές δίαιτες, η βαθμολογία τους κυμαίνεται από 0,57 έως 0,71 και η γλουτένη σίτου κατηγοριοποιείται με μία βαθμολογία 0,25 .

1.2.3 Λίπη

Το δέρμα αποτελεί την κύρια πηγή λίπους στο κρέας των πουλερικών, ενώ το περιεχόμενο λίπος σε τεμάχια κοτόπουλου και γαλοπούλας προς πώληση, κυμαίνονται από 1 έως 15%, όμως τεμάχια τα οποία περιλαμβάνουν δέρμα, παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές (Pereira and Vicente, 2013). Το περιεχόμενο σε λίπος των πουλερικών είναι κυρίως μονοακόρεστα λιπαρά οξέα, κατόπιν κορεσμένα και πολυακόρεστα. Τα πουλερικά είναι σημαντικά πλουσιότερα σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα συγκριτικά με το χοιρινό, το αρνίσιο και το μοσχαρίσιο κρέας (Bellisle et al., 1997).

1.2.4 Υδατάνθρακες

Το κρέας και τα προϊόντα κρέατος δεν αποτελούν σημαντικές πηγές υδατανθράκων. Σχεδόν όλοι οι διατροφικοί υδατάνθρακες προέρχονται από φυτικές πηγές. Ο μόνος φυσικός υδατάνθρακας που υπάρχει στα ζωικής προέλευσης τρόφιμα είναι το γλυκογόνο και σε ορισμένα επεξεργασμένα με σάκχαρα προϊόντα κρέατος, ενδεχομένως να έχει προστεθεί σακχαρόζη ή γλυκόζη (Bellisle et al., 1997).

1.2.5 Βιταμίνες και μέταλλα

Το κρέας είναι μία άριστη πηγή πολλών βιταμινών και μετάλλων. Στα πουλερικά, το στήθος κοτόπουλου αποτελεί μία ιδιαίτερα καλή πηγή νιασίνης (100g καλύπτουν το 56% της συνιστώμενης ημερήσιας δόσης, ΣΗΔ) και βιταμίνης Β6 (27% της ΣΗΔ) ενώ τα 100 g στήθους γαλοπούλας καλύπτουν το 31% της ΣΗΔ σε νιασίνη και το 29% της ΣΗΔ σε βιταμίνη Β6 (Pereira and Vicente, 2013). Επίσης, τα πουλερικά έχουν χαμηλό περιεχόμενο σε σίδηρο, ενώ το περιεχόμενο σε σημαντικά μέταλλα, όπως Ca, Fe, P, K, Zn και Cu , του κρέατος γαλοπούλας είναι λίγο υψηλότερο σε σχέση με εκείνο του κοτόπουλου (Bellisle et al., 1997). Τέλος, εμπεριέχουν νερό σε περιεκτικότητα περίπου 70% (Potter et al., 1995).

1.3 Μεταθανάτιες μεταβολές πουλερικών

1.3.1 Νεκρική ακαμψία

Η νεκρική ακαμψία είναι μία από τις πιο σημαντικές φυσικοχημικές αλλαγές που συμβαίνουν στους σκελετικούς μύες κατά τη σχετικά κοντινή μεταθανάτια περίοδο και διαρκεί για ένα ορισμένο χρονικό διάστημα, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της σκληρότητας του κρέατος. Το στάδιο της ακαμψίας συνήθως περιλαμβάνει δύο διακριτές φάσεις: μία φάση καθυστέρησης και μία ταχεία φάση. Αφότου η ακαμψία φτάσει στο μέγιστο, ο μύς υποβάλλεται σε μία μεγαλύτερη περίοδο λύσης (Li et al., 2010). Η ταχεία μεταθανάτια γλυκόλυση και οι υψηλές τιμές του pH είναι αποτέλεσμα του στρέψ στο οποίο υποβλήθηκε το

πτηνό πριν και κατά τη διάρκεια της σφαγής (Aliani et al., 2013). Το γαλακτικό οξύ που σχηματίζεται κατά τη γλυκόλυση παραμένει στο μυ μειώνοντας έτσι το pH από 6,5 σε λιγότερο από 5,8. Η έναρξη της νεκρικής ακαμψίας παρατηρείται στο κοτόπουλο μέσα σε 2-4 h (Belitz et al., 2009). Ενώ τα ATP (τριφωσφορική αδενοσίνη), ADP (διφωσφορική αδενοσίνη) και AMP (μονοφωσφορική αδενοσίνη) αποδομούνται ταχέως, η συγκέντρωση του IMP (μονοφωσφορική ινοσίνη) αυξάνεται με γρήγορο ρυθμό και παραμένει υψηλή. Η συγκέντρωση της ινοσίνης, της ριβόζης και της υποξανθίνης αυξάνονται σταδιακά μετά τη σφαγή, όμως η αρχική αύξηση της φωσφορικής ριβόζης, δεν διατηρείται. Η μεγαλύτερη ποσότητα της ριβόζης η οποία είναι παρούσα στο κρέας του κοτόπουλου και η οποία θεωρείται σημαντική για το σχηματισμό του αρώματος και της γεύσης, παραμένει σε μορφή ινοσίνης και IMP. Υπάρχουν ενδείξεις ότι επιπρόσθετα μονοπάτια αποδόμησης της ριβόζης και της φωσφορικής ριβόζης μπορούν να μειώσουν τις συγκεντρώσεις αυτών των πρόδρομων ενώσεων (Aliani et al., 2013).

1.3.2 Ωρίμανση ή σίτεμα

Η νεκρική ακαμψία αρχίζει να λύνεται με την πάροδο του χρόνου. Το διάστημα που μεσολαβεί ως την λύση της εξαρτάται από το είδος του κρέατος και τη θερμοκρασία. Σταδιακά η σκληρότητα του κρέατος ελαττώνεται, οδηγώντας σε προϊόν πιο μαλακό. Το σύνολο των βιοχημικών και φυσικοχημικών μεταβολών που πραγματοποιούνται από τη στιγμή της λύσεως της νεκρικής ακαμψίας μέχρις ότου το κρέας γίνει κατάλληλο για κατανάλωση λόγω της σήψεως, αποτελούν την ωρίμανση ή σίτεμα του κρέατος. Στην πραγματικότητα όμως, η ωρίμανση αρχίζει από τη στιγμή της σφαγής και περιλαμβάνει την οξίνιση και την πτωματική ακαμψία. Κατά την ωρίμανση που είναι μία πολύπλοκη αυτολυτική διεργασία, αυξάνει η ικανότητα συγκρατήσεως νερού, το κρέας γίνεται τρυφερό και αποκτά τη χαρακτηριστική και ευχάριστη γεύση .

Η διάρκεια της ωρίμανσης εξαρτάται από την τηρούμενη θερμοκρασία. Η πρώτη εντύπωση είναι πως με μεγαλύτερη θερμοκρασία μόνο οφέλη θα προκύψουν από τη συντομότερη και κατά συνέπεια λιγότερο κοστοβόρα διακίνηση του κρέατος. Η πραγματικότητα όμως είναι διαφορετική γιατί σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες, αυξάνονται οι κίνδυνοι μικροβιακής ανάπτυξης και χρειάζονται εξαιρετικά προσεχτικές συνθήκες χειρισμού με προσωπικό πολύ καταρτισμένο (Li et al., 2010).

1.3.3 Σήψη

Με μακρύτερη παραμονή του κρέατος και μάλιστα σε υψηλότερη θερμοκρασία αρχίζει η αποσύνθεσή του που εκδηλώνεται με σκοτεινό χρώμα, εμφάνιση αλκαλικής αντίδρασης και σχηματισμό δύσοσμων ουσιών. Η σήψη προκαλείται κυρίως από μικροοργανισμούς και επιβραδύνεται σημαντικά με τη διατήρηση του κρέατος υπό ψύξη.

1.4 Μεταφορά πουλερικών

Η μεταφορά των πουλερικών πρέπει να γίνεται κατά τρόπο που να μην υφίστανται σωματική και ψυχική καταπόνηση. Η διαδρομή από την εκτροφή στο σφαγείο πρέπει να είναι η συντομότερη δυνατή (ευζωία). Αντίθετα, μεταφορά σε μεγάλες αποστάσεις και διακίνηση διάρκειας περισσότερο από 8 ώρες δημιουργεί σημαντικά προβλήματα στην ποιότητα του κρέατος. Επίσης προβλήματα δημιουργούνται τους θερινούς μήνες λόγω της ζέστης, γι' αυτό και η μεταφορά των πουλερικών κατά την εποχή αυτή γίνεται τις πρώτες πρωινές ή τις νυκτερινές ώρες. Τα πτηνά προκειμένου να αποσταλούν στο σφαγείο, τοποθετούνται σε ειδικούς κλωβούς, ενώ η καταπόνησή τους κατά τη μεταφορά ευνοεί την είσοδο βακτηρίων στο κρέας (Γεωργάκης, 2005).

1.5 Επεξεργασία πουλερικών

Στα σύγχρονα εργοστάσια παραγωγής επεξεργάζονται πάνω από 10.000 πτηνά ανά ώρα. Πρόκειται για εγκαταστάσεις συνεχής γραμμής στις οποίες τα πουλιά επιδέχονται διαδοχικά τα στάδια επεξεργασίας μέσω αλυσίδας. Αρχικά γίνεται η ανάρτηση των πουλερικών από τα πόδια, σε ειδικά άγκιστρα της μεταφορικής αλυσίδας. Η εργασία αυτή συντελείται σε χώρο έξω από την κύρια αίθουσα σφαγής. Στη συνέχεια πραγματοποιείται η αναισθητοποίηση των πουλερικών, η οποία είναι υποχρεωτική και επιτυγχάνεται με χρήση ηλεκτρικού ρεύματος ή μίγματος αερίων. Η αναισθητοποίηση των πτηνών με μίγμα αερίων (τροποποιημένη ατμόσφαιρα) γίνεται συνήθως με δύο εναλλακτικές μεθόδους, τη μέθοδο ενός σταδίου και την αναισθητοποίηση σε δύο στάδια. Στο σύστημα ενός σταδίου (ανοξικές συνθήκες) το αέριο μίγμα αποτελείται από αργό (Ar) και διοξείδιο του άνθρακα (CO₂) ή άζωτο (N₂). Στο δεύτερο σύστημα (σύστημα δύο σταδίων) σε πρώτο στάδιο γίνεται μερική αναισθητοποίηση με αέριο πλούσιο σε οξυγόνο (O₂) και διοξείδιο του άνθρακα (CO₂) και στη συνέχεια σε δεύτερο στάδιο επέρχεται ολική αναισθητοποίηση με χρήση 100% διοξειδίου του άνθρακα (CO₂). Το πλεονέκτημα της χρήσης τροποποιημένης ατμόσφαιρας είναι η αποφυγή της θραύσης των οστών και της δημιουργίας κηλίδων αίματος που πιθανόν να προκαλέσει η αναισθητοποίηση με ηλεκτρικό ρεύμα. Τα πουλερικά πριν αναισθητοποιηθούν πρέπει να βρίσκονται σε ηρεμία και για το σκοπό αυτό διέρχονται αναρτημένα ως έχουν από σκοτεινή σήραγγα, στο τέλος της οποίας αναισθητοποιούνται.

Ακολουθεί η αφαίμαξή τους, με αποκοπή του λαιμού με τη βοήθεια περιστροφικού μαχαιριδίου, εργασία η οποία πραγματοποιείται πάνω από αύλακα 4-5 m περίπου. Μετά την αφαίμαξη, η μεταφορική αλυσίδα με τα πουλερικά εισέρχεται σε άλλο χώρο του σφαγείου στον οποίο γίνεται το ζεμάτισμα και η αποπτίλωση. Ακολουθεί ο εκσπλαχνισμός και ο τεμαχισμός των πουλερικών, ενώ τα σφάγια επιθεωρούνται αμέσως μετά τον εκσπλαχνισμό τους. Άμεσα συνδεδεμένη με τη διαδικασία του τεμαχισμού είναι η συσκευασία, η ψύξη και η κατάψυξη. Εδώ πρέπει να τονισθεί ότι οι χειρισμοί τους οποίους υφίστανται τα πουλερικά κατά τον τεμαχισμό, παρά τη μηχανοποίηση της επεξεργασίας, επιβαρύνουν σημαντικά το

μικροβιακό τους φορτίο. Αυτό αποτελεί ένα λόγο για τον οποίο η ψύξη πρέπει να πραγματοποιείται τάχιστα (Mead, 2004).



Σχήμα 1.1: Γραμμή παραγωγής πουλερικών

Ο χώρος του σφαγείου, χωρίζεται σε δύο τμήματα: στον ακάθαρτο χώρο, στον οποίο γίνονται οι εργασίες της αγκίστρωσης, της αναισθητοποίησης, της αφαίμαξης, της αποπτίλωσης, της αποκοπής της κεφαλής και των άκρων και στο καθαρό τμήμα στο οποίο γίνονται οι εργασίες του εκσπλαχνισμού, της επιθεώρησης των σφαγίων και της ψύξης. Τα δύο τμήματα επικοινωνούν με αυτόματα ανοιγόμενες πόρτες, ενώ η προώθηση των σφαγίων από το ένα τμήμα στο άλλο συντελείται από μικρή δίοδο από την οποία διέρχεται η μεταφορική αλυσίδα με τα άγκιστρα και τα πουλερικά ((Γεωργάκης, 2005),(Mead, 2004)).

1.6 Αλλοιώσεις πουλερικών κατά τη διάρκεια της συντήρησης

Η ποιότητα των τροφίμων αφορά εκείνα τα χαρακτηριστικά του τα οποία τα καθιστούν αποδεκτά από τον καταναλωτή. Η ποιότητα των τροφίμων γενικότερα, άρα και του κοτόπουλου, μεταβάλλεται με την πάροδο του χρόνου με αποτέλεσμα την υποβάθμισή τους. Οι μεταβολές τις οποίες υφίστανται τα πουλερικά κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και αποθήκευσής τους είναι βιοχημικές (ένζυμα), χημικές, φυσικές και μικροβιολογικές μεταβολές, οι οποίες σε συνδυασμό επιδρούν στην ποιότητα και ασφάλεια των τροφίμων.

Οι μικροβιολογικές αλλοιώσεις και οι συνέπειες στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά θα αναλυθούν εκτενέστερα στο υποκεφάλαιο 2.5.

Μετά τη σφαγή τους, τα σφάγια πουλερικών θα πρέπει να ψυχθούν προκειμένου να μειωθεί και να διατηρηθεί η θερμοκρασία του κρέατος κάτω από μία τιμή η οποία θα εξασφαλίζει την υψηλή ποιότητα και την ασφάλεια του προϊόντος. Μόνο μία μέγιστη θερμοκρασία των 4°C πριν από τη μεταφορά ή τον τεμαχισμό τους ορίζεται ότι θα πρέπει να επιτευχθεί όσο το δυνατόν συντομότερα. Το στήθος έχει διαπιστωθεί ότι αποτελεί το δυσκολότερα ψυχόμενο

τμήμα σε ένα σφάγιο κοτόπουλου. Η ψύξη των σφάγιων πουλερικών πραγματοποιείται προκειμένου να παραχθεί ένα ασφαλές προϊόν μειώνοντας τη θερμοκρασία του κρέατος σε ένα σημείο όπου ο ρυθμός ανάπτυξης των αλλοιογόνων μικροοργανισμών να είναι χαμηλός και να αποτρέπεται η ανάπτυξη των παθογόνων μικροοργανισμών. Η ψύξη επιδρά επίσης στους βασικούς δείκτες ποιότητας της γεύσης, του αρώματος, της εμφάνισης και της υφής του κρέατος (James et al., 2006).

1.6.1 Οξειδωση λιπιδίων

Το λίπος δεν παρουσιάζει την ίδια σύνθεση στους διάφορους ιστούς του σώματος των ζώων και έχει βρεθεί ότι στους ιστούς που παρουσιάζουν υψηλή μεταβολική δραστηριότητα αποτελείται περισσότερο από ακόρεστα λιπαρά οξέα, τα οποία είναι αποθηκευμένα για μελλοντικές ανάγκες του οργανισμού. Τα ακόρεστα λίπη οξειδώνονται ευκολότερα από τα κορεσμένα και μεταβολίζονται γρηγορότερα (Ραμαντάνης, 1999). Ιδιαίτερως, το κρέας των πουλερικών είναι πολύ ευαίσθητο στην οξειδωση, εξαιτίας της υψηλής συγκέντρωσης σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Η οξειδωση έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση ή την απώλεια απαραίτητων λιπαρών οξέων, όπως λινελαϊκό και λινολενικό, απώλεια των λιποδιαλυτών βιταμινών και γενικότερα μείωση της θρεπτικής αξίας των λιπαρών ουσιών.

Η οξειδωση είναι η αντίδραση του μοριακού οξυγόνου, στην απλή διεγερμένη του κατάσταση, με υδατάνθρακες και άλλες ενώσεις. Ο μηχανισμός της αντίδρασης είναι ο σχηματισμός ελεύθερων ριζών. Επειδή τα λιπίδια περιέχουν πολλούς διπλούς δεσμούς, όπως τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και τα φωσφολιπίδια, είναι εξαιρετικά ευαίσθητα στην αυτοοξειδωση, η οποία έχει ως επακόλουθο το σχηματισμό ενώσεων όπως αλδεΐδες (π.χ. μηλονική δι(αλδεΐδη)), κετόνες και άλλες ενώσεις, οι οποίες θεωρούνται υπεύθυνες για την ανάπτυξη ανεπιθύμητων αρωμάτων και οσμών και αποτελεί την κυριότερη αιτία υποβάθμισης των τροφίμων (Cortinas et al., 2005).

1.6.2 Μεταβολές στο Άρωμα και τη Γεύση των πουλερικών

Ο όρος 'flavor' αποτελεί μια από τις παραμέτρους της ποιότητας του κρέατος κοτόπουλου. Τόσο η γεύση όσο και η οσμή συνεισφέρουν στον όρο 'flavor' του κοτόπουλου. Ο συνδυασμός των αισθήσεων όπως γλυκό, ξινό, αλμυρό, πικρό, δημιουργεί το άρωμα του προϊόντος. Τα λίπη και έλαια προκαλούν δυσοσμία εξαιτίας της αυτοοξειδωσής τους. Οι αλδεΐδες και οι κετόνες είναι τα κύρια προϊόντα της αυτοοξειδωσης και παρουσία αυτών των ενώσεων, κυρίως όταν οι συγκεντρώσεις τους είναι σημαντικά υψηλές, τα τρόφιμα εμφανίζουν οσμές που θυμίζουν μπογιά, λίπος, μέταλλο, χαρτί και κερί. Όμως, πολλά από τα επιθυμητά αρώματα των μαγειρεμένων και επεξεργασμένων τροφίμων προέρχονται από μέτριες συγκεντρώσεις των παραπάνω ενώσεων (Μπαδέκα, 2004).

Συστατικά, όπως οι πρωτεΐνες, τα πεπτιδία, τα αμινοξέα και τα νουκλεοτίδια, συνεισφέρουν στην γεύση του κρέατος των πουλερικών. Τα περισσότερα βρίσκονται συνήθως σε

συγκεντρώσεις χαμηλότερες από την ελάχιστη συγκέντρωση που απαιτείται για να προσδώσουν την αντιληπτή γεύση, γεγονός που δείχνει ότι απαιτείται να υπάρξει συνεργιστική δράση μεταξύ των παραπάνω ενώσεων για το επιθυμητό αποτέλεσμα. Σε διάφορες μελέτες, όπου έγινε προσπάθεια απομόνωσης των συστατικών, βρέθηκε ότι τα σημαντικότερα συστατικά υπεύθυνα για την αλμυρή γεύση ήταν το γλουταμινικό οξύ, ενώ για την αίσθηση αλμυρού, πικρού και γλυκού υπεύθυνα ήταν τα ιόντα καλίου. Κατά το μαγείρεμα των πουλερικών, η συγκέντρωση των σακχάρων, των αμινοξέων και των νουκλεοτιδίων μειώνεται, με αποτέλεσμα τις μεταβολές στην γεύση και την οσμή των πουλερικών.

Τα περισσότερα συστατικά που συνεισφέρουν στο άρωμα/ γεύση των πουλερικών, σχηματίζονται κατά την διάρκεια της επεξεργασίας τους. Αυτό είναι εμφανές από το γεγονός ότι τα φρέσκα πουλερικά έχουν διαφορετικό άρωμα/ γεύση από τα επεξεργασμένα. Περισσότερα από 500 τέτοια συστατικά έχουν ανιχνευτεί. Από τις σημαντικότερες αντιδράσεις που συνεισφέρουν στην ανάπτυξη αρώματος στα πουλερικά είναι η αντίδραση Maillard και η οξειδωση των λιπών. Η αντίδραση Maillard, είναι η αντίδραση μεταξύ των αμινοξέων (δομικό συστατικών των πρωτεϊνών) και σακχάρων (γλυκόζη, φρουκτόζη ή λακτόζη). Η αντίδραση αυτή έχει σαν αποτέλεσμα τον σχηματισμό περισσότερων από 100 πτητικών προϊόντων. Η οξειδωση των λιπαρών οξέων συνεισφέρει στην ανάπτυξη επιθυμητών αρωμάτων και γεύσεων, αλλά μπορεί να προκαλέσει και τη δημιουργία δυσάρεστων οσμών.

Συνολικά, η γεύση και το άρωμα των πουλερικών επηρεάζονται από ένα πλήθος ενώσεων, όπως αμινοξέων, σακχάρων, λιπιδίων, καθώς και άλλων παραγόντων (θερμοκρασίας επεξεργασίας, pH κλπ.). Επιπλέον, οι μέθοδοι μαγειρέματος έχουν σημαντική επίδραση στο άρωμα και την γεύση των πουλερικών (Barbut, 2014).

1.6.3 Μεταβολές στο Χρώμα των πουλερικών

Το χρώμα ενός προϊόντος κρέατος είναι μία από τις βασικότερες παραμέτρους από την οποία εξαρτάται η καταναλωτική αποδοχή και η ποιότητά του. Ο αποχρωματισμός του κρέατος μπορεί να οφείλεται σε φυσικές, μικροβιολογικές και χημικές μεταβολές (Reid, 1999). Η κυριότερη φυσική μεταβολή είναι η υποβάθμιση του προϊόντος ως αποτέλεσμα της κατάψυξης/ απόψυξης. Είναι επίσης δυνατό να προκληθεί αποχρωματισμός ως αποτέλεσμα της μικροβιακής ανάπτυξης των αερόβιων βακτηρίων (ψευδομονάδες), τα οποία έχουν συνδεθεί με την αμαύρωση του ακατέργαστου κρέατος, όταν βρίσκονται στη λογαριθμική φάση ανάπτυξης. Χημικές μεταβολές στο ακατέργαστο κρέας, όπως η πρωτεόλυση, η οξειδωση, η υδρόλυση, οι μεταβολές στο pH και η ενζυμική δράση είναι επίσης σημαντικοί παράγοντες που έχουν επιπτώσεις στο χρώμα του ακατέργαστου κρέατος (Reid, 1999).

Το κόκκινο/ καφέ χρώμα του κρέατος οφείλεται στην μυογλοβίνη και τα παράγωγά της. Δύο είναι οι κυριότερες χρωστικές, η αιμογλοβίνη και η μυογλοβίνη. Η πρώτη βρίσκεται στα κύτταρα του αίματος και γι' αυτό καλείται χρωστική του αίματος, ενώ η δεύτερη είναι μικρότερο μόριο και βρίσκεται στον μυϊκό ιστό. Η μυογλοβίνη ενεργεί ως προσωρινή αποθήκη

για το οξυγόνο που φέρεται από την αιμογλοβίνη. Η αιμογλοβίνη αποτελείται από τέσσερις βασικές υπομονάδες μυογλοβίνης. Η μυογλοβίνη είναι ένα σύνθετο μόριο το οποίο αποτελείται από δύο κύρια μέρη: το πρωτεϊνικό τμήμα το οποίο καλείται γλοβίνη και το μη-πρωτεϊνικό τμήμα που καλείται δακτύλιος της αίμης. Το τελευταίο έχει ένα άτομο σιδήρου στο κέντρο του και είναι υπεύθυνο για τον δεσμό με διάφορα συστατικά, όπως είναι το οξυγόνο. Η κατάσταση του σιδήρου και το είδος των στοιχείων που προσδένονται στον δακτύλιο, επηρεάζουν το χρώμα των κρεάτων.

Ο κύκλος χρώματος των φρέσκων κρεάτων περιλαμβάνει τρεις χρωστικές: την οξυμυογλοβίνη, την μυογλοβίνη και την μεταμυογλοβίνη, οι οποίες συνεχώς αλληλομετατρέπονται. Στην βιομηχανία, το κόκκινο, ζωηρό χρώμα που δίνει την αίσθηση του φρέσκου κρέατος, έχει ιδιαίτερη σημασία. Στην κατάσταση αυτή η χρωστική που συνδέεται με το οξυγόνο καλείται οξυμυογλοβίνη. Το εσωτερικό ενός κομματιού κρέατος είναι καφέ χρώματος, ως αποτέλεσμα της οξειδωμένης κατάστασης της χρωστικής, η οποία στην περίπτωση αυτή καλείται μεταμυογλοβίνη και στην οποία το άτομο του Fe βρίσκεται στην τρισθενή μορφή Fe^{3+} . Αυτό οφείλεται στην έλλειψη οξυγόνου στους μύες, αλλά μπορεί να αντιστραφεί όταν το κρέας εκτίθεται στον αέρα, με βασική προϋπόθεση οι μικροβιακοί πληθυσμοί να μην είναι ιδιαίτερα υψηλοί. Η μεταβολή μεταξύ της μεταμυογλοβίνης και της οξυμυογλοβίνης είναι αντιστρεπτή σε κανονικές συνθήκες. Ωστόσο, όταν οι μικροβιακοί πληθυσμοί είναι υψηλοί, η μετατροπή στην κατάσταση της οξυμυογλοβίνης δεν είναι δυνατή γιατί οι μικροοργανισμοί καταναλώνουν το μεγαλύτερο ποσοστό οξυγόνου και μπορούν να οδηγήσουν σε αποικοδόμηση της χρωστικής. Το συνολικό ποσοστό της μυογλοβίνης στους μύες ποικίλει και αυτό εξαρτάται από το είδος, το φύλο και την ηλικία των πουλερικών (Barbut, 2014).

Πολλά προβλήματα μπορούν να προκύψουν με το χρώμα στα φρέσκα και επεξεργασμένα πουλερικά. Στα φρέσκα κρέατα, ποικίλουν από κηλίδες αίματος σε πρασίνισμα των μυών. Σε επεξεργασμένα πουλερικά παρατηρείται ξεθώριασμα του χρώματος ή κάποιος άλλος αποχρωματισμός. Για τον προσδιορισμό του χρώματος χρησιμοποιούνται οι τιμές της παραμέτρου φωτεινότητα L^* (lightness), οι οποίες κυμαίνονται σε μια κλίμακα από 0 έως 100. Η τιμή 0 αντιστοιχεί στο σκούρο χρώμα ενώ το 100 της κλίμακας στο φωτεινό (άσπρο). Οι κηλίδες αίματος σχετίζονται με τραυματισμό των μυών.

Η απώλεια ικανότητας συγκράτησης νερού έχει σαν αποτέλεσμα την πρόκληση ανοιχτού χρώματος στο κρέας των πουλερικών. Σε ακραία περίπτωση, το κρέας της γαλοπούλας θα είναι πιο ανοιχτόχρωμο από το κανονικό χρώμα με τιμές L^* 55 και 45, αντίστοιχα. Έχει παρατηρηθεί ότι κατά τις περιόδους με υψηλή θερμοκρασία (καλοκαίρι), οι τιμές L^* είναι υψηλότερες από τις αντίστοιχες κατά την διάρκεια των υπόλοιπων εποχών, με χαμηλότερες αυτές κατά τη διάρκεια του χειμώνα. Οι τιμές $L^* > 50$ σχετίζονται με την απώλεια ικανότητας συγκράτησης νερού που εμφανίζει η γαλοπούλα σ' αυτή την περιοχή τιμών (Barbut, 2014).

Το ξεθώριασμα του χρώματος προκαλείται από την έκθεση των πουλερικών στο φως και οδηγεί στην οξειδωση των χρωστικών και τον σχηματισμό οξειδωμένης πορφυρίνης. Το πρόβλημα αυτό είναι ιδιαίτερα εμφανές σε επεξεργασμένα πουλερικά τα οποία είναι συσκευασμένα σε διαφανή συσκευασία. Το προϊόν στην περίπτωση αυτή γίνεται πιο φωτεινό (L^* τιμές υψηλές) και λιγότερο κόκκινο λόγω της μερικής οξειδωσης των χρωστικών. Προστασία από την οξειδωση επιτυγχάνεται είτε με χρήση κατάλληλης συσκευασίας, είτε με την χρήση αντιοξειδωτικών ενώσεων.

Ο δυσχρωματισμός (πρασίνισμα, κιτρίνισμα κ.α.) μπορεί να προκληθεί από μικροοργανισμούς που βρίσκονται στο τρόφιμο. Σε κάποιες περιπτώσεις μικροοργανισμοί, όπως ο *Streptococcus faecium*, μπορούν να παράγουν κίτρινη χρωστική, η οποία αρχικά εμφανίζεται ως μικρές κίτρινες κηλίδες, αλλά στη συνέχεια καλύπτει με ένα κίτρινο χρώμα όλη την επιφάνεια του πουλερικού. Στην περίπτωση των *Streptococci*, συνήθως η επιμόλυνση παρουσιάζεται μετά το μαγείρεμα των πουλερικών. Μικροοργανισμοί, όπως η *Pseudomonas fluorescens*, ενδέχεται να προκαλέσουν την ανάπτυξη ενός φωτεινού πράσινου χρώματος. Η παρουσία πράσινων τμημάτων στην επιφάνεια των πουλερικών, αποτελεί ένδειξη ότι η επιθυμητή ψύξη στο εσωτερικό του κρέατος δεν έχει επιτευχθεί, καθώς και ότι οι μικροοργανισμοί οι οποίοι οξειδώνουν τις χρωστικές, εξακολουθούν να είναι ενεργοί (Barbut, 2014).

Τέλος, όσον αφορά την παραγωγική διαδικασία, το ζεμάτισμα των σφάγιων που έχει πραγματοποιηθεί πριν από την ψύξη, επιδρά σημαντικά στην όψη του προϊόντος. Οι υψηλές θερμοκρασίες ζεματίσματος αφαιρούν την εξωτερική επιφάνεια του δέρματος και καθιστούν τα σφάγια επιρρεπή σε αφυδάτωση και αποχρωματισμό σε περίπτωση που πραγματοποιείται ψύξη ρεύματος αέρος. Επίσης, η μέθοδος ψύξης που χρησιμοποιείται, επηρεάζει το χρώμα του δέρματος και την περιεχόμενη υγρασία στην επιφάνεια του κρέατος (James et al., 2006)

1.7 Αλλοιώσεις πουλερικών κατά τη συντήρησή τους σε κατάψυξη

Η κατάψυξη απαιτεί μία μείωση της θερμοκρασίας σε τιμές αρκετά χαμηλότερες των 0°C (γενικά από τους -18°C και κάτω), πράγμα το οποίο επιτρέπει την επέκταση του χρόνου αποθήκευσης σε μερικούς μήνες. Υποθέτοντας ότι η θερμοκρασία διατηρείται σε χαμηλές τιμές προκειμένου να αποφευχθεί η ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών, η περίοδος αποθήκευσης των κατεψυγμένων προϊόντων κρέατος, εξαρτάται μόνο από την οργανοληπτική ποιότητά τους (Girard, 1992).

Τα κύτταρα των μυών περιλαμβάνουν υψηλές ποσότητες πρωτεϊνών, οι οποίες μπορούν επίσης να επηρεαστούν από οξειδωτικές αντιδράσεις. Η οξειδωση έχει φανεί να επιφέρει αλλαγές στις πρωτεΐνες, όπως τροποποίηση των αλυσίδων αμινοξέων, σχηματισμό πρωτεϊνικών πολυμερών, απώλεια διαλυτότητας, αύξηση των καρβονυλικών ομάδων, αλλαγή στη σύνθεση των αμινοξέων και αύξηση στην πρωτεολυτική ευαισθησία. Οι χημικές

αλλαγές οι οποίες προκαλούνται κατά την οξειδωση των πρωτεϊνών από ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, είναι υπεύθυνες για πολλές βιολογικές τροποποιήσεις, όπως η διαλυτότητα των πρωτεϊνών, ο πρωτεϊνικός κατακερματισμός και η συσσωμάτωση πρωτεϊνών. Οι ελεύθερες ρίζες, αντιδρούν με τις πλευρικές αλυσίδες των πρωτεϊνών προς σχηματισμό πρωτεϊνικών ελευθέρων ριζών, οι οποίες αντιδρούν με το μοριακό οξυγόνο για να σχηματίσουν υπεροξειδικές ρίζες. Έπειτα, τα πρωτεϊνικά υδροϋπεροξειδία διασπώνται σε καρβονυλικά παράγωγα. Ταυτόχρονα η οξειδωση των σουλφιδικών ομάδων μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό πρωτεϊνικών δισουλφιδικών σταυροδεσμών ή στο σχηματισμό ανάμικτων δισουλφιδικών συζεύξεων με γλουταθιόνη, κυστεΐνη ή άλλες χαμηλού μοριακού βάρους μερκαπτάνες (Soyer et al., 2010)

Οι Soyer et al., 2010 εξέτασαν τα αποτελέσματα της θερμοκρασίας κατάψυξης και του χρόνου αποθήκευσης σε κατάψυξη στην οξειδωση των λιπαρών οξέων και πρωτεϊνών σε κρέας στήθους και μπούτι κοτόπουλου. Το κρέας καταψύχθηκε σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες (-7,-12 και -18°C) και έπειτα αποθηκεύτηκε στους -18°C για 6 μήνες.

Στο μπούτι, η μέση τιμή υπεροξειδίου (PV) αυξήθηκε από 1,66 μέχρι 2,52 meq peroxide/kg λίπους μετά από 2 μήνες αποθήκευσης και μειώθηκε στην τιμή 0,51 μετά από 6 μήνες αποθήκευσης. Στο κρέας στήθους, ο δείκτης PV αυξήθηκε από 2,63 σε 5,91 meq peroxides/kg λίπους μετά από 3 μήνες αποθήκευσης και μειώθηκε στην τιμή 2,02 μετά από 6 μήνες αποθήκευσης. Η αύξηση ενδεχομένως να οφειλόταν στον ταχύτερο ρυθμό σχηματισμού υπεροξειδίων κατά τη διάρκεια των τριών πρώτων μηνών αποθήκευσης από ότι στη διάσπαση των υπεροξειδίων σε δευτερογενή προϊόντα οξειδωσης.

Η οξειδωση των δειγμάτων (μετρούμενη ως TBARS) επηρεάστηκε σημαντικά από τη διάρκεια της αποθήκευσης. Το περιεχόμενο σε TBARS και στα δύο μέρη κοτόπουλου αυξήθηκε σημαντικά κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης σε κατάψυξη, με την πιο ταχεία και σημαντική αύξηση να παρατηρείται στους 2 πρώτους μήνες αποθήκευσης στο μπούτι. Κατά την κατάψυξη στους -7°C ο δείκτης TBARS αυξήθηκε από 0,3 έως 1,00 mg MDA/kg κρέατος για το μπούτι και από 0,3 έως 0,9 mg MDA/kg κρέατος για το κρέας στήθους.

Όσον αφορά στην οξειδωση των πρωτεϊνών, η ποσότητα πρωτεϊνικών καρβονυλίων αυξήθηκε σημαντικά κατά την κατάψυξη, με την αύξηση να γίνεται πιο εμφανής στο μπούτι παρά στο κρέας στήθους. Ενδεικτικά, η θερμοκρασία -7°C αύξησε το καρβονυλικό περιεχόμενο από 1,78 σε 2,88 nmol/mg πρωτεΐνης στο κρέας ποδιού και από 1,34 σε 2,14 nmol/mg πρωτεΐνης μετά από 6 μήνες αποθήκευσης. Τέλος, η οξειδωση των πρωτεϊνών συνδέεται επίσης με τη μετατροπή σε σουλφιδικές ομάδες, οι οποίες μετατρέπονται με τη σειρά τους σε δισουλφίδια. Επίσης η θερμοκρασία κατάψυξης και η διάρκεια της αποθήκευσης είχε σημαντικές επιπτώσεις στο σουλφιδικό με το μέσο περιεχόμενο να μειώνεται από 38,82 σε 13,26 nmol/mg πρωτεΐνης (65,8% απώλεια) για το μπούτι και από

27,62 σε 18,29 nmol/mg πρωτεΐνης (33,8% απώλεια) στο κρέας στήθους κατά τη διάρκεια 6 μηνών αποθήκευσης.

2. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΚΡΕΑΤΟΣ ΚΑΙ ΠΟΥΛΕΡΙΚΩΝ

2.1 Γενικές αρχές μικροβιολογίας τροφίμων

Τα τρόφιμα, λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε θρεπτικά συστατικά και της ευκολίας μολύνσεώς τους, είναι πάντοτε φορείς μικροοργανισμών. Τα μικρόβια αυτά συμμετέχουν στις φυσικοχημικές και βιολογικές μεταβολές που συμβαίνουν στα τρόφιμα. Οι μικροοργανισμοί είναι το αντικείμενο της μικροβιολογίας τροφίμων και σύμφωνα με τον Haeckel χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες:

- i. τα ευκαρυωτικά (φύκη, πρωτόζωα, μύκητες, μυξομύκητες) και
- ii. τα προκαρυωτικά (βακτήρια, κυανοπράσινα φύκη, μυκοπλάσματα)

Στο ταξινομικό σύστημα των μικροβίων αναγνωρίζονται οι ακόλουθες ταξινομικές κατηγορίες: τάξη, γένος (genus), είδος (species), στέλεχος (strain). Το είδος παρουσιάζει μια υψηλή βαθμίδα φαινοτυπικής ομοιότητας και σημαντικής ανομοιότητας ως προς άλλα αθροίσματα συγγενών πληθυσμών. Τα διάφορα στελέχη έχουν μεγάλη σημασία για την Μικροβιολογία Τροφίμων. Γένος και είδος συμβολίζονται με μια διώνυμη λατινική ονομασία (σε πλάγια γραφή). Για παράδειγμα στο *Saccharomyces cerevisiae*, ο όρος *Saccharomyces* αντιπροσωπεύει το γένος, ο όρος *cerevisiae* το είδος, ενώ χρησιμοποιούνται περισσότερα από 1000 διαφορετικά στελέχη της ζύμης *S. cerevisiae* ως μαγιές ψωμιού, κρασιού ή μπύρας.

Μια κατηγοριοποίηση των μικροοργανισμών, η οποία είναι πρακτική για τα τρόφιμα, είναι η εξής:

A. Βακτήρια,

B. Ζυμομύκητες,

Γ. Ευρωτομύκητες.

Οι μικροοργανισμοί των τροφίμων μπορεί να είναι είτε ανεπιθύμητοι (παθογόνοι ή αλλοιογόνοι), είτε χρήσιμοι (ζυμώσεις, ωρίμανση).

A. Βακτήρια

Τα βακτήρια είναι η κυριότερη πηγή μόλυνσης και αλλοίωσης των τροφίμων. Πρόκειται για μονοκύτταρους οργανισμούς που πολλαπλασιάζονται με κυτταρική διαίρεση. Είναι ετερότροφοι, χωρίς διακριτό κυτταρικό τοίχωμα, χωρίς χλωροφύλλη και με σφαιρικό, ραβδόμορφο ή σπειροειδές σχήμα. Ανάλογα με τη χρώση τους κατά Gram, διακρίνονται σε θετικά (+) όταν η τελική τους χρώση είναι κυανοϊώδης και σε αρνητικά (-) όταν είναι κόκκινη.

B. Ζυμομύκητες

Οι ζυμομύκητες είναι ετερότροφοι μικροοργανισμοί με ελλειψοειδές, ραβδόμορφο ή σφαιρικό σχήμα. Το μέγεθός τους κυμαίνεται μεταξύ 2 και 6μm, ενώ μπορεί να είναι σπορογόνοι ή

άσποροι. Έχουν καθορισμένο κυτταρικό τοίχωμα, μάλλον δύσκαμπτο, διακριτό και καλώς οργανωμένο πυρήνα και στερούνται μέσων μετακινήσεως (βλεφαρίδες). Ο πολλαπλασιασμός τους πραγματοποιείται με εκβλάστηση, διχοτόμηση ή σπορογονία. Πρόκειται για αερόβιους μικροοργανισμούς, ανθεκτικούς σε χαμηλό pH και ενεργότητα νερού, ευαίσθητους στη θερμοκρασία.

Γ. Ευρωτομύκητες (Μούχλες)

Είναι πολυκύτταροι μικροοργανισμοί νηματοειδούς μορφής. Όσον αφορά την οργάνωσή τους, αποτελούνται από ένα βλαστικό κι ένα καρποφόρο μέρος. Το βλαστικό μέρος περιλαμβάνει διακλαδωμένα νηματοειδή κύτταρα (νηματώδη υφή) που σχηματίζουν μικκύλια. Το καρποφόρο μέρος αποτελεί μια νηματώδη υφή που σχηματίζει σπόρια (γονιδιοφόρος). Οι ευρωτομύκητες, όπως και οι ζυμομύκητες, είναι αερόβιοι, ανθεκτικοί σε χαμηλές θερμοκρασίες, χαμηλό pH και ενεργότητα νερού, και συνήθως ευαίσθητοι σε υψηλές θερμοκρασίες. Οι ευρωτομύκητες που αναπτύσσονται στα τρόφιμα δεν είναι παθογόνοι με εξαίρεση την, κάτω από ακραίες συνθήκες κακής πρακτικής, δυνατότητα παραγωγής από ορισμένους μυκοτοξινών που είναι ιδιαίτερα τοξικές (Tzia et al., 2009).

2.2 Παράγοντες ανάπτυξης των μικροοργανισμών στα τρόφιμα

Γενικά οι παράγοντες που επηρεάζουν τον μεταβολισμό και κατ' επέκταση τον πολλαπλασιασμό των μικροβίων στα τρόφιμα διακρίνονται σε: α) ενδογενείς, που σχετίζονται με τη σύσταση του τροφίμου (pH, E_h , a_w , θρεπτικά συστατικά, αντιμικροβιακοί παράγοντες, ανταγωνιστική χλωρίδα) και β) εξωγενείς, που σχετίζονται με τις συνθήκες συντήρησης (T, RH, P, p_{O_2} , p_{CO_2}). Οι παράγοντες που προσδιορίζουν το ρυθμό πολλαπλασιασμού των μικροβίων, βρίσκονται σε συνεχή μεταξύ τους αλληλεξάρτηση και αλληλεπίδραση. Για κάθε παράγοντα που επηρεάζει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων οποιουδήποτε μικροβίου, έχουν προσδιορισθεί τρεις τιμές, η ελάχιστη (minimum), η άριστη (optimum) και η μέγιστη (maximum) (Tzia et al., 2009).

2.2.1 Θρεπτικά συστατικά του υποστρώματος

Προκειμένου να αναπτυχθούν και να λειτουργήσουν φυσιολογικά, οι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν τα παρακάτω θρεπτικά συστατικά :

- Νερό, η σημασία του οποίου αναφέρεται παρακάτω
- Πηγές άνθρακα
- Πηγή αζώτου
- Βιταμίνες και σχετικούς παράγοντες ανάπτυξης
- Ανόργανα άλατα και ανόργανα συστατικά

Ως πηγές ενέργειας, οι μικροοργανισμοί των τροφίμων χρησιμοποιούν σάκχαρα, αλκοόλες, και αμινοξέα. Κάποιοι μικροοργανισμοί έχουν τη δυνατότητα να χρησιμοποιούν σύνθετους υδατάνθρακες όπως άμυλα και κυτταρίνη ως πηγές ενέργειας αποδομώντας τα σε απλά σάκχαρα. Τα λίπη επίσης χρησιμοποιούνται από τους μικροοργανισμούς, αλλά είναι λίγοι οι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούν για την ανάπτυξή τους αυτές τις ενώσεις.

Οι κύριες πηγές αζώτου που χρησιμοποιούν οι μικροοργανισμοί είναι τα αμινοξέα. Κάποιοι μικροοργανισμοί έχουν τη δυνατότητα να χρησιμοποιούν νουκλεοτίδια και ελεύθερα αμινοξέα, ενώ άλλοι χρησιμοποιούν πεπτίδια και πρωτεΐνες.

Τέλος, οι μικροοργανισμοί παρουσιάζουν απαιτήσεις σε χαμηλές ποσότητες βιταμινών Β, η οποία αφθονεί στα περισσότερα τρόφιμα για εκείνους τους μικροοργανισμούς που αδυνατούν να τις συνθέσουν. Σε αντίθεση με τα Gram- θετικά βακτήρια, τα Gram-αρνητικά βακτήρια και οι μύκητες, μπορούν να συνθέσουν μερικές ή όλες τις απαιτήσεις τους. Συνεπώς, αυτές οι δύο ομάδες μικροοργανισμών μπορούν να εντοπιστούν σε τρόφιμα χαμηλής περιεκτικότητας σε βιταμίνες Β. Τα φρούτα τείνουν να περιέχουν μικρότερες ποσότητες βιταμινών Β από τα κρέατα και σε συνδυασμό με το χαμηλό pH και το θετικό Eh που έχουν εξηγείται η αλλοίωσή τους από μύκητες παρά από βακτήρια (Jay, 2005).

2.2.2 Θερμοκρασία αποθήκευσης

Οι μικροοργανισμοί, ατομικά και ως ομάδα, αναπτύσσονται σε ένα μεγάλο εύρος θερμοκρασιών με ελάχιστη (minimal), άριστη (optimal) και μέγιστη (maximal) θερμοκρασία ανάπτυξης. Ανάλογα με τη θερμοκρασία στην οποία μπορούν να αναπτυχθούν διακρίνονται σε:

- Θερμόφιλα (35 έως 60 °C)
- Μεσόφιλα (5 έως 40 °C)
- Ψυχρότροφα (0 έως 30 °C)
- Ψυχρόφιλα (-5 έως 20 °C) (Tzia et al., 2009)

Άκρως ψυχρόφιλα είναι μερικές ζύμες και μύκητες, που σε ορισμένες περιπτώσεις, ακόμα και σε θερμοκρασίες -10 °C (ζύμες) ή και -18 °C (μύκητες), μπορούν να αναπτυχθούν, προκαλώντας μελανές κηλίδες στο κατεψυγμένο κρέας και στα κατεψυγμένα πουλερικά.

2.2.3 Υγρασία-Ενεργότητα νερού (a_w)

Χωρίς νερό δεν μπορεί να επιβιώσει καμία μορφή ζωής. Έτσι και τα μικρόβια για να αναπτυχθούν, να δραστηριοποιηθούν και να πολλαπλασιαστούν έχουν ανάγκη ορισμένης ποσότητας νερού, το οποίο λαμβάνουν από το περιβάλλον στο οποίο ζουν.

Η ποσότητα επομένως του περιεχόμενου νερού ενός τροφίμου παίζει σημαντικό ρόλο για την ανάπτυξη των μικροβίων. Το κρέας αποτελείται περίπου κατά 75% από νερό. Επομένως, το

κρέας προσφέρει ιδανικές συνθήκες ανάπτυξης στα μικρόβια. Το νερό στο κρέας διακρίνεται σε δύο μορφές:

α) στο χημικώς «ενωμένο» ή «δεσμευμένο νερό» και

β) στο κατά τη φυσικοχημική έννοια «ελεύθερο νερό» το οποίο είναι ακινητοποιημένο με διάφορες δυνάμεις μέσα στην μικροϋφή του σκελετικού μυϊκού ιστού.

Το χημικώς δεσμευμένο νερό δεν έχει καμία σπουδαιότητα για την ανάπτυξη των μικροβίων, αφού δεν είναι διαθέσιμο για χημικές ή ενζυμικές δράσεις και έχει διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες από εκείνες του καθαρού νερού. Το νερό αυτό δεν συμβάλλει στην ανάπτυξη των μικροβίων. Αντίθετα, το «ελεύθερο νερό» έχει πολύ μεγάλη σημασία για την ανάπτυξη των μικροβίων, γιατί διατηρεί τις φυσικοχημικές ιδιότητες του καθαρού νερού. Συνεπώς, η αφαίρεση ή η δέσμευση ενός μεγάλου μέρους του, μπορεί να επιφέρει την αναστολή της ανάπτυξης των μικροβίων. Η αρχή αυτή βρίσκει εφαρμογή σε πολλές επεξεργασίες του κρέατος με σκοπό τη συντήρησή του, όπως η αφυδάτωση, η κατάψυξη, καθώς και η συντήρηση του κρέατος με χημικές ουσίες (με προσθήκη άλατος ή ζάχαρης).

Κατά την αφυδάτωση ένα σημαντικό μέρος του νερού απομακρύνεται από το κρέας με φυσικά ή τεχνητά μέσα, οπότε κάθε μικροβιακή δραστηριότητα αναστέλλεται με ταυτόχρονη θανάτωση πολλών μικροβίων. Κατά την κατάψυξη του κρέατος παρατηρείται το ίδιο φαινόμενο, δηλαδή ένα μεγάλο μέρος του νερού του κρέατος μετατρέπεται σε κρυστάλλους πάγου, οπότε δεν είναι διαθέσιμο για τα μικρόβια. Παράλληλα με την αφυδάτωση, χημικές ενώσεις, όπως το χλωριούχο νάτριο (και άλλα άλατα) και η σακχαρόζη, δεσμεύουν μια ποσότητα νερού από το κρέας.

Η ενεργότητα νερού (a_w) ορίζεται ως το κλάσμα της μερικής τάσης ατμών του νερού του τροφίμου προς της μερική τάση ατμών του απιονισμένου νερού στην ίδια θερμοκρασία και αντιπροσωπεύει το μη δεσμευμένο νερό στα μόρια του τροφίμου. Το επίπεδο του μη δεσμευμένου νερού σχετίζεται με τη χημική, μικροβιακή και ενζυμική σταθερότητα των τροφίμων και αποτελεί κρίσιμο παράγοντα για τη συντήρησή τους. Η ενεργότητα του νερού και όχι η υγρασία του τροφίμου καθορίζει το ελάχιστο όριο του διαθέσιμου νερού για μικροβιακή ανάπτυξη και δράση (Jay, 2005).

Κατά βάση, οι περισσότεροι μικροοργανισμοί συμπεριλαμβανομένων και των παθογόνων, αναπτύσσονται σε τιμές ενεργότητας νερού μεγαλύτερες από 0,70 και συνήθως αναπτύσσονται γρηγορότερα σε τιμές μεταξύ 0,995 και 0,998. Πιο συγκεκριμένα, τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια, ψευδομονάδες και εντεροβακτήρια, αναπτύσσονται σε τιμές a_w άνω των 0,96 και 0,93 αντίστοιχα. Τα περισσότερα γαλακτοβακτήρια και εντεροβακτήρια αναπτύσσονται μέχρι τιμής a_w ίσης με 0,94, με εξαίρεση ορισμένους μικρόκοκκους που αναπτύσσονται σε τιμή μικρότερη από 0,90. Επίσης τα περισσότερα είδη βακίλλων αναπτύσσονται σε τιμές ενεργότητας μεταξύ 0,89 και 0,94. Τέλος, οι μύκητες αναπτύσσονται

με βραδύτερο ρυθμό απ' ότι τα βακτήρια σε υποστρώματα με υψηλές τιμές a_w , διατηρώντας όμως την αποκλειστικότητα για ανάπτυξη σε υποστρώματα και τρόφιμα με ασυνήθιστα χαμηλές τιμές ενεργότητας νερού (Tzia et al., 2009).

2.2.4 pH (ενεργός οξύτητα)

Έχει αποδειχθεί ότι οι περισσότεροι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται καλύτερα σε τιμές pH γύρω στο 7,0 (6,6-7,5), ενώ είναι λίγοι εκείνοι που αναπτύσσονται κάτω από 4. Τα βακτήρια τείνουν να είναι πιο ευαίσθητα σε μεταβολές του pH σε σχέση με τις ζύμες και τους μύκητες. Όσον αφορά στη μέγιστη και ελάχιστη τιμή του pH ανάπτυξης των μικροοργανισμών, δεν θα πρέπει να αποτελούν καθορισμένα όρια, αφού οι πραγματικές τους τιμές είναι γνωστό ότι εξαρτώνται από άλλες παραμέτρους ανάπτυξης. Για παράδειγμα το ελάχιστο pH ορισμένων γαλακτοβάκιλλων έχει παρατηρηθεί ότι εξαρτάται από τον τύπο του οξέος που χρησιμοποιείται για την ανάπτυξή τους, με το κιτρικό, υδροχλωρικό, φωσφορικό και ταρταρικό οξύ να επιτρέπουν την ανάπτυξη σε χαμηλότερη τιμή pH από ό,τι το οξικό και το γαλακτικό οξύ. Επίσης, το pH φρούτων, αναψυκτικών, ξυδιού και κρασιών κυμαίνεται σε τιμές κάτω από το σημείο στο οποίο αναπτύσσονται τα βακτήρια και επομένως, η άριστη ποιότητα αυτών των τροφίμων οφείλεται σε πολύ μεγάλο βαθμό στο pH τους. Έπιπλέον, είναι γνωστό ότι τα φρούτα υπόκεινται σε αλλοιώσεις από ζύμες και μύκητες, γεγονός που οφείλεται στην ικανότητα αυτών των μικροοργανισμών να αναπτύσσονται σε τιμές pH μικρότερες του 3,5, οι οποίες είναι σημαντικά μικρότερες από την ελάχιστη τιμή pH ανάπτυξης για τα περισσότερα αλλοιογόνα και παθογόνα βακτήρια. Τα περισσότερα κρέατα και θαλασσινά, έχουν τιμές pH από 5,6 και πάνω, κάτι το οποίο τα καθιστά ευαίσθητα σε αλλοιώσεις που προκαλούνται από βακτήρια, ζύμες και μύκητες. Τέλος, τα περισσότερα λαχανικά έχουν υψηλότερες τιμές pH από τα φρούτα, με συνέπεια να αλλοιώνονται κυρίως από βακτήρια παρά από μύκητες (Jay, 2005).

2.2.5 Δυναμικό οξειδοαναγωγής (E_h)

Οι μικροοργανισμοί χρειάζονται ενέργεια για την ανάπτυξη και τον μεταβολισμό τους. Η ενέργεια αυτή παράγεται κατά τις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις στις οποίες συμμετέχουν τα διάφορα συστατικά του τροφίμου.

Το οξειδοαναγωγικό δυναμικό (E_h) είναι μια ένδειξη της ικανότητας ενός τροφίμου να προκαλέσει αντιδράσεις οξειδωσης ή αναγωγής. Το δυναμικό οξειδοαναγωγής ενός υποστρώματος είναι μέτρο της τάσεως για λήψη ή απώλεια O_2 που εμφανίζει ένα τρόφιμο. Εξαρτάται από την παρουσία του και μπορεί να οριστεί γενικά ως η ευκολία με την οποία ένα υπόστρωμα χάνει ή αποκτά ηλεκτρόνια. Με βάση τις απαιτήσεις σε τιμές E_h οι μικροοργανισμοί διακρίνονται σε:

- Αερόβιους
- Προαιρετικά αερόβιους ή αναερόβιους

- Αυστηρώς αναερόβιους

- Μικροαερόφιλους

Οι αερόβιοι μικροοργανισμοί απαιτούν θετικές τιμές E_h (οξειδωση) για την ανάπτυξή τους, ενώ οι αναερόβιοι απαιτούν αρνητικές τιμές E_h (αναγωγή). Ανάμεσα στις ουσίες των τροφίμων οι οποίες βοηθούν τη διατήρηση αναγωγικών συνθηκών είναι οι ομάδες $-SH$ στα προϊόντα κρέατος και το ασκορβικό οξύ μαζί με τα αναγωγικά σάκχαρα σε φρούτα και λαχανικά.

Οι μικροοργανισμοί επηρεάζουν το E_h του υποστρώματος κατά την ανάπτυξή τους. Αυτό παρατηρείται κυρίως στους αερόβιους μικροοργανισμούς, οι οποίοι μπορούν να μειώσουν το E_h , ενώ οι αναερόβιοι αδυνατούν. Καθώς οι αερόβιοι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται, το O_2 του μέσου εξαντλείται με συνέπεια τη μείωση του E_h . Αυτό έχει ως αποτέλεσμα ότι το μέσο γίνεται φτωχότερο σε οξειδωτικές και πλουσιότερο σε αναγωγικές ουσίες. Επιπρόσθετα το E_h μπορεί να μειωθεί από αερόβιους μικροοργανισμούς μέσω της παραγωγής ορισμένων μεταβολικών παραπροϊόντων όπως το H_2S , το οποίο έχει την ικανότητα να μειώνει το E_h μέχρι στα $-300mV$ εξαιτίας της αντιδράσής του με το O_2 (Jay, 2005).

2.2.6 Σχετική υγρασία (RH)

Η σχετική υγρασία του περιβάλλοντος αποθήκευσης παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη μικροοργανισμών στα τρόφιμα. Όταν τρόφιμα χαμηλής a_w τοποθετούνται σε συνθήκες υψηλής R.H, τα τρόφιμα προσλαμβάνουν υγρασία μέχρι να επιτευχθεί ισορροπία. Ομοίως, τρόφιμα με υψηλή a_w αποβάλλουν υγρασία όταν τοποθετούνται σε περιβάλλον χαμηλής R.H. (Jay, 2005).

2.2.7 Παρεμποδιστές

Πρόκειται για ουσίες που μπορεί να περιέχονται στα υποστρώματα ανάπτυξης των μικροβίων ή να προστίθενται κατά την επεξεργασία του τροφίμου ώστε να παρεμποδίζουν τον πολλαπλασιασμό τους, όπως η λυσοζύμη (ασπράδι αυγού), παρεμποδιστές ενζύμων (ασπράδι αυγού), νισίνη (νωπό γάλα), πολυπεπτίδια από ζωικούς ιστούς (διάφορες ορμόνες), αντιβιοτικά καθώς και φυσικά και χημικά αντιμικροβιακά τα οποία θα αναφερθούν εκτενέστερα σε επόμενο κεφάλαιο.

2.2.8 Άλλοι παράγοντες

Εκτός από τους προαναφερθέντες, υπάρχει και μια σειρά άλλων παραγόντων που επηρεάζουν την μικροβιακή ανάπτυξη, μερικοί από τους οποίους είναι οι ακόλουθοι:

- Η σύσταση αερίων στο περιβάλλον ανάπτυξης των μικροοργανισμών, και ειδικότερα η περιεκτικότητα σε οξυγόνο και διοξείδιο του άνθρακα

- Ο ανταγωνισμός στην περίπτωση της μικτής μικροχλωρίδας, οπότε επικρατούν οι μικροοργανισμοί που ευνοούνται έναντι άλλων από τις συνθήκες που επικρατούν.
- Τα προϊόντα μεταβολισμού των ίδιων των μικροβίων, τα οποία επηρεάζουν την τιμή του pH ή είναι τοξικά για τα ίδια, και
- Η προσβολή των μικροβίων από φάγους που παρεμποδίζει ή μηδενίζει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων (Tzia et al., 2009).

2.3 Πηγές μόλυνσης κρέατος- πουλερικών

Το κρέας από τη σφαγή του ζώου μέχρι τη κατανάλωσή του υπόκειται σε διάφορες εξωτερικές μολύνσεις. Βασική πηγή μόλυνσης του κρέατος είναι το ίδιο το σφαγείο, με τον αέρα, το νερό, το δάπεδο, τα διάφορα αντικείμενα, καθώς και το τεχνικό ή άλλο προσωπικό να είναι πάντοτε φορείς μικροβίων. Ο κίνδυνος μόλυνσεως του κρέατος από τον αέρα και το νερό στα σημερινά σύγχρονα και άρτια εξοπλισμένα σφαγεία είναι περιορισμένος. Αντίθετα, το δάπεδο του σφαγείου αποτελεί πάντοτε μια σοβαρή απειλή μόλυνσης του κρέατος, γιατί περιέχει πολλούς μικροοργανισμούς και σπόρια μικροβίων. Η μόλυνση του δαπέδου των σφαγείων προκαλείται από τα ίδια τα ζώα, από το εργατοτεχνικό προσωπικό και τέλος από το περιεχόμενο του γαστρεντερικού σωλήνα στις περιπτώσεις που αυτό πέφτει στο δάπεδο. Μια άλλη σοβαρή πηγή μόλυνσης του σφάγιου του κρέατος αποτελούν οι ακαθαρσίες που βρίσκονται σε διάφορα μέρη του δέρματος των ζώων, κυρίως στα άκρα και στις οπλές και μπορεί να είναι φορείς *Salmonella spp.*

Το δέρμα αποτελεί μια από τις σημαντικότερες πηγές μόλυνσης του κρέατος, αφού έρευνες έχουν δείξει ότι τα μικρόβια που απομονώνονται από την επιφάνεια του κρέατος είναι ίδια με εκείνα που συναντώνται στο δέρμα. Γι' αυτό σε πολλά βιομηχανικά σφαγεία, ιδιαίτερα στην Αμερική τα ζώα καθαρίζονται πριν τη σφαγή δια καταιονισμού ή εξαναγκάζονται να περάσουν μέσα από μια πισίνα που περιέχει αντισηπτικά διαλύματα. Τέλος, άλλες σημαντικές πηγές μόλυνσης αποτελούν τα διάφορα αντικείμενα του σφαγείου, όπως μαχαίρια, πριόνια, μεταφορικές ταινίες και άλλα μεταφορικά μέσα, οι διάφοροι χειρισμοί κατά τη φόρτωση και μεταφορά του κρέατος, καθώς και οι χώροι συντήρησης του κρέατος.

Ειδικότερα, το κρέας των πουλερικών μολύνεται ευκολότερα από ότι το κρέας των άλλων κρεατοπαραγωγών ζώων, κυρίως επειδή το δέρμα δεν αφαιρείται κατά την σφαγή, αλλά μένει πάνω στο κρέας. Το δέρμα λειτουργεί σαν φράγμα απέναντι στους μικροοργανισμούς κατά την επεξεργασία με αποτέλεσμα ο ιστός κάτω από το δέρμα να είναι απαλλαγμένος από μικροοργανισμούς. Σταδιακά, όμως, οι μικροοργανισμοί θα αρχίσουν να εισέρχονται στον ιστό προκαλώντας τη μόλυνσή του. Σοβαρή μόλυνση επίσης επέρχεται με τη σφαγή, όπως και με την αποπτίλωση (μάδημα). Η τελευταία γίνεται κατευθείαν όταν το πτηνό είναι ζεστό ή αργότερα με εμβάπτιση του μέσα σε νερό θερμοκρασίας 52-55 °C (ζεμάτισμα). Η μόλυνση προκαλείται επίσης κατά τον εκσπλαχνισμό, και επίσης κατά την εμβάπτιση του πουλερικού μέσα σε παγωμένο νερό που συνηθίζεται πριν από τη συσκευασία. Σήμερα, αντί της

εμβαπτίσεως σε λουτρό, γίνεται πλύσιμο υπό καταιονισμό με παγωμένο νερό. Μετά το πλύσιμο, τα κοτόπουλα περνούν από σήραγγα ξηρού αέρα υπό συνεχή ψύξη για να στεγνώσουν και στη συνέχεια συσκευάζονται. Επιπλέον σοβαρή είναι η μόλυνση κατά την διάρκεια της ψύξης και ακολούθως της συσκευασίας. Ταυτόχρονα πηγή μόλυνσης μπορεί να είναι το ανθρώπινο προσωπικό εξαιτίας λανθασμένων χειρισμών που αφορούν την υγιεινή κατά την επαφή με τα πουλερικά.

Εκτός από τις παραπάνω πηγές μόλυνσης που συγκαταλέγονται στις εξωγενείς πηγές μόλυνσης, το κρέας των πουλερικών μπορεί κάτω από ορισμένες καταστάσεις να είναι μολυσμένο πριν τη σφαγή του ζώου (ενδογενής μόλυνση). Στις περιπτώσεις της ελάττωσης των δυνάμεων αντίστασης του οργανισμού των ζώων (αρρώστια, μυϊκός κάματος, μακρινά ταξίδια, μεγάλη νηστεία, διάφορες εντερίτιδες, υπερδιέγερση, διατήρηση των ζώων σε υπέρθερμους χώρους), μεγάλος αριθμός μικροβίων του πεπτικού συστήματος μπορεί να εισέλθει στο αίμα και από αυτό στο κρέας. Αρκετή ανάπαυση (2-3 ημέρες) των ζώων πριν τη σφαγή και ανάλογη διατροφή συντελούν στη λήψη πρακτικά απαλλαγμένου μικροβίων κρέατος. Επίσης τα κόπρανα των πτηνών είναι πιθανή εστία μόλυνσης παθογόνων μικροοργανισμών ιδιαίτερα κατά την μεταφορά τους στο σφαγείο. Συνεπώς απαιτείται η αφόδευση των πτηνών σε ειδικούς χώρους πριν την εκφόρτωση τους για μεταφορά. Ακόμα ένας πιθανός κίνδυνος για μόλυνση των πτηνών στα πτηνοτροφία είναι η ποιότητα και το είδος της τροφής που κάτω από δυσμενείς συνθήκες αποθήκευσης μπορεί να επιφέρει κινδύνους για την υγιεινή και ασφάλεια των πτηνών (Mead, 2004).

2.4 Παρουσία μικροοργανισμών σε πουλερικά

Οι μικροοργανισμοί που είναι πιθανό να εμφανισθούν και να αναπτυχθούν σε κρέας πουλερικών διακρίνονται σε αλλοιογόνους και παθογόνους μικροοργανισμούς.

Η αλλοιογόνος μικροχλωρίδα του αποθηκευμένου φρέσκου κοτόπουλου σε αερόβιες συνθήκες αποτελείται κυρίως από βακτήρια με επικρατέστερες τις ψευδομονάδες και λιγότερο από ζύμες και μύκητες, με το δέρμα του κρέατος να παρέχει ευνοϊκές συνθήκες για την ανάπτυξή τους. Επίσης, οι κυριότεροι παθογόνοι μικροοργανισμοί που απαντώνται στα πουλερικά είναι οι: *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Shigella* spp., *Bacillus cereus* και *Clostridium perfringens* και *Listeria monocytogenes*.

2.4.1 Αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί

Ψευδομονάδες

Από τους μικροοργανισμούς που είναι παρόντες στο κοτόπουλο, οι ψευδομονάδες αποτελούν τους επικρατέστερους αλλοιογόνους πληθυσμούς σε αερόβιες συνθήκες. Οι ψευδομονάδες είναι αερόβια, μη σπορογόνα, gram- αρνητικά, σε σχήμα ράβδου βακτήρια. Οι ψυχρόφιλες ψευδομονάδες αναγνωρίζονται ως οι πλέον αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί που βασίζονται στα εξωκυτταρικά τους ένζυμα. Αν και η μικροβιακή αλλοίωση μπορεί να

οδηγήσει μόνο στη μη αποδοχή για κατανάλωση, μπορεί επίσης να έχει ως αποτέλεσμα σοβαρές ακόμη και θανατηφόρες ασθένειες. Πολλά είδη ψευδομονάδων παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε αντιμικροβιακούς παράγοντες. Για παράδειγμα, η *Pseudomonas aeruginosa* και άλλα είδη φθοριζουσών ψευδομονάδων είναι ανθεκτικές στις β-λακτάμες όπως : καρβενικιλίνη, τικαρκιλίνη , τρίτης γενιάς κεφαλοσπορίνες, συνθετική μονοκυκλική β-λακτάμη αζτρεονάμη, καρβαπενέμη, αμινογλυκοζιδάσες και κινολόνες (Arslan et al., 2011).

Τα είδη των ψευδομονάδων διαθέτουν μηχανισμούς για να χρησιμοποιούν διάφορες ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων ποικίλων υδατανθράκων, για την ανάπτυξή τους. Η ικανότητα αυτών των βακτηρίων να χρησιμοποιούν τους υδατάνθρακες, συνδέεται συχνά με την παραγωγή βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών, τα επίπεδα των οποίων είναι υψηλά σε τρόφιμα πλούσια σε υδατάνθρακες. Στα πουλερικά, το λίπος είναι διαμοιρασμένο κάτω από το δέρμα και την κοιλιακή κοιλότητα, με την αλλοίωση να εντοπίζεται γενικότερα στο δέρμα, σε δέρμα συνδεδεμένο με λίπος και στα εξωτερικά μέρη των μυών. Η παραγωγή βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών γαλακτωματοποιούν το λίπος του κοτόπουλου και ενισχύουν τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών σε υποστρώματα τροφίμων πλούσια σε λίπη, όπως είναι το κρέας του κοτόπουλου. Στα προχωρημένα στάδια αλλοίωσης των πουλερικών, οι επιφάνειες συνήθως φθορίζουν όταν προσπέσει υπεριώδης ακτινοβολία λόγω της παρουσίας μεγάλων αριθμών του στελέχους *Pseudomonas fluorescent* (Jay, 2005).

Γαλακτικά βακτήρια

Τα γαλακτικά βακτήρια έχουν μεγάλη οικονομική σημασία στη βιομηχανία τροφίμων. Κυριαρχούν στη φυσική μικροχλωρίδα πολλών ζυμωμένων προϊόντων όπου παίζουν ρόλο στη συντήρηση ή στην αλλοίωσή τους. Διαδραματίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στην πεπτική οδό ανθρώπων και ζώων (Stiles and Holzapfel, 1997). Είναι Gram-θετικά βακτήρια, μη σπορογόνα σε σχήμα ράβδων ή κόκκων και στην πλειοψηφία τους προαιρετικά αναερόβια (Adams and Moss, 2007). Τα προϊόντα ζύμωσης των γαλακτικών βακτηρίων χαρακτηρίζονται από τη συσσώρευση οργανικών οξέων, κυρίως γαλακτικού και οξικού οξέος, και την ακολουθούμενη μείωση του pH. Τα επίπεδα και οι αναλογίες των τελικών προϊόντων ζύμωσης τα οποία συσσωρεύονται, εξαρτώνται από τα είδη των οργανισμών που συμμετέχουν, τη χημική σύσταση του περιβάλλοντος καλλιέργειας και τις φυσικές συνθήκες που υπάρχουν κατά τη διαδικασία της ζύμωσης. Οι μικροοργανισμοί που συνδέονται με αυτού του είδους οξυγαλακτικών ζυμώσεων περιλαμβάνουν είδη τα οποία βρίσκονται στα παρακάτω γένη: *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* και *Lactobacillus*, εκ των οποίων το τελευταίο αποτελείται από τις υποομάδες *Betabacterium*, *Streptobacterium* και *Thermobacterium* (Lindgren and Dobrogosz, 1991). Επιπλέον έχει διαπιστωθεί ότι τα γαλακτικά βακτήρια μπορούν να παράγουν τυραμίνη και ισταμίνη στα πουλερικά (Sakaridis et al., 2012)

Η παραγωγή οξέων και η επερχόμενη μείωση του pH επεκτείνει τη λανθάνουσα φάση των ευαίσθητων μικροοργανισμών. Τέλος, έχει βρεθεί ότι το γαλακτικό και το οξικό οξύ λειτουργούν συνεργιστικά ως ανασταλτικοί παράγοντες στην ανάπτυξη της σαλμονέλλας (Lindgren and Dobrogosz, 1991)

Επίσης έχει διαπιστωθεί ότι το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H₂O₂) μπορεί να παραχθεί από τα γαλακτικά βακτήρια παρουσία οξυγόνου μέσω της δράσης ενζύμων. Η παραγωγή του H₂O₂ από τα γαλακτικά βακτήρια εξαρτάται όχι μόνο από τη διαθεσιμότητα του οξυγόνου αλλά και από συγκεκριμένα στελέχη μέσα στο σύστημα όπως ο *Staphylococcus aureus* και τα *Pseudomonas* spp (Lindgren and Dobrogosz, 1991).

Γένος Brochothrix

Τα κύτταρα είναι κανονικά χωρίς διακλαδώσεις ραβδία, διαστάσεων 0,6-0,75 x 1-2 μm, και απαντούν μεμονωμένα υπό μορφήν αλυσίδων μικρού μήκους ή μακρών νηματίων αναδιπλωμένων σε μάζες. Σε γηρασμένες καλλιέργειες είναι δυνατόν να εμφανιστούν κύτταρα σχήματος κόκκου. Τα κύτταρα βάφονται θετικά κατά Gram με εξαίρεση τα γηρασμένα που δεν κατακρατούν τη χρωστική. Τα βακτήρια είναι ασποριογόνα, ανίκανα για κίνηση και μη αιμολυτικά. Είναι αερόβια ή προαιρετικώς αναερόβια, μεσόφιλα, ικανά να αναπτύσσονται σε όλο το εύρος της θερμοκρασίας από 0 έως 30°C, ενώ έχουν άριστο ανάπτυξης στους 20-25°C. Τα κύτταρα είναι ευαίσθητα στη θερμότητα και εξοντώνονται με θέρμανση στους 63°C για 5min. Είναι θετικά ως προς την καταλάση και τα κυτοχρώματα ζυμώνουν τη γλυκόζη σχηματίζοντας L(+) γαλακτικό οξύ, οξικό οξύ, ακετόνη και άλλα προϊόντα.

Έχει αναγνωρισθεί ένα είδος, το *Brochothrix thermosphacta*. Έχει όλα τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του γένους και σχηματίζει οξέα με χρήση πολλών πηγών άνθρακα, με εξαίρεση τη σορβόζη. Τα βακτήρια δεν σχηματίζουν ινδόλη και υδρόθειο, δεν ρευστοποιούν τη ζελατίνη και δεν αποικοδομούν την καζεΐνη. Το είδος *Brochothrix thermosphacta* διαφέρει από τα γαλακτοβακτήρια ως προς την αντίδραση της καταλάσης που είναι θετική.

Το συγκεκριμένο είδος είναι υπεύθυνο για ελαφρά δυσοσμία και για υπόγλυκη γεύση. Αναφέρεται στη βιβλιογραφία ότι είναι ψυχρότροφο και αναπτύσσεται με σχετική άνεση στους 0-5°C και μάλιστα σε pH 5,4 υπό αερόβιες συνθήκες. Το CO₂ στο περιβάλλον που αναπτύσσεται το *Brochothrix thermosphacta* περιορίζει δραστικά τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων με αποτέλεσμα τα κόκκινα κρέατα να συσκευάζονται σε πλαστικούς περιέκτες με χαμηλή διαπερατότητα στα αέρια, μέσα στους οποίους περιέχεται και CO₂ (Jay, 2005).

2.4.2 Παθογόνοι μικροοργανισμοί

Εκτός από τους αλλοιογόνους μικροοργανισμούς είναι πιθανή και η παρουσία παθογόνων μικροοργανισμών στα προϊόντα κρέατος και πουλερικών και οι κυριότεροι παρουσιάζονται συνοπτικά παρακάτω.

Το κρέας των πουλερικών είναι ιδιαίτερα ευπαθές λόγω της εμπλουτισμένης σε θρεπτικά συστατικά σύστασής του, του υψηλού pH (5,5-6,5) και της ενεργότητας νερού (0,98-0,99), τα οποία ενισχύουν την επιβίωση και ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Ο συχνότερος παθογόνος μικροοργανισμός που εμφανίζεται στις βιομηχανίες κρέατος και πουλερικών είναι η *Salmonella*. Άλλοι πιθανοί παθογόνοι μικροοργανισμοί που μπορούν να μολύνουν τα προϊόντα κρέατος και πουλερικών είναι οι *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Shigella* και *Listeria monocytogenes*.

Η σαλμονέλλα είναι ένας σημαντικός παθογόνος μικροοργανισμός, ο οποίος προκαλεί σοβαρά προβλήματα ακόμη και θνησιμότητα. Επίσης, η παρουσία σαλμονέλλας στα τρόφιμα μπορεί να έχει ένα μεγάλο κοινωνικοοικονομικό αντίκτυπο λόγω ασθένειας, κόστους φαρμακευτικής αγωγής, απώλειας παραγωγικότητας, θανάτων, προσφυγής στη δικαιοσύνη, και ανάκλησης λόγω των μολυσμένων προϊόντων.

Η σαλμονέλλα είναι ένα γένος της οικογένειας *Enterobacteriaceae*. Τα συγκεκριμένα βακτήρια είναι gram- αρνητικά, συνήθως κινούμενα, προαιρετικά αναερόβια και μη σπορογόνα και αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες μεταξύ 8 και 45 °C σε ένα εύρος pH 4-9 και απαιτούν ενεργότητες νερού (a_w) πάνω από 0,94. Η σαλμονέλλα είναι θερμοευαίσθητη και γενικά καταστρέφεται σε θερμοκρασίες των 70°C και άνω, είναι ανθεκτική στη ξήρανση και επιβιώνει για χρόνια στη σκόνη και τις ακαθαρσίες. Περιλαμβάνει δύο γένη τα οποία έχουν διαφοροποιηθεί κατά το στάδιο της εξέλιξης, τη *Salmonella enteric* και τη *Salmonella bongori*.

Η σαλμονέλλωση μπορεί να εκδηλωθεί με έναν αριθμό συνδρόμων συμπεριλαμβανομένων της γαστρεντερίτιδας, της βακτηριαιμίας, του τυφοειδούς πυρετού, και των εστιακών λοιμώξεων. Η περίοδος επώασης για την εκδήλωση γαστρεντερίτιδας είναι 6-72 h μετά την κατανάλωση μολυσμένου τροφίμου ή νερού. Ο πυρετός των 38-39 °C είναι συνήθης. Επίσης προκαλείται κοιλιακός πόνος και ήπια έως έντονη δυσφορία. Σε μη περίπλοκες περιπτώσεις, το σφοδρό στάδιο διαρκεί 48 h ωστόσο, η ασθένεια είναι ορισμένες φορές πιο παρατεταμένη με συνεχή διάρροια και χαμηλό πυρετό για 10-14 ημέρες (Mani-López et al., 2012).

Ο *Staphylococcus aureus* είναι Gram - θετικός, προαιρετικά αναερόβιος κόκκος, σφαιρικού ή ωοειδούς σχήματος και διαμέτρου 1μm. Είναι μεσόφιλο βακτήριο με εύρος θερμοκρασίας ανάπτυξης μεταξύ 7 και 48°C με βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης τους 37°C. Επίσης, η ανάπτυξη του μικροοργανισμού ευνοείται σε τιμές pH 6-7, με ελάχιστο και μέγιστο όριο 4,0 και 9,8-10,0 αντίστοιχα (Adams and Moss, 2007). Εάν αναπτυχθεί σε υψηλό επίπεδο ($> 10^5$ μικροοργ./g) μπορεί να παράγει μία πολύ θερμοάντοχη εντεροτοξίνη. Η τροφική δηλητηρίαση προκαλείται από την πρόσληψη της εντεροτοξίνης που παράγεται από κάποια στελέχη του *S.aureus*, συνήθως όταν το τρόφιμο δεν έχει διατηρηθεί αρκετά ζεστό ($>60^\circ\text{C}$) ή αρκετά κρύο ($< 7,2^\circ\text{C}$). Η κύρια πηγή μόλυνσης από τον μικροοργανισμό είναι τα χέρια και η ρινική κιλότητα των ανθρώπων. Ο μικροοργανισμός μπορεί να αναπτυχθεί σε a_w 0,86 και σε υψηλές συγκεντρώσεις άλατος. Επίσης εάν οι συνθήκες επεξεργασίας επιτρέψουν στον

μικροοργανισμό να αναπτυχθεί και να παράγει εντεροτοξίνες, μία μετέπειτα θερμική επεξεργασία θα καταστρέψει τις βλαστικές μορφές του μικροοργανισμού αλλά όχι τη θερμικά σταθερή τοξίνη. Υπάρχουν ενδείξεις ότι οι εντεροτοξίνες πιθανόν να μην απενεργοποιούνται τελείως ακόμη και σε θερμοκρασίες αποστείρωσης (121°C) (Tzia, 2010).

Το *Clostridium perfringens* είναι ένα Gram- θετικό, ραβδόμορφο, σπορογόνο βακτήριο. Αν και αναερόβιο, το *Clostridium perfringens* μπορεί να επιβιώσει και να αναπτυχθεί σταδιακά παρουσία οξυγόνου. Η ανάπτυξή του συμβαίνει σε εύρος θερμοκρασίας από 12 έως 50°C αν και είναι ιδιαίτερα αργή κάτω από τους 20°C, ενώ η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης κυμαίνεται από 43 έως 47°C. Επίσης, το βέλτιστο pH ανάπτυξής του κυμαίνεται από 6,0 έως 7,5, ενώ αναπτύσσεται σε τιμές a_w άνω της 0,95. Τέλος, η ανάπτυξή του αναστέλλεται παρουσία 6% άλατος (Adams and Moss, 2007). Η δηλητηρίαση από το βακτήριο προκαλείται από την κατανάλωση τροφίμων που περιέχουν μεγάλο αριθμό στελεχών του *C. perfringens*, τα οποία είναι ικανά να παράγουν τοξίνη που συνήθως παράγεται στην πεπτική οδό και σχετίζεται με την παραγωγή σπορίων. Η δηλητηρίαση των τροφίμων με το βακτήριο αυτό συχνά σχετίζεται με την κακή θερμική κατεργασία των τροφίμων, όπως π.χ μαγείρεμα μεγάλων κομματιών πουλερικών σε μεγάλα σκεύη που μπορεί να προκαλέσει ανερόβιες συνθήκες. Επίσης η μη ικανοποιητική επαναθέρμανση του τροφίμου πριν την κατανάλωση συμβάλλει στην εμφάνιση κρουσμάτων, αφού οι βλαστικές μορφές των κυττάρων δεν καταστρέφονται εάν η εσωτερική θερμοκρασία του τροφίμου δεν φθάσει στους 70°C. Επειδή τα σπόρια του βακτηρίου είναι θερμοάντοχα, μπορεί να υπάρχει μικρός αριθμός μικροοργανισμών μετά το μαγείρεμα. Μη διατήρηση των μαγειρεμένων τροφίμων πάνω από τους 60°C ή αργή μεταβίβαση της θερμοκρασίας των τροφίμων στη θερμοκρασία ψυγείου μπορεί να επιτρέψει στους μικροοργανισμούς να πολλαπλασιαστούν σε υψηλά επίπεδα που οδηγούν σε δηλητηρίαση (Tzia, 2010).

Το *Bacillus cereus* είναι Gram- θετικό, ραβδόμορφο, σπορογόνο και προαιρετικά αναερόβιο βακτήριο. Το θερμοκρασιακό εύρος ανάπτυξής του κυμαίνεται από 8 έως 55°C με βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης γύρω στους 48-50°C, ενώ το εύρος τιμών pH στο οποίο αναπτύσσεται είναι 4,9-9,3. Τέλος, απαιτεί τιμές ενεργότητας νερού άνω της 0,95 προκειμένου να αναπτυχθεί (Adams and Moss, 2007). Στελέχη του βακτηρίου μπορούν να οδηγήσουν σε δύο τύπους τροφικής δηλητηρίασης, λόγω παραγωγής είτε μίας θερμοευαίσθητης, είτε μίας θερμοάντοχης τοξίνης, με διαφορετικά κάθε φορά συμπτώματα και σχετιζόμενα τρόφιμα για τους δύο τύπους (Tzia, 2010).

Η *Shigella* ανήκει στην οικογένεια των εντεροβακτηρίων και είναι Gram-αρνητικό, ραβδόμορφο, μη σπορογόνο και προαιρετικά αναερόβιο βακτήριο. Αποτελεί μεσόφιλο μικροοργανισμό με θερμοκρασιακό εύρος ανάπτυξης μεταξύ 10-45°C και βέλτιστο εύρος τιμών pH 6-8, ενώ δεν επιβιώνει σε τιμές pH κάτω από 4.5 (Adams and Moss, 2007). Είδη του βακτηρίου αυτού προκαλούν βακτηριακή δυσεντερία. Η ασθένεια σχετίζεται με συνθήκες

κακής προσωπικής και γενικής υγιεινής και με τρόφιμα που δεν έχουν μαγειρευτεί ικανοποιητικά ή έχουν διατηρηθεί σε θερμοκρασίες που επιτρέπουν την ανάπτυξη του μικροοργανισμού.

Τέλος, το γένος *Listeria* αποτελεί ένα από τα βασικότερα βακτήρια που απασχολούν τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας. Τα είδη που ανήκουν στο γένος *Listeria* είναι Gram-θετικά βακτήρια, ραβδόμορφα, τα οποία δεν σχηματίζουν σπόρια. Συγκεκριμένα, η *Listeria monocytogenes* εμφανίζεται συχνά στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας κρέατος. Προκαλεί λιστερίωση, μία ισχυρή και συχνά θανατηφόρα ασθένεια, στην οποία είναι ευάλωτοι συγκεκριμένοι πληθυσμοί (π.χ έγκυες γυναίκες, νεογέννητα, λήπτες μεταμόσχευσης κτλ.) και θνησιμότητα των ισχυρών περιστατικών μπορεί να φτάσει το 70%, αλλά γενικά κυμαίνεται από 25-35%. Ο μικροοργανισμός είναι ψυχρόφιλος και μπορεί να αναπτυχθεί σε θερμοκρασίες ψυγείου, αλλά και να επιβιώσει μετά από διεργασίες παστερίωσης. Η μεγάλη διάδοσή του και η ικανότητά του να πολλαπλασιάζεται σε θερμοκρασίες ψυγείου προκαλώντας σοβαρές ασθένειες, καθιστούν τον μικροοργανισμό αυτό ως έναν ιδιαίτερα σημαντικό κίνδυνο. Τα σημαντικότερα μέτρα ελέγχου του μικροοργανισμού είναι η διατήρηση των ακατέργαστων και επεξεργασμένων τροφίμων σε διαφορετικά τμήματα της εγκατάστασης, η εφαρμογή διεργασιών κατά την επεξεργασία που μειώνουν ή εξαλείφουν τον κίνδυνο, καθώς και ο αποτελεσματικός καθαρισμός και η σωστή υγιεινή για την ελάττωση της ανάπτυξης (Tzia, 2010).

2.5. Μικροβιακή αλλοίωση πουλερικών

Χαρακτηριστικό των αλλοιωμένων πουλερικών, συμπεριλαμβανομένου του κοτόπουλου, είναι η εμφάνιση γλοιώδους ουσίας στην επιφάνειά τους, ενώ από την εντερική κοιλότητα αναδύεται μια όξινη οσμή που οφείλεται εκτός από την ανάπτυξη των παραπάνω βακτηρίων και στην ανάπτυξη εντερόκοκκων.

Μελέτες σχετικές με τα βακτήρια που βρίσκονται σε νωπά πουλερικά έχουν αποκαλύψει πάνω από 25 γένη βακτηρίων. Ωστόσο, όταν η συντήρηση των πουλερικών πραγματοποιείται σε χαμηλές θερμοκρασίες έχει διαπιστωθεί ότι η αλλοίωση οφείλεται κυρίως στο γένος *Pseudomonas*. Σε μια μελέτη στην οποία είχαν απομονωθεί 5.920 γένη από σφάγια πουλερικών βρέθηκε ότι τα *Pseudomonas* αποτελούσε το 30,5%, τα *Acinetobacter* το 22,7%, τα *Flavobacterium* το 13,9% και τα *Corynebacterium* το 12,7% ενώ οι ζύμες και το γένος *Enterobacteriaceae* αποτελούσαν τα μικρότερα ποσοστά. Από τις ψευδομονάδες, οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι το 61,8% παρουσίαζε φθορισμό σε ειδικό θρεπτικό υπόστρωμα (King) και το 95,2% οξειδωνε τη γλυκόζη. Ένας προηγούμενος έλεγχος των ψευδομονάδων σε δείγματα κοτόπουλου που είχαν υποστεί αλλοίωση έδειξε ότι οι *Pseudomonas* που παρουσίαζαν φθορισμό μειώθηκαν από το 34% στο 16% σε σχέση με το αρχικό δείγμα και αναπτύχθηκαν δυσάρεστες οσμές ενώ οι *Pseudomonas* που δεν

παρουσίαζαν φθορισμό αυξήθηκαν από 11% σε 58%. Αντίστοιχα αποτελέσματα παρουσιάστηκαν και σε δείγματα ψαριών που είχαν υποστεί αλλοίωση.

Οι ζύμες/μύκητες δεν επιδρούν σημαντικά στην αλλοίωση των πουλερικών εκτός όταν χρησιμοποιούνται αντιβιοτικά για την καταστολή της ανάπτυξης των βακτηρίων. Συγκεκριμένα, κατά την χρήση αντιβιοτικών οι μύκητες αποτελούν τον κύριο παράγοντα αλλοίωσης. Τα γένη *Candida*, *Rhodotorula*, *Debaryomyces* και *Yarrowia* είναι οι πιο σημαντικές ζύμες που βρίσκονται στα πουλερικά.

Μεταξύ των οσμών που παράγονται γενικά κατά την αλλοίωση, πάρα πολλές οφείλονται σε αλλοιογόνους μικροοργανισμούς που υπάρχουν στα νωπά πουλερικά. Σε μια μελέτη που διεξήχθη σε διαφορετικά μέρη κοτόπουλου βρέθηκε ότι το στήθος κοτόπουλου αλλοιώνεται διαφορετικά από ότι το μπούτι καθώς το τελευταίο έχει υψηλότερο pH. Συγκεκριμένα σε μπούτι κοτόπουλου το οποίο αποθηκεύτηκε στους 4°C για 16 days βρέθηκε ότι το γένος *Pseudomonads* αποτελούσε το 79%, το γένος *Acinetobacter-Moraxellato* 17% και το γένος *S. putrefaciens* το 4% του βακτηριακού πληθυσμού. Οι παραπάνω μικροοργανισμοί παράγαν θειώδης οσμές καθώς επίσης H₂S, μέθυλομερκαπτάνες και διμεθυλοσουλφίδιο. Αντίθετα το παραπάνω φαινόμενο δεν παρουσιάστηκε ιδιαίτερα σε δείγματα στήθους κοτόπουλου (Jay, 2005).

Όταν τα πουλερικά υφίστανται αλλοίωση, πρώτα αναπτύσσονται δυσάρεστες οσμές και στη συνέχεια δημιουργείται ένα στρώμα γλοιώδους ουσίας. Συγκεκριμένα έχει παρατηρηθεί ότι οι οσμές αναπτύσσονται όταν το ολικό μικροβιακό φορτίο φτάσει σε τιμή από 7,2 έως 8 log cfu/cm² και το γλοιώδες εμφανίζεται στη συνέχεια όταν το φορτίο φτάσει και ξεπεράσει τους 8 log cfu/cm².

Οι μικροοργανισμοί αρχικά συγκεντρώνονται μόνο στο δέρμα των πουλερικών ενώ οι ιστοί κάτω από το δέρμα παραμένουν ουσιαστικά ελεύθεροι από βακτήρια για κάποια χρονικό διάστημα. Ωστόσο, σταδιακά τα βακτήρια εισέρχονται βαθιά στους ιστούς και προκαλούν μόλυνση και στο εσωτερικό των ιστών. Τα εσωτερικά τμήματα των ιστών των πουλερικών είναι γενικά στείρα ή περιέχουν σχετικά λίγους μικροοργανισμούς οι οποίοι δεν αναπτύσσονται σε χαμηλές θερμοκρασίες. Έτσι, η αλλοίωση που προκαλείται από τους μικροοργανισμούς περιορίζεται στην επιφάνεια των πουλερικών. Οι επιφάνειες των νωπών πουλερικών αποθηκεύονται σε περιβάλλον υψηλής υγρασίας και έτσι είναι ευαίσθητες στην ανάπτυξη αερόβιων βακτηρίων όπως οι ψευδομονάδες με αποτέλεσμα την παραγωγή του γλοιώδους στρώματος. Σε προηγμένα στάδια αλλοίωσης των πουλερικών, οι επιφάνειες συχνά φθορίζουν όταν φωτίζονται με υπεριώδες φως λόγω της παρουσίας μεγάλου αριθμού ψευδομονάδων που φθορίζουν. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, όταν το δέρμα αφαιρεθεί από το νωπό σφάγιο πουλερικού, τα μπούτια είναι πιο πιθανό να αλλοιωθούν γρηγορότερα από το στήθος επειδή το pH των πρώτων κυμαίνεται από 6,3-6,6 ενώ το pH του στήθους από 5,7 έως 5,9.

Επίσης, οι ψευδομονάδες ευνοούνται σε χαμηλότερες θερμοκρασίες ανάπτυξης σε σχέση με άλλους μικροοργανισμούς. Όταν τα πουλερικά συντηρηθούν σε θερμοκρασία 1°C, οι μικροοργανισμοί που επικρατούν προέρχονται από το γένος *Pseudomonads* ενώ όταν αλλοιωθεί στους 10°C και 15°C επικρατούν τα εντερικά και άλλα βακτήρια. (Jay, 2005).

Συμπερασματικά η αλλοίωση των επεξεργασμένων, μαγειρεμένων προϊόντων πουλερικών είναι απόρροια υψηλών μικροβιακών φορτίων στο φρέσκο κρέας. Όταν χρησιμοποιούνται ακατάλληλες διαδικασίες παραγωγής, ο χρόνος ζωής των προϊόντων μπορεί να ελαττωθεί σημαντικά. Συνοπτικά κάποια από τα σημαντικότερα είδη αλλοίωσης που προκαλούνται είναι τα εξής (Barbut, 2014).

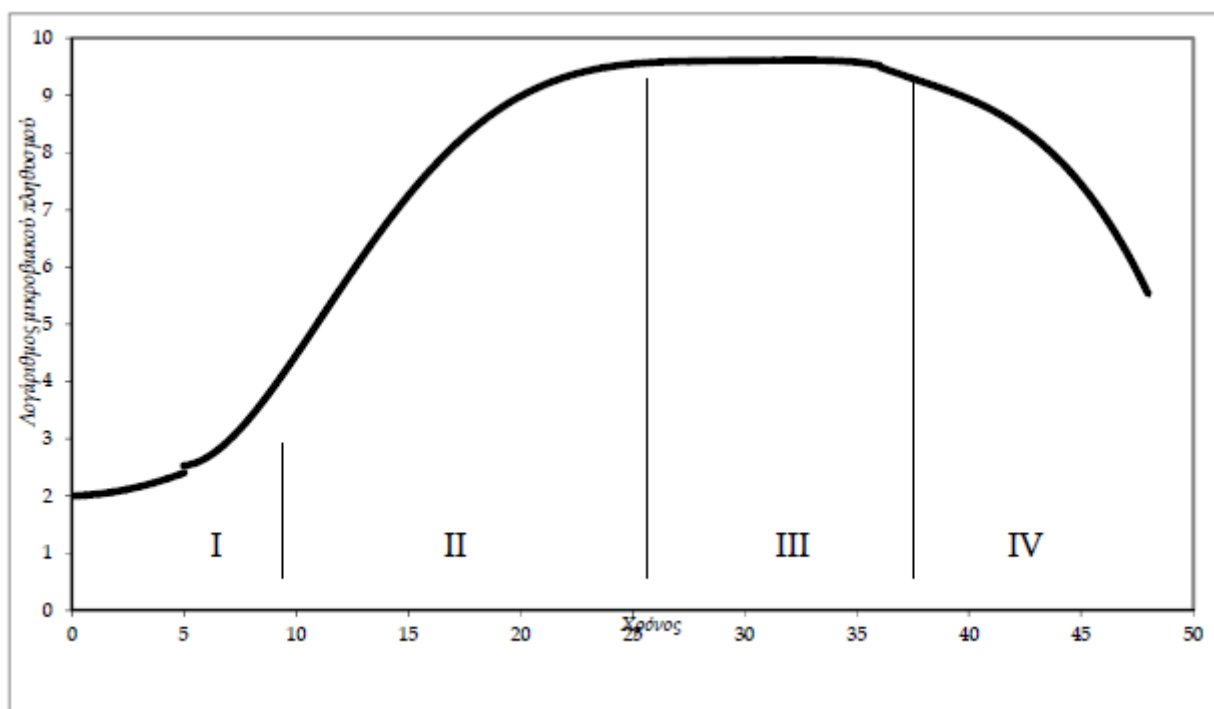
- ❖ Δημιουργία ανεπιθύμητων οσμών: βακτήρια όπως τα *Pseudomonads* και τα γαλακτικά βακτήρια προσδίδουν στο τρώσιμο οσμή σάπιου.
- ❖ Σχηματισμός βλέννας: οι μικροοργανισμοί που σχηματίζουν βλέννα είναι τα Lactic Acid Bacteria και κυρίως τα γένη *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Weissella* και *B. thermosphacta*.
- ❖ Δημιουργία πράσινου χρώματος: προκαλείται συνήθως από την παραγωγή H₂O₂ και H₂S στα φρέσκα και επεξεργασμένα προϊόντα από τα βακτήρια, *Weissella viridescens*, *Leuconostoc*, *Enterococcus faecium* και *Enterococcus faecalis*. Είναι αποτέλεσμα της οξειδωσης των δακτυλίων της πορφυρίνης, το οποίο οδηγεί σε αλλαγή του χρώματος από κόκκινο σε πράσινο. Τότε σχηματίζεται ένα πράσινο τμήμα είτε στην επιφάνεια του τροφίμου είτε σ' όλο το τρώσιμο.
- ❖ Κιτρίνισμα: εμφανίζεται σε κοτόπουλα που είναι επιμολυσμένα με το βακτήριο *Enterococcus casseliflavus*. Αυτό το είδος αποχρωματισμού ξεκινά με την μορφή μικρών κίτρινων κηλίδων σε προϊόντα αποθηκευμένα σε συνθήκες ψύξης και συνήθως γίνεται εμφανής μετά από 3 με 4 ημέρες αποθήκευσης. Ο μικροοργανισμός που τον προκαλεί δεν μπορεί να επιβιώσει στους 71 °C για 30 min, γεγονός που δείχνει ότι μη επαρκείς συνθήκες θερμικής επεξεργασίας ενδέχεται να αποτελέσουν πρόβλημα.
- ❖ Οξύνιση: προκαλείται σε αποθηκευμένα, επεξεργασμένα κρέατα εξαιτίας της ανάπτυξης βακτηρίων όπως τα γαλακτικά βακτήρια, *B. thermosphacta* ή *Enterococci*, που προκαλούν ζύμωση διαφόρων σακχάρων. Οι μικροοργανισμοί αυτοί χρησιμοποιούν τους υδατάνθρακες ως πηγή ενέργειας και τους μετατρέπουν σε οξέα, τα οποία προκαλούν την οξύνιση.
- ❖ Παραγωγή αερίων: σε φέτες κρέατος συσκευασμένων σε κενό αναπτύσσονται συνήθως τα βακτήρια της οικογένειας των *Clostridium*.

2.6 Φάσεις ανάπτυξης μικροοργανισμών

Σε ένα περιβάλλον, στο οποίο τα θρεπτικά συστατικά δεν αποτελούν περιοριστικό παράγοντα, ένα βακτήριο ή ένας μικροβιακός πληθυσμός θα αναπαραχθεί και θα αυξηθεί στον αριθμό. Γενικά, για οποιοδήποτε ομοιογενή μικροβιακό πληθυσμό κάτω από συνθήκες

σταθερής κατάστασης, η ανάπτυξη σε ένα θρεπτικό μέσο ή σε ένα πραγματικό σύστημα τροφίμου, μπορεί να τυποποιηθεί από μία σιγμοειδή καμπύλη όπως φαίνεται στο Σχήμα 2.1, η οποία προκύπτει αν κανείς σχεδιάσει τον λογάριθμο της πυκνότητας των βακτηρίων συναρτήσει του χρόνου. Η καμπύλη αποτελείται από 4 φάσεις οι οποίες αναφέρονται αντίστοιχα ως:

- Λανθάνουσα φάση (lag phase)
- Εκθετική φάση (exponential/log phase)
- Φάση στασιμότητας (stationary phase)
- Φάση κάμψης ή θανάτου (death phase)



Σχήμα 2.1: Τυπική καμπύλη μικροβιακής ανάπτυξης

Είναι γενικώς αποδεκτό ότι η λανθάνουσα φάση είναι μία χρονική περίοδος στην οποία τα κύτταρα προσαρμόζουν τη φυσιολογία και τη βιοχημεία τους στο καινούριο περιβάλλον στο οποίο βρίσκονται, ενώ κατά τη διάρκεια της εκθετικής φάσης τα κύτταρα αναπτύσσονται όσο πιο γρήγορα είναι δυνατό σε αυτό το περιβάλλον. Κατά τη φάση αυτή, τα κύτταρα επιδεικνύουν εξισορροπημένη ανάπτυξη, κατά την οποία ο ρυθμός σύνθεσης κάθε συστατικού του κυττάρου (ένζυμα, δομικά μόρια, DNA, κ.α) είναι τέτοιος ώστε να μη γίνεται μεγαλύτερη σύνθεση από αυτή που απαιτείται για την παραγωγή νέων κυττάρων, δηλαδή ολόκληρη η μεταβολική δραστηριότητα των κυττάρων κατευθύνεται στην αναπαραγωγή.

Στην εκθετική φάση, όλα τα συστατικά των κυττάρων βρίσκονται σε σταθερές αναλογίες και τα κύτταρα θεωρούνται, για πρακτικούς σκοπούς, φυσιολογικά ταυτόσημα (πανομοιότυπα).

Καθώς ο πληθυσμός συνεχίζει να αυξάνεται, η συσσώρευση των μεταβολιτών μέσα στο περιβάλλον γίνεται αρκετά απαγορευτική (παρεμποδιστική), ώστε να προκαλεί μείωση στον ρυθμό αύξησης του αριθμού των κυττάρων. Κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης, οι συνθήκες μπορεί να γίνουν τόσο απαγορευτικές ώστε να οδηγήσουν στο θάνατο και τη λύση των κυττάρων, οπότε ο καθαρός αριθμός αύξησης του πληθυσμού μειώνεται συνεχώς μέχρι την τιμή μηδέν (φάση στασιμότητας). Η διάρκεια αυτής της φάσης ποικίλλει, αλλά τελικά καθώς όλο και περισσότερες τοξίνες συσσωρεύονται, ο ρυθμός θανάτου των κυττάρων γίνεται μεγαλύτερος από την ικανότητα του περιβάλλοντος να υποστηρίξει την κυτταρική διαίρεση, με αποτέλεσμα τη μείωση του μεγέθους της βακτηριακής πυκνότητας και την είσοδο των μικροβίων σε μία νέα φάση, που αναγνωρίζεται ως φάση θανάτου της καλλιέργειας. Η σύνθεση του τροφίμου, οι περιβαλλοντικές συνθήκες, η ηλικία και η κατάσταση των μικροβίων μπορούν να επηρεάσουν τη μορφή της καμπύλης ανάπτυξης (Tzia et al., 2009).

Ο άρτιος μικροβιολογικός έλεγχος απαιτεί συνήθως τον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών μέσα σε ένα μέσο, στερεοποιημένο με άγαρ. Το άγαρ είναι ένας πολυσακχαρίτης με ορισμένες αξιοσημείωτες ιδιότητες, το οποίο παράγεται από είδη του ερυθρού άλγους. Αν και είναι ένα πολύπλοκο και ευμετάβλητο υλικό, το κύριο συστατικό του άγαρ είναι η αγαρόζη η οποία αποτελείται από την L-γαλακτόζη και την 6-O-μεθυλ-D-γαλακτόζη. Οι ιδιότητες του άγαρ οι οποίες το καθιστούν τόσο χρήσιμο στη μικροβιολογία, περιλαμβάνουν την ικανότητά του να σχηματίζει gel σε χαμηλές συγκεντρώσεις (1.5-2%) το οποίο δεν επηρεάζει ιδιαίτερα την υγρασία του μέσου. Ένα gel αυτού του είδους, είναι σταθερό σε αρκετά υψηλές θερμοκρασίες και απαιτεί θερμοκρασίες αυτόκλειστου ή ζέοντος υδατόλουτρου, προκειμένου να τηχθεί. Αν και τήκεται, τα διαλύματα του άγαρ παραμένουν σε ρευστή μορφή μέχρι που μέχρι που ψύχονται σε σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες (40°C) καθιστώντας το ικανό να αναμιχθεί με δείγματα που περιέχουν βιώσιμους μικροοργανισμούς. Μία περαιτέρω ιδιότητα του άγαρ είναι η σταθερότητά του στη μικροβιακή υδρόλυση, αν και πολυσακχαρίτης. Μόνο μία μικρή σχετικά ομάδα μικροοργανισμών είναι ικανή να αποδομήσει το άγαρ, πιθανώς λόγω της παρουσίας της L-μορφής της γαλακτόζης στο πολυμερές.

Η σύνθεση ενός μέσου εξαρτάται, όχι μόνο από τις ομάδες των μικροοργανισμών που μελετώνται, αλλά και από τον συνολικό σκοπό της μελέτης, δηλαδή αν πρόκειται να βοηθηθεί η ανάπτυξη του μεγαλύτερου φάσματος μικροοργανισμών ή αν θα είναι επιλεκτικό για ένα μόνο είδος ή περιορισμένη ομάδα μικροοργανισμών.

Το επιλεκτικό μέσο περιέχει μία ή περισσότερες ενώσεις οι οποίες είναι ανασταλτικές στην πλειοψηφία των μικροοργανισμών αλλά λιγότερο ανασταλτικές στο είδος, ή στην ομάδα των ειδών που ζητείται να απομονωθούν. Πρέπει να σημειωθεί ότι όλα τα επιλεκτικά μέσα, επειδή

βασίζονται στην παρουσία ανασταλτικών παραγόντων, θα είναι ανασταλτικά σε ένα βαθμό και στους προς απομόνωση μικροοργανισμούς (Adams and Moss, 2007)

2.7 Προρρητική μικροβιολογία

Η προρρητική μικροβιολογία είναι βασισμένη στη λογική ότι η απόκριση του πληθυσμού των μικροοργανισμών σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, μπορεί να αναπαραχθεί, και ότι θεωρώντας το περιβάλλον σε όρους αναγνωρίσιμων περιορισμών που κυριαρχούν, να είναι πιθανόν, από παλαιότερες παρατηρήσεις, να προβλεφθεί η απόκριση αυτών των μικροοργανισμών.

Στην προρρητική μικροβιολογία, υιοθετείται γενικά μία αναγωγική προσέγγιση και οι μικροβιακές αποκρίσεις μετρώνται υπό καθορισμένες και ελεγχόμενες συνθήκες. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στη μορφή μαθηματικών εξισώσεων οι οποίες, μέσω παρεμβολής, μπορούν να προβλέψουν αποκρίσεις σε σύνολο νέων συνθηκών, για παράδειγμα εκείνων που δεν έχουν ελεγχθεί. Υποστηρίζεται ότι μία τέτοια προσέγγιση καθιστά ικανή:

- ✓ την πρόβλεψη των συνεπειών, για το χρόνο ζωής και την ασφάλεια του προϊόντος, της σύνθεσης του προϊόντος, και επιτρέπουν το λογικό σχεδιασμό νέων διαδικασιών και προϊόντων που συνάδουν με τα απαιτούμενα επίπεδα ασφάλειας και χρόνου ζωής.
- ✓ την αντικειμενική εκτίμηση της επεξεργασίας και, από αυτό, την προσέγγιση HACCP.
- ✓ την αντικειμενική εκτίμηση των συνεπειών των σφαλμάτων κατά τον έλεγχο της διαδικασίας και της αποθήκευσης (Ross and McMeekin, 1994).

Μία κατηγοριοποίηση των μοντέλων πρόβλεψης είναι σε πρωτογενή, δευτερογενή και τριτογενή.

Πρωτογενή μοντέλα

Τα πρωτογενή μοντέλα περιγράφουν τη μεταβολή του πληθυσμού με το χρόνο κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες περιβάλλοντος και καλλιέργειας. Η απόκριση μπορεί να μετρηθεί άμεσα μέσω της ολικής μικροβιακής χλωρίδας (TVC), σχηματισμού τοξίνης, επιπέδου υποστρώματος ή μεταβολικών προϊόντων ή έμμεσα μέσω απορρόφησης, οπτικής πυκνότητας ή αντίστασης. Αν η καμπύλη της μικροβιακής ανάπτυξης έχει προκύψει μέσω των αλλαγών των TVC με το χρόνο, τα δεδομένα μπορούν να αναπαρασταθούν χρησιμοποιώντας ένα πρωτογενές μοντέλο. Από αυτό μπορούν να προκύψουν πληροφορίες για τον μικροοργανισμό, όπως ο χρόνος που απαιτείται για τον διπλασιασμό του πληθυσμού, η διάρκεια της λανθάνουσας φάσης, ο ρυθμός της εκθετικής ανάπτυξης και η μέγιστη πυκνότητα πληθυσμού. Πολλά εμπειρικά μοντέλα έχουν αναπτυχθεί και συγκριθεί για την πρόβλεψη της ανάπτυξης ως μία συνάρτηση του χρόνου για μία συγκεκριμένη θερμοκρασία. Ένα τέτοιο μοντέλο αποτελεί το μοντέλο Monod, το οποίο έχει την παρακάτω μορφή:

$$N = N_0 e^{kt}$$

Ωστόσο το μειονέκτημα του μοντέλου έγκειται στο γεγονός ότι η διάρκεια της λανθάνουσας φάσης πρέπει να προσδιορισθεί από τα δεδομένα και δεν μπορεί εύκολα να καθορισθεί χρησιμοποιώντας οπισθοδρόμηση. Το μοντέλο αυτό μετράει την κλίση της καμπύλης ανάπτυξης όταν οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται εκθετικά.

Πολύ συχνά χρησιμοποιείται και η εξίσωση Gompertz:

$$y = A + C \exp\{-\exp[-B(t - M)]\}$$

όπου y είναι η συγκέντρωση των βακτηρίων, A, B και C είναι σταθερές και t είναι ο χρόνος. Οι παράμετροι A, B και C μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να προσδιορίσουν τη διάρκεια της λανθάνουσας φάσης, το ρυθμό ανάπτυξης και άλλα χαρακτηριστικά της καμπύλης μικροβιακής ανάπτυξης (McDonald and Sun, 1999)

Η τροποποιημένη συνάρτηση Gompertz είναι η ακόλουθη:

$$y = A \exp\{-\exp[(\mu_{me}/A)(\lambda - t) + 1]\}$$

Μέχρι σήμερα, η συνάρτηση Gompertz είναι η ευρύτερα χρησιμοποιούμενη σιγμοειδής καμπύλη στην προρρητική μικροβιολογία λόγω της απλότητας και της αποτελεσματικότητάς της. Χρησιμοποιείται για να περιγράψει τις καμπύλες ανάπτυξης για πολλούς μικροοργανισμούς συμπεριλαμβανομένων 10 τουλάχιστον παθογόνων. Αν και η συνάρτηση Gompertz προσαρμόζει καλά τα δεδομένα ανάπτυξης από τη λανθάνουσα μέσω της εκθετικής μέχρι τη φάση στασιμότητας, ωστόσο δεν προέρχεται από μηχανιστικές θεωρήσεις. Η έλλειψη βιολογικής βάσης για τις παραμέτρους που χρησιμοποιούνται καθιστά την ερμηνεία των παραμέτρων δύσκολη. Ο υπολογισμός της διάρκειας της λανθάνουσας φάσης μέσω της εξίσωσης Gompertz μπορεί να χρησιμοποιηθεί λανθασμένα αφού ανάπτυξη μπορεί να συμβεί πριν από την προβλεπόμενη διάρκεια της λανθάνουσας φάσης.

Σημαντικό μοντέλο πρόβλεψης αποτελεί επίσης και το λογιστικό μοντέλο. Η λογιστική εξίσωση, η οποία προτάθηκε από τον Verhulst τον 18ο αιώνα, αποτελεί ένα επεξηγηματικό μοντέλο της ανάπτυξης μικροοργανισμών σε ένα περιβάλλον πεπερασμένων πηγών.

Η λογιστική εξίσωση βασίζεται στη λογική ότι ο στιγμιαίος ρυθμός ανάπτυξης ενός πληθυσμού που εισάγεται σε ένα περιβάλλον είναι ανάλογος του στιγμιαίου μεγέθους του πληθυσμού και των εναπομείνουσων πηγών στο περιβάλλον, οι οποίες εξακολουθούν να είναι διαθέσιμες προς κατανάλωση. Η μαθηματική έκφραση της λογιστικής εξίσωσης είναι:

$$dN(t)/dt = k N(t) [1 - N(t)/NA]$$

όπου $dN(t)/dt$ είναι ο στιγμιαίος ρυθμός, k μία σταθερά αναλογίας, $N(t)$ ο στιγμιαίος αριθμός μικροοργανισμών και NA η φέρουσα ικανότητα του περιβάλλοντος, ποσοτικοποιημένη ως ο αριθμός των μικροοργανισμών που μπορεί να στηρίξει. Η σταθερά αναλογίας k και οι

χαμηλές τιμές του NA εξαρτώνται από τη θερμοκρασία, όμως η σημασία τους επηρεάζεται επίσης και από άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως το pH, η ενεργότητα νερού, η συγκέντρωση αλάτων κ.τ.λ. (Peleg et al., 2007).

Τέλος, οι Baranyi and Roberts (1994) έκαναν μία διαφοροποίηση ανάμεσα στα μοντέλα προσαρμογής καμπυλών, τα οποία έχουν σαν σκοπό την παρουσίαση μιας ομάδας πειραματικών αποκρίσεων από μία εμπειρική και στατιστική πλευρά, και τα μαθηματικά μοντέλα, τα οποία αποτελούν μία ομάδα βασικών υποθέσεων, εκφρασμένων μέσω συναρτήσεων ή διαφορικών εξισώσεων.

Το μοντέλο Baranyi et al. (1993) αποτελεί ένα σημαντικό μοντέλο μικροβιακής ανάπτυξης, το οποίο αποσκοπεί πρώτα από όλα να δώσει έναν απλό αλλά περισσότερο μηχανιστικό ορισμό, για τη διάρκεια της λανθάνουσας φάσης. Πρόκειται για ένα μοντέλο το οποίο περιγράφει τη λανθάνουσα φάση σαν μία διαδικασία προσαρμογής σε νέο περιβάλλον. Η προσέγγιση αυτή ήδη προϋποθέτει ένα μη αυτόνομο μοντέλο, αφού λαμβάνει υπόψιν του μία ξαφνική εξωτερική επίδραση στο σύστημα. Σύμφωνα με τη μαθηματική αυτή προσέγγιση, ένα δεδομένο περιβάλλον προσδιορίζει το δυνητικό ρυθμό ανάπτυξης της καλλιέργειας, ο οποίος είναι υψηλότερος από τον πραγματικό, σε χρονική στιγμή κοντά σε αυτήν του εμβολιασμού. Η αναλογία του πραγματικού προς τον δυνητικό ρυθμό ανάπτυξης χαρακτηρίζει τη διαδικασία προσαρμογής των κυττάρων στο νέο περιβάλλον.

Ένα τυπικό πείραμα το οποίο συνήθως εκτελείται σε μικροβιολογικά εργαστήρια τροφίμων περιλαμβάνει δύο στάδια. Το πρώτο είναι η ανάπτυξη των βακτηρίων κάτω από ευνοϊκές περιβαλλοντικές συνθήκες E_1 , ώστε να ληφθεί κατάλληλο ποσό για τον εμβολιασμό, ενώ στο δεύτερο στάδιο τα βακτήρια εμβολιάζονται και κρατούνται σε ένα διαφορετικό, αλλά σταθερό φυσικό περιβάλλον E_2 , σε μία καλλιέργεια. Πριν τον εμβολιασμό τα κύτταρα αναπτύσσονται εκθετικά στο περιβάλλον E_1 και στη συνέχεια, ύστερα από κάποια λανθάνουσα περίοδο αυξάνονται πάλι εκθετικά στο περιβάλλον E_2 , συχνά με διαφορετικό ειδικό ρυθμό ανάπτυξης, μέχρι να φτάσουν στη φάση στασιμότητας.

Θεωρούμε τη στιγμή του εμβολιασμού ως χρόνο μηδέν. Αν υποθέσουμε ότι η επίδραση των συνθηκών του περιβάλλοντος E_1 είναι αμλητέα, ή αλλιώς ότι $E_1=E_2$, τότε η βακτηριακή ανάπτυξη στο περιβάλλον E_2 περιγράφεται από την παρακάτω διαφορική εξίσωση:

$$x' = \mu(x) \cdot x \quad (1)$$

$$x(0) = x_0 \quad (0 < x_0 < x_{\max}) \quad (2)$$

όπου x είναι η κυτταρική συγκέντρωση, η οποία υποθέτουμε ότι είναι ομοιογενώς κατανομημένη στο χώρο ανάπτυξης των κυττάρων και $\mu(x)$ ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης, με $\mu(x_0) > 0$ και $\mu(x_{\max}) = 0$.

Κάτω από αυτές τις συνθήκες, η παραπάνω διαφορική εξίσωση έχει μία μοναδική λύση η οποία είναι γνησίως αύξουσα και συγκλίνει στο x_{max} .

Αν υποθέσουμε ότι το E_1 είναι σημαντικά διαφορετικό από το E_2 , τότε δεχόμαστε ότι μετά τον εμβολιασμό η κυτταρική συγκέντρωση της καλλιέργειας περιγράφεται από την παρακάτω διαφορική εξίσωση:

$$x' = \alpha(t) \cdot \mu(x) \cdot x \quad (0 \leq t < \infty, 0 < x) \quad (3)$$

$$x(0) = x_0 \quad (0 < x_0 < x_{max}) \quad (4)$$

όπου $\mu(x)$ είναι ο ειδικός ρυθμός ανάπτυξης στο περιβάλλον E_2 , με $\mu(x_0) > 0$ και $\mu(x_{max}) = 0$. Το $\alpha(t)$ εξαρτάται από το E_1 και E_2 και για $0 \leq t < \infty$ ισχύει $0 \leq \alpha(t) \leq 1$.

Ονομάζουμε το $\mu(x)$ δυνητικό ειδικό ρυθμό ανάπτυξης και το $\alpha(t) \cdot \mu(x)$ πραγματικό ειδικό ρυθμό ανάπτυξης. Το $\alpha(t)$ συγκεκριμένα ονομάζεται συνάρτηση προσαρμογής από το περιβάλλον E_1 στο περιβάλλον E_2 και έχει την ιδιότητα να τείνει όλο και περισσότερο στο 1 με την πάροδο του χρόνου του πειράματος. Ο παράγοντας αυτός περιγράφει τη σταδιακή μείωση της επίδρασης του προηγούμενου περιβάλλοντος.

Το δεδομένο πραγματικό περιβάλλον E_2 και η ποσότητα του εμβολίου x_0 ορίζουν μοναδική δυνητική καμπύλη ανάπτυξης, σύμφωνα με την οποία ο πληθυσμός θα μπορούσε να αναπτυχθεί αν το προηγούμενο περιβάλλον ήταν το ίδιο με το παρόν ($E_1 = E_2$ και $\alpha(t) = 1$). Η δυνητική ανάπτυξη του πληθυσμού περιγράφεται από την αυτόνομη εξίσωση (1). Η πραγματική εξίσωση όμως περιγράφεται από τις (3) και (4), το οποίο σημαίνει ότι ύστερα από τον εμβολιασμό (απότομη μεταβολή από το περιβάλλον E_1 στο E_2), ο πραγματικός ειδικός ρυθμός των κυττάρων επηρεάζεται ιδιαίτερα από το γεγονός ότι ο χρόνος είναι κοντά στο μηδέν. Αργότερα όμως η επίδραση του προηγούμενου περιβάλλοντος ελαττώνεται, ώσπου κάποια στιγμή μετά τον εμβολιασμό η επίδραση αυτή γίνεται πολύ μικρή έως μηδενική. Τότε τα κύτταρα αναπτύσσονται κυρίως με τον δυνητικό ρυθμό ανάπτυξής τους $\mu(x)$, που καθορίζεται από το νέο περιβάλλον E_2 . Έτσι, ο λόγος του πραγματικού προς τον δυνητικό ρυθμό ανάπτυξης, δηλαδή η συνάρτηση προσαρμογής αναμένεται να αυξάνεται από το μηδέν (καθόλου ανάπτυξη λόγω προσαρμογής) μέχρι το 1 (ολοκληρωμένη προσαρμογή).

Μπορεί ναδειχθεί μαθηματικά ότι αν $f(t)$ είναι η λύση του προβλήματος αρχικών τιμών (1) και (2) και $\alpha(t)$ είναι μία συνάρτηση προσαρμογής, τότε η λύση του προβλήματος αρχικών τιμών των (3) και (4) είναι:

$$ga(t) = f[A(t)] \text{ , όπου } A(t) = \int_0^t \alpha(\tau) d\tau(t) \quad (5)$$

Για πρακτικούς σκοπούς, μία συνάρτηση προσαρμογής της μορφής:

$$\alpha_n(t) = t^n / (\lambda^n + t^n),$$

όπου λ και n θετικές παράμετροι του μοντέλου, έχει αποδειχθεί αποτελεσματική. Η παράμετρος λ ονομάζεται παράμετρος της λανθάνουσας φάσης (lag parameter). Η $a_n(t)$ αναφέρεται ως συνάρτηση προσαρμογής τάξης n .

Το νέο μοντέλο μικροβιακής ανάπτυξης του Baranyi έχει αρκετά χαρακτηριστικά τα οποία πλεονεκτούν σε σχέση με τις υπόλοιπες προσεγγίσεις. Αν γνωρίζουμε τη σαφή λύση του αυτόνομου μέρους το οποίο περιγράφει τη δυνητική ανάπτυξη, τότε μπορεί επίσης να προκύψει σαφής λύση για την πραγματική ανάπτυξη, έτσι ώστε να μην είναι απαραίτητο να λυθεί αριθμητικά η διαφορική εξίσωση. Για τον υπολογισμό του μέγιστου ρυθμού ανάπτυξης και της λανθάνουσας φάσης, δεν είναι απαραίτητη η συγκέντρωση δεδομένων στη φάση στασιμότητας. Αυτό αποτελεί ένα σημαντικό πλεονέκτημα συγκριτικά με τη χρήση μιας σιγμοειδούς συνάρτησης, η οποία είναι φανερά εξαρτώμενη από σημεία δεδομένων γύρω από την ανώτερη ασύμπτωτη.

Η παράμετρος n χαρακτηρίζει την καμπυλότητα της καμπύλης ανάπτυξης κατά τη μετάβαση από τη λανθάνουσα φάση στην εκθετική. Για μεγαλύτερη απλότητα, η τιμή του n καθορίζεται ως $n=4$, η οποία έχει αποδειχθεί ένας καλός συνδυασμός ικανοποιητικής προσαρμογής και ευκολίας. Αν όμως η καλλιέργεια παρουσιάζει απότομη μετάβαση ύστερα από τη λανθάνουσα περίοδο, τότε ίσως χρειαστεί υψηλότερη, αλλά σταθερή τιμή της παραμέτρου καμπυλότητας. Στην εκθετική φάση η ανάπτυξη αντιπροσωπεύεται από μία ευθεία γραμμή (Tzia et al., 2009).

Δευτερογενή μοντέλα

Τα δευτερογενή μοντέλα περιγράφουν την απόκριση μίας ή περισσότερων παραμέτρων ενός πρωτογενούς μοντέλου μεταβάλλοντας μία ή περισσότερες συνθήκες του περιβάλλοντος ή της καλλιέργειας (pH , a_w , Eh , θερμοκρασία) (McDonald and Sun, 1999). Τα μοντέλα Arrhenius, Davey, Schoolfield, Ratkowsky, Bělehrádek και πιθανοτήτων, αποτελούν τα δευτερογενή μοντέλα.

Όσον αφορά τα μοντέλα πιθανότητας, το γεγονός το οποίο περιγράφεται πιο συχνά είναι η πιθανότητα σχηματισμού τοξίνης από το *C. Botulinum*. Η εξίσωση στην οποία στηρίζεται το εν λόγω μοντέλο είναι η:

$$(P) = 1/(1 + e^{-\mu})$$

όπου P η πιθανότητα παραγωγής της τοξίνης, και περιγράφει τη σχέση μεταξύ της πιθανότητας παραγωγής της τοξίνης και των παρόντων παραγόντων/μεταβλητών. Οποιοσδήποτε παράγοντας ο οποίος τείνει να μειώσει το μ , μειώνει την πιθανότητα παραγωγής της τοξίνης. Ένα μειονέκτημα των μοντέλων πιθανότητας είναι ότι δεν δίνουν πολλές πληροφορίες για τον ρυθμό με τον οποίο γίνονται οι αλλαγές.

Ορισμένα δευτερογενή μοντέλα προέκυψαν σαν προσπάθειες μοντελοποίησης του αποτελέσματος της θερμοκρασίας στη μικροβιακή ανάπτυξη και βελτιώθηκαν για να ενσωματώσουν άλλους παράγοντες όπως το pH και η a_w . Η κλασική εξίσωση Arrhenius συνδέει τη σταθερά ρυθμού (k) μιας χημικής αντίδρασης με την απόλυτη θερμοκρασία T :

$$k = k_A \exp(-E_A/RT) \quad (1)$$

όπου E_A η ενέργεια ενεργοποίησης, k_A ο συντελεστής Arrhenius ή σταθερά Arrhenius και R η παγκόσμια σταθερά αερίων. Λογαριθμίζοντας την παραπάνω σχέση παίρνουμε τη λογαριθμική μορφή:

$$\ln k = \ln k_A - \frac{E_A}{R} \left(\frac{1}{T} \right) \quad (2)$$

Η ενέργεια ενεργοποίησης στην περίπτωση της μικροβιακής ανάπτυξης σχετίζεται με την ευαισθησία του ρυθμού μικροβικής ανάπτυξης στη μεταβολή της θερμοκρασίας. Η εξίσωση 2 μπορεί να μετασχηματιστεί, εισάγοντας την παράμετρο της θερμοκρασία αναφοράς T_{ref} :

$$\ln k = \ln k_{ref} - \frac{E_A}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right) \quad (3)$$

όπου k_{ref} είναι ο ρυθμός ανάπτυξης στη θερμοκρασία αναφοράς T_{ref} . Το πλεονέκτημα της σχέσης Arrhenius με τη μορφή της εξίσωσης (3) είναι ότι δίνεται φυσική σημασία στις σταθερές της εξίσωσης (E_A και k_{ref}), ενώ η θερμοκρασία αναφοράς T_{ref} καθορίζει την περιοχή θερμοκρασιών στην οποία μπορεί να εφαρμοστεί η παραπάνω εξίσωση. Αυτό είναι πολύ σημαντικό, καθώς διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι η σχέση Arrhenius δεν είναι εφαρμόσιμη σε όλο το εύρος των θερμοκρασιών ανάπτυξης των μικροοργανισμών, παρά μόνο σε μια μικρή περιοχή.

Για να βελτιωθεί η προσαρμογή, η βασική εξίσωση έχει τροποποιηθεί από τον Davey για να συμπεριλάβει έναν τετραγωνικό όρο:

$$\ln k = C_0 + C_1/T + C_2/T^2$$

Αυτή η εξίσωση μπορεί περαιτέρω να τροποποιηθεί για να συμπεριλάβει άλλες παραμέτρους που επηρεάζουν το k όπως το pH και η a_w . Για παράδειγμα:

$$\ln k = C_0 + C_1/T + C_2/T^2 + C_3 a_w + C_4 a_w^2$$

Η εξίσωση του Schoolfield είναι μία άλλη παραλλαγή του μοντέλου Arrhenius όπου επιπρόσθετοι όροι έχουν προστεθεί στη βασική εξίσωση προκειμένου να αντιπροσωπεύσουν τα αποτελέσματα της απενεργοποίησης σε υψηλή και χαμηλή θερμοκρασία στο ρυθμό ανάπτυξης. Όροι που περιγράφουν το αποτέλεσμα της a_w και του pH μπορούν επίσης να ενσωματωθούν για να δώσουν μία σημαντικά πιο πολύπλοκη εξίσωση.

Μία εναλλακτική προσέγγιση είναι το μοντέλο Bělehrádek το οποίο περιγράφει την ανάπτυξη σε υπο-βέλτιστες θερμοκρασίες σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\sqrt{k} = b (T - T_{\min})$$

όπου k είναι ο ρυθμός ανάπτυξης, T η απόλυτη θερμοκρασία (°K), και T_{\min} μία ελάχιστη θερμοκρασία μη φυσικής σημασίας.

Η εφαρμογή αυτής της έκφρασης για την περιγραφή της μικροβιακής ανάπτυξης, περιγράφηκε πρώτα από τον Ratkowsky, αν και τώρα αναγνωρίζεται ως μία ειδική μορφή της εξίσωσης Bělehrádek (Adams and Moss, 2007)

Οι Koutsoumanis et al. (2005) πρότειναν ένα τροποποιημένο μοντέλο Arrhenius, με σκοπό την περιγραφή της συνδυαστικής επίδρασης της θερμοκρασίας και του CO₂ στη μικροβιακή ανάπτυξη. Το μοντέλο αυτό βασίστηκε στην παρατήρηση ότι το CO₂ επηρεάζει μόνο την k_{ref} και όχι την ενέργεια ενεργοποίησης:

$$\ln k = \frac{E_A}{R} \left(\frac{1}{T_{ref}} - \frac{1}{T} \right) + (\ln k_{ref} - d_{CO_2} \cdot \%CO_2)$$

όπου %CO₂ είναι η συγκέντρωση ισορροπίας του CO₂ και d_{CO_2} μια σταθερά που εκφράζει την επίδραση του CO₂ στη μικροβιακή ανάπτυξη.

Τέλος, τα τριτογενή μοντέλα φέρνουν την μοντελοποίηση στην τελική της μορφή. Αποτελούν εφαρμογές ενός ή περισσότερων πρωτογενών και δευτερογενών μοντέλων, ενσωματωμένων σε ένα φιλικό προς τον χρήστη πακέτο λογισμικού (McDonald and Sun, 1999).

3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ ΤΩΝ ΠΟΥΛΕΡΙΚΩΝ

3.1 Εισαγωγή

Η παραγωγή κρέατος κοτόπουλου έχει σημειώσει σημαντική αύξηση τα τελευταία χρόνια λόγω των πρόσφατων βελτιώσεων στην τεχνολογία παραγωγής του. Ως αποτέλεσμα της αυξημένης ζήτησης, οι παραγωγοί κρέατος άρχισαν να διαφοροποιούν τα προϊόντα τους προκειμένου να επιτύχουν μία επέκταση του χρόνου ζωής αυτών. Οι βασικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται σήμερα για τη συντήρηση τροφίμων είναι:

- Αλάτισμα,
- Αφυδάτωση,
- Θερμική επεξεργασία, (π.χ. αποστείρωση, παστερίωση, κονσερβοποίηση)
- Κάπνιση,
- Μαρινάρισμα,
- Τροποποίηση της ατμόσφαιρας (π.χ. MAP, CAP)
- Υπερυψηλή υδροστατική πίεση,
- Ακτινοβολία, (π.χ. ακτινοβόληση με μικροκύματα, υπεριώδης ακτινοβόληση, ιοντίζουσα ακτινοβόληση)
- Αποθήκευση σε χαμηλή θερμοκρασία (ψύξη, κατάψυξη)
- Ωσμωτική αφυδάτωση,
- Χρήση αντιμικροβιακών και άλλων μεθόδων (Volpato et al., 2007).

3.2 Παραδοσιακές μέθοδοι επεξεργασίας πουλερικών

3.2.1 Ψύξη κρέατος/πουλερικών

Ψύξη του κρέατος χαρακτηρίζεται η επεξεργασία εκείνη με την οποία αφαιρείται θερμότητα από το κρέας με την έκθεσή του σε χαμηλές θερμοκρασίες ακόμη και κάτω του μηδενός χωρίς να παρατηρείται πήξη (κρυσταλλοποίηση) του νερού του κρέατος.

Η επιστημονική μελέτη των προβλημάτων της συντήρησης του κρέατος δια του ψύχους συνετέλεσε στην ανάπτυξη και τη δημιουργία της ψυκτικής αλυσίδας. Αυτή καλύπτει την περιοχή από τη σφαγή του ζώου δηλαδή τη λήψη του κρέατος μέχρι την κατανάλωσή του. Επομένως, η ψυκτική αλυσίδα περιλαμβάνει πολλά στάδια και συγκεκριμένα την ψύξη ή κατάψυξη, την εναποθήκευση (συντήρηση), τη μεταφορά και τον τρόπο κατανάλωσης. Ονομάζεται ψυκτική αλυσίδα γιατί όλες οι φάσεις αυτές πρέπει να γίνονται κάτω από το ψύχος.

Με τις χαμηλές θερμοκρασίες του ψύχους επιτυγχάνονται:

- ❖ Επιβράδυνση ή ανακοπή ανάπτυξης μικροβίων επηρεάζοντας τις ενζυμικές διεργασίες κατά το μεταβολισμό τους
- ❖ Αποφυγή της αποικοδόμησης των πρωτεϊνών δια των ενζύμων του κρέατος (πρωτεόλυση)
- ❖ Επιβράδυνση της οξειδωσης του κρέατος και ιδιαίτερα του λίπους (τάγγισμα)

Μικροβιακή ανάπτυξη δεν είναι δυνατή στη θερμοκρασία $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ και κάτω. Ο μεταβολισμός, όμως, των μικροβίων δεν διακόπτεται ακόμα και όταν χρησιμοποιηθούν χαμηλότερες θερμοκρασίες από τους $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Αυτό διαπιστώνεται μετά την απόψυξη του κρέατος, όπου το 50% από τα αρχικά μικρόβια που υπάρχουν στο κρέας δείχνουν σημεία ανάπτυξης. Τα μικρόβια αυτά επέζησαν από την δράσης των χαμηλών θερμοκρασιών, έστω και με την ελάχιστη δραστηριότητα μεταβολισμού τους.

Η κύρια αιτία αλλοίωσης των περισσότερων τροφίμων κατά την ψύξη είναι η ανάπτυξη μικροοργανισμών. Εκτός των αλλοιογόνων στα ψυγμένα τρόφιμα μπορούν να αναπτυχθούν και ορισμένοι παθογόνοι μικροοργανισμοί. Ιδιαίτερα ευαίσθητοι είναι οι ζωικοί ιστοί καθώς με τη σφαγή παύει η φυσική τους άμυνα απέναντι στους μικροοργανισμούς, ενώ παράλληλα επιμολύνονται μέσω των εργαλείων κοπής και αποτελούν ιδανικό υπόστρωμα για την ανάπτυξη πολλών μικροοργανισμών (Taoukis et al., 2009), (Jay, 2005).

3.2.2 Κάπνιση

Κάπνιση σημαίνει υποβολή ενός τροφίμου στη δράση αερίων που προκύπτουν από την καύση συγκεκριμένων φυτικών υλικών. Σκοπός της επεξεργασίας αυτής είναι η επέκταση του χρόνου ζωής του τροφίμου. Ο καπνισμός σε συνδυασμό με αλάτισμα ή αφυδάτωση αποτελεί μια από τις πιο παλιές διαδικασίες για τη συντήρηση τροφίμων (Girard, 1992). Ανάλογα με τη διαδικασία κάπνισης, η υγρασία μειώνεται 10-40%. Ενώσεις που βρίσκονται στον καπνό με βακτηριοκτόνες και αντιοξειδωτικές ιδιότητες εναποτίθενται και διεισδύουν στο κρέας. Στα σημαντικά συστατικά του καπνού συμπεριλαμβάνονται φαινόλες, οξέα και καρβονυλικές ενώσεις. Η συγκέντρωση των πολυκυκλικών υδρογονανθράκων στον καπνό εξαρτάται από τον τρόπο παραγωγής του καπνού και μπορεί να περιοριστεί σε μεγάλο βαθμό με τη χρήση κατάλληλων διεργασιών, π.χ με εξωτερική παραγωγή καπνού και καθαρισμό του καπνού με ψυχρές παγίδες, ψεκασμό ή φίλτρα (Belitz et al., 2009).

3.2.3 Αφυδάτωση

Η αφυδάτωση αποτελεί μία αρχαία μέθοδο συντήρησης του κρέατος και χρησιμοποιείται συχνά σε συνδυασμό με αλάτισμα, νίτρωση και καπνισμό. Μερικές επεξεργασίες είναι: η αφυδάτωση σε ρεύμα ζεστού αέρα ($40-60^{\circ}\text{C}$), η αφυδάτωση υπό κενό σε μεταβλητές συνθήκες και η εξάχνωση. Η υγρασία του τελικού προϊόντος είναι συνήθως 3-10%. Σημαντικά κριτήρια ποιότητας για τέτοια αφυδατωμένα προϊόντα κρέατος είναι η ικανότητα αφυδάτωσης, η οποία μπορεί να προσδιοριστεί με την πρόσληψη νερού κάτω από σταθερές

συνθήκες και με το ποσοστό του ισχυρά δεσμευμένου νερού. Η διαδικασία της αφυδάτωσης δεν θα έπρεπε να επηρεάζει την ικανότητα συγκράτησης του νερού και τα αρωματικά συστατικά του κρέατος. Η διάρκεια ζωής των αφυδατωμένων προϊόντων κρέατος περιορίζεται από την ανάπτυξη ανεπιθύμητων οσμών και γεύσεων λόγω οξείδωσης του λίπους και από την ανάπτυξη δυσχρωμιών λόγω της αντίδρασης Maillard (Belitz et al., 2009).

3.2.4 Αλάτισμα

Το αλάτι σε υψηλές συγκεντρώσεις περιορίζει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών και ανακόπτει τη δραστηριότητα των ενζύμων του κρέατος. Επομένως το αλάτι θεωρείται ως συντηρητικό του κρέατος. Το αλάτισμα του κρέατος σε ένα επίπεδο μέχρι 5% NaCl προκαλεί διόγκωση. Υψηλότερες συγκεντρώσεις άλατος 10-20% προκαλούν συρρίκνωση στο κρέας και στα προϊόντα του, προκαλώντας μείωση στην υγρασία σε επίπεδο χαμηλότερο από αυτό του μη επεξεργασμένου κρέατος. Το κρέας διατηρεί το φυσικό του χρώμα, συνήθως σκούρο κόκκινο, καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση της μυογλοβίνης εξαιτίας της απώλειας υγρασίας. Το αλάτισμα γίνεται είτε με τρίψιμο του άλατος στην επιφάνεια του κρέατος (ξηρό αλάτισμα), είτε με εμβάπτιση του κρέατος σε 15-20% άλμη (υγρό αλάτισμα), ή με έγχυση άλμης μέσα στο κρέας με τη χρήση ειδικών αυτόματων συσκευών (Belitz et al., 2009).

3.2.5 Θερμική επεξεργασία

Η θερμική επεξεργασία είναι ένα σημαντικό τελικό στάδιο και χρησιμεύει επίσης στην παραγωγή κονσερβοποιημένου κρέατος. Στη βιομηχανία πουλερικών η βασική μέθοδος θερμικής επεξεργασίας είναι το τηγάνισμα. Χαρακτηριστικές μεταβολές που λαμβάνουν χώρα κατά τη θερμική επεξεργασία είναι: η ανάπτυξη καφέ χρώματος, θρόμβωση της πρωτεΐνης, μείωση της ικανότητας συγκράτησης του νερού, αύξηση του pH, ανάπτυξη χαρακτηριστικού χρώματος μαγειρεμένου ή ψημένου κρέατος και τελικά μαλάκωμα που οφείλεται στη συρρίκνωση και στη μερική μετατροπή του κολλαγόνου σε ζελατίνη (Belitz et al., 2009).

3.2.6 Μαρινάρισμα

Η διαδικασία του μαριναρίσματος αποτελεί μία παραλλαγή της συντήρησης σε άλμη, με τη διαφορά ότι το αλάτι αντικαθίσταται από ξύδι, κρασί ή μίγμα τους, χυμούς φρούτων ή εκχυλίσματα φυτών, ή από λάδι. Στη βιομηχανία οι μαρινάδες βασίζονται σε ασθενή οξέα όπως οξικό οξύ, γαλακτικό οξύ, κιτρικό οξύ, με την προσθήκη NaCl. Σύμφωνα με τη μελέτη των Yusop et al., 2010 κατά το μαρινάρισμα (διάρκειας 180 min) φιλέτου κοτόπουλου, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της παραμέτρου a του χρώματος με αντίστοιχη μείωση της παραμέτρου L . Παράλληλα, ο αυξανόμενος χρόνος μαριναρίσματος διαπιστώθηκε ότι παρήγαγε τελικά προϊόντα μεγαλύτερης αποδεκτότητας με αυξανόμενες βαθμολογίες για το χρώμα, το άρωμα και τη γεύση. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε μεταβολή του pH συναρτήσει του pH του διαλύματος μαριναρίσματος (Yusop et al., 2010).

3.3 Νέες μέθοδοι επεξεργασίας και συσκευασίας πουλερικών

3.3.1 Συσκευασία πουλερικών σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα

Η συσκευασία σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (modified atmosphere packaging, MAP) έχει γίνει ιδιαίτερα δημοφιλής τις τελευταίες δεκαετίες ως μία μοντέρνα μη θερμική μέθοδος συντήρησης τροφίμων. Ο κατάλληλος συνδυασμός των αερίων στην ατμόσφαιρα της συσκευασίας έχει ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση των αερόβιων αλλοιογόνων μικροοργανισμών ευαλλοίωτων προϊόντων και τη διατήρηση των οργανοληπτικών τους χαρακτηριστικών. Η μικροβιακή ανάπτυξη, το χρώμα και η οξειδωση των λιπών αποτελούν σημαντικούς παράγοντες της διάρκειας ζωής του φρέσκου κρέατος και της αποδοχής του από του καταναλωτές. Τα συνήθη αέρια που χρησιμοποιούνται στη MAP είναι το CO₂ (για την αναστολή της μικροβιακής ανάπτυξης), το O₂ (για την αποφυγή της αναερόβιας ανάπτυξης και τη διατήρηση του χρώματος) και το N₂ (για την αποφυγή της οξειδωσης των λιπών και της κατάρρευσης της συσκευασίας). Αυτά τα αέρια μπορούν να χρησιμοποιηθούν το καθένα μόνο του ή σε συνδυασμό προκειμένου να επιτευχθεί το βέλτιστο αποτέλεσμα. Οι εμπλουτισμένες με CO₂ ατμόσφαιρες μπορούν να επιβραδύνουν την ανάπτυξη των αερόβιων αλλοιογόνων μικροοργανισμών οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για την υποβάθμιση της γεύσης και της οσμής του κρέατος πουλερικών. Μία ελάχιστη συγκέντρωση σε CO₂ της τάξεως του 20-30% είναι απαραίτητη προκειμένου να υπάρξει ένα ανασταλτικό αποτέλεσμα. Έπειτα, έχει παρατηρηθεί μία παρατεταμένη διάρκεια ζωής κρέατος πουλερικών κατά την αποθήκευση σε ατμόσφαιρα χαμηλής συγκέντρωσης σε O₂ και υψηλής σε CO₂ λόγω του ότι η αλλοίωση που προκαλείται από τα γαλακτικά βακτήρια συμβαίνει αργότερα συγκρινόμενη με εκείνη που προκαλείται από αερόβια βακτήρια όπως οι ψευδομονάδες, οι οποίες κυριαρχούν υπό αερόβιες συνθήκες (Patsias et al., 2008).

Η μέθοδος της συσκευασίας σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα καθώς και οι εφαρμογές της σε δείγματα κοτόπουλου θα παρουσιασθεί εκτενέστερα στο επόμενο κεφάλαιο.

3.3.2 Αντιμικροβιακοί παράγοντες

Σύμφωνα με τον Οργανισμό Ελέγχου Φαρμάκων και Τροφίμων (FDA), ως αντιμικροβιακά ορίζονται οι ουσίες που καθυστερούν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών και συνεπώς την αλλοίωση των τροφίμων. Ο μηχανισμός δράσης των αντιμικροβιακών βασίζεται σε αντίδραση με τα συστατικά της μεμβράνης, σε αδρανοποίηση διάφορων ενζύμων, ή σε καταστροφή ή λειτουργική αδρανοποίηση του γενετικού υλικού. Η προσθήκη αντιμικροβιακών ουσιών μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική παρεμπόδιση της μικροβιακής ανάπτυξης (βακτήρια, ζύμες, μύκητες) και συνεπώς στην επέκταση ζωής του τροφίμου. Εκτός της ανασχεσης της δράσης των αλλοιογόνων μικροοργανισμών, αντιμικροβιακά συστήματα έχουν χρησιμοποιηθεί και για την παρεμπόδιση της ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών (P. Michael Davidson, John N. Sofos, 2005).

Νισίνη

Η νισίνη είναι μία βακτηριοσίνη η οποία παράγεται από το στέλεχος *Lactococcus lactis*. Είναι δραστική ενάντια στα κατά Gram+ βακτήρια συμπεριλαμβανομένων και των σπορίων, όμως δεν συμβαίνει το ίδιο ενάντια σε κατά Gram- βακτήρια, ζύμες και μύκητες. Η χρήση χηλικών ενώσεων μπορεί να μεταβάλλει τη διαπερατότητα της εξωτερικής μεμβράνης των Gram- βακτηρίων. Σε σχετική μελέτη παρατηρήθηκε ότι η ολική μικροβιακή χλωρίδα φιλέτου κοτόπουλου, συντηρημένου σε ψύξη (4°C) και σε MAP συνθήκες (20% CO₂, 80% O₂), και επεξεργασμένου με διάφορους συνδυασμούς νισίνης- EDTA, έφτασε στις τιμές 7,8 και 7,1 cfu/g μετά από 21 ημέρες αποθήκευσης. Επίσης, δεν παρατηρήθηκαν αξιοσημείωτες διαφορές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά μεταξύ επεξεργασμένων και μη επεξεργασμένων με νισίνη, μαγειρεμένων φιλέτων κοτόπουλου (Jay, 2005).

Οργανικά οξέα

Η χρήση οργανικών οξέων στην επιφάνεια του κρέατος αποτελεί μία συνήθη διαδικασία επέκτασης διατηρησιμότητας. Η προσθήκη οργανικών οξέων είναι φθηνή, απλή και γρήγορη, ενώ παράλληλα επιδεικνύει μεγάλη αποτελεσματικότητα. Επιπλέον, τα οργανικά οξέα θεωρούνται ασφαλή για τα προϊόντα κρέατος και τα περισσότερα από αυτά δεν περιορίζονται από καθορισμένη αποδεκτή ημερήσια δόση για τον άνθρωπο. Πολλές δοκιμές έχουν πραγματοποιηθεί προκειμένου να ελεγχθεί η αποτελεσματικότητα των οργανικών οξέων, όμως θα πρέπει ταυτόχρονα να ληφθούν υπόψιν οι μεταβολές στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (χρώμα, γεύση και οσμή) του προϊόντος. Τα οργανικά οξέα και τα άλατά τους, θεωρούνται ασθενή οξέα πράγμα που σημαίνει ότι δεν δίστανται πλήρως στο νερό αλλά με τέτοιο τρόπο που επηρεάζουν το pH.

Συνεπώς, η αντιμικροβιακή δράση των οργανικών οξέων ενισχύεται καθώς το pH του τροφίμου μειώνεται σε τιμή ίση ή χαμηλότερη εκείνης του pKa του οξέος. Το pKa ορίζεται ως η σταθερά διάστασης του οξέος. Η μείωση του pH έχει ως αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη συγκέντρωση πρωτονιωμένου οξέος, μειώνοντας την πολικότητα του μορίου και αυξάνοντας τη διάχυση του οξέος διαμέσου της μεμβράνης και του κυτταροπλάσματος. Τα οργανικά οξέα έχουν χρησιμοποιηθεί για την ελάττωση του μικροβιακού φορτίου του κρέατος βοδινού, χοιρινού και πουλερικών, σημαντικών βακτηρίων συμπεριλαμβανομένης της σαλμονέλλας. Τα οργανικά οξέα θεωρείται ότι επηρεάζουν τη μικροβιακή δραστηριότητα με δύο κύριους μηχανισμούς: μέσω οξίνισης του κυτταροπλάσματος, και μέσω της συσσώρευσης των αδιάλυτων όξινων ανιόντων σε τοξικά επίπεδα.

Τα οργανικά οξέα είναι τα εξής:

- Οξικό οξύ και οξικά άλατα
- Κιτρικό οξύ και κιτρικά άλατα
- Γαλακτικό οξύ και άλατά του

- Προπιονικό οξύ
- Σουκινικό οξύ
- Ταρταρικό οξύ,
- Μαλικό οξύ, και τα άλατά τους.

Τέλος, πολλές μελέτες υποδεικνύουν έναν ευνοϊκό ρόλο του λίπους που εμπεριέχεται στο κρέας των πουλερικών όσον αφορά στη μείωση του μικροβιακού φορτίου. Γενικά, τα κύτταρα που είναι προσκολλημένα στον λιπώδη ιστό, εμφανίζουν μεγαλύτερη ευαισθησία στα οξέα και αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι ο λιπώδης ιστός εμπεριέχει λιγότερη υγρασία (20%), σε σχέση με τον υπόλοιπο ιστό (75%) και η μειωμένη ενεργότητα νερού μπορεί να ενισχύσει τα αντιμικροβιακά αποτελέσματα. Με λιγότερη επιφανειακή υγρασία, υπάρχει λιγότερο νερό για να αραιώσει το οξύ στη διεπιφάνεια ιστού/ρευστού. Είναι πιθανόν ότι η υγρασία στο άπαχο τμήμα του ιστού είτε έχει αραιώσει το οξύ, είτε έχει διαλυτοποιήσει συστατικά των κυττάρων του ιστού, τα οποία ρυθμίζουν το οξύ στην επιφάνεια. Εναλλακτικά, το οξύ ενδέχεται να απορροφηθεί με γρηγορότερο ρυθμό από τα κύτταρα του ιστού σε σχέση με τα βακτηριακά κύτταρα, το οποίο μπορεί να αποτελέσει την αιτία για την αυξημένη ανθεκτικότητά τους απέναντι στα οξέα (Mani-López et al., 2012).

Αιθέρια έλαια

Ιδιαίτερη προσοχή έχει επικεντρωθεί τελευταία στα εκχυλίσματα βοτάνων και μπαχαρικών, όπως ρίγανη, θυμάρι, δενδρολίβανο, τα οποία χρησιμοποιούνται για να βελτιώσουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και να επεκτείνουν το χρόνο ζωής των τροφίμων. Τα αιθέρια έλαια θεωρούνται ως 'φυσικά' εναλλακτικά των χημικών συντηρητικών και η χρήση τους στα τρόφιμα συνάδει με την απαίτηση των καταναλωτών για ελάχιστα επεξεργασμένα προϊόντα. Ένα σημαντικό χαρακτηριστικό των αιθέριων ελαίων και των συστατικών τους είναι η υδροφοβικότητά τους, η οποία τους επιτρέπει να διεισδύουν στα φωσφολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης και στα μιτοχόνδρια, μεταβάλλοντας τη δομή τους και αυξάνοντας τη διαπερατότητά της ((Knobloch et al., 1989);(Sikkema et al., 1994)). Το αποτέλεσμα είναι η απώλεια ιόντων και άλλων συστατικών των κυττάρων η οποία οδηγεί στο θάνατο τους ((Skandamis and Nychas, 2000),(Ultee et al., 2002)).

Η ρίγανη αποτελεί ένα χαρακτηριστικό μπαχαρικό της Μεσογειακής κουζίνας, το οποίο ανακτάται από την ξήρανση των φύλλων και άνθων των φυτών *Origanum vulgare subsp. hirtum*, γνωστά για την αντιοξειδωτική και την αντιμικροβιακή τους δράση. Οι δύο φαινόλες, καρβακόλη και θυμόλη, οι οποίες αποτελούν τα κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου ρίγανης, είναι υπεύθυνες για την αντιμικροβιακή της δράση (Chouliara et al., 2007).

Ο τρόπος δράσης της καρβακόλης και της θυμόλης έχει αποσπάσει τη μέγιστη προσοχή των ερευνητών. Η θυμόλη είναι δομικά όμοια με την καρβακόλη, έχοντας την ομάδα του υδροξυλίου εντοπισμένη σε διαφορετική θέση στον φαινολικό δακτύλιο. Λόγω της υδρόφοβης

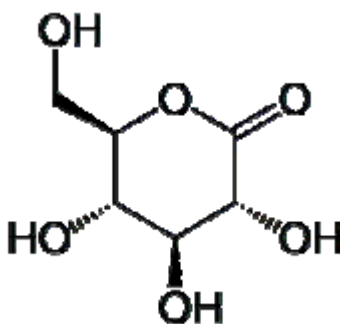
φύσης τους, η καρβακόλη και η θυμόλη αλληλεπιδρούν με διπλοστιβάδα λιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών προκαλώντας απώλεια της ακεραιότητας και διαρροή του κυτταρικού υλικού όπως ιόντα, ATP και νουκλεϊκό οξύ (Mastromatteo et al., 2009). Γενικότερα, η έκφραση της αντιμικροβιακής δραστηριότητας είναι συνήθως ξεκάθαρη, όμως ο μηχανισμός της αντιμικροβιακής δράσης είναι ατελώς κατανοητός. Όσον αφορά στις φαινολικές ενώσεις, είναι γνωστή η ικανότητά τους να παρεμβαίνουν στον κυτταρικό μεταβολισμό μέσω ενός αριθμού μηχανισμών όπως η συμπλοκοποίηση του υποστρώματος, η διάρρηξη της κυτταρικής μεμβράνης, η ενζυμική αδρανοποίηση, η συμπλοκοποίηση μετάλλων καθώς και η ικανότητά τους να διαπερνούν τη μεμβράνη, οι οποίοι αποτελούν σημαντικούς παράγοντες που αφορούν στην ευαισθησία ή την ανθεκτικότητα των εκτιθέμενων κυττάρων (Holley and Patel, 2005). Παρ' όλα αυτά, η πρακτική εφαρμογή αιθέριων ελαίων στα τρόφιμα είναι περιορισμένη λόγω της έντονης γεύσης που προσδίδουν και της αλληλεπίδρασής τους με κάποια συστατικά του τροφίμου. Γι' αυτούς τους λόγους το αποτέλεσμα της συντήρησης των τροφίμων με χρήση αιθέριων ελαίων μπορεί να επιτευχθεί με χαμηλές συγκεντρώσεις αιθέριων ελαίων σε συνδυασμό με άλλες τεχνολογίες συντήρησης όπως η χαμηλή θερμοκρασία, η χαμηλή δόση ακτινοβολίας, η υψηλή υδροστατική πίεση και η συντήρηση σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα.

Σχετική μελέτη έδειξε ότι η ολική μικροχλωρίδα φιλέτου κοτόπουλου συντηρημένου στους 4°C έφτασε στην τιμή 7 logcfu/g (η οποία θεωρείται το ανώτατο όριο για ένα υψηλής ποιότητας φρέσκο πουλερικό), μετά από 5-6 ημέρες για τα συσκευασμένα σε αέρα δείγματα, μετά από 6-7 ημέρες για τα δείγματα που εμπεριείχαν 0,1% έλαιο ρίγανης και μετά από 25 ημέρες για τα δείγματα που εμπεριείχαν 1% έλαιο ρίγανης. Η συγκέντρωση 1% του ελαίου είχε ως αποτέλεσμα την επέκταση του χρόνου ζωής του φιλέτου κατά 19-20 ημέρες, ενώ η συγκέντρωση 0,1% του ελαίου επέκτεινε το χρόνο ζωής μόλις 1-2 ημέρες. Επίσης, ο συνδυασμός 0,1% ελαίου ρίγανης και τροποποιημένης ατμόσφαιρας μείωσε τον αριθμό των ψευδομονάδων στην ένατη ημέρα αποθήκευσης κατά 1,4 logcfu/g ενώ ο αντίστοιχος συνδυασμός με περιεκτικότητα ελαίου ρίγανης 1%, μείωσε τον αριθμό των ψευδομονάδων κατά 4,4logcfu. Έπειτα, δεν επηρεάστηκε ιδιαίτερα ο βαθμός της οξειδωσης των λιπαρών οξέων, πράγμα που αποδίδεται στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες του συγκεκριμένου ελαίου. Τέλος, η τιμή L του χρώματος, παρουσίασε σταδιακή μείωση μέχρι και τις 25 ημέρες αποθήκευσης (Chouliara et al., 2007).

Γλυκονο-δ-λακτόνη

Η γλυκονο-δ-λακτόνη είναι εστέρας ο οποίος υδρολύεται αυθόρμητα σε γλυκονικό οξύ με κινητική αντίδρασης υδρόλυσης, πρώτης τάξης (Braga et al., 2005). Η υδρόλυση της γλυκονο-δ-λακτόνης σε γλυκονικό οξύ έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του pH. Η σταθερά pKa της (3,60) είναι παραπλήσια εκείνης του γαλακτικού οξέος (3,79) στους 25°C (Martin et al., 2009). Πρόκειται για μία λευκή άοσμη και άγευστη κρυσταλλική ένωση που έχει λάβει την

έγκριση της Ευρωπαϊκής ένωσης για χρήση σε τρόφιμα με τον χαρακτηρισμό E575 ως πρόσθετο τροφίμων. Η αντιμικροβιακή δράση της γλυκονο-δ-λακτόνης έχει ερευνηθεί ιδιαίτερα για την παραγωγή προϊόντων κρέατος, από όπου προκύπτει έντονη δράση με χρήση της σε συγκεντρώσεις 0,125 ή 0,25% και σε συνδυασμό με 1,8% γαλακτικό νάτριο ή/και 0,25% διοξικό νάτριο ((Barmpalia et al., 2005), (Lemay et al., 2002)).



Σχήμα 3.1: Συντακτικός τύπος γλυκονο-δ-λακτόνη

Η γλυκονο-δ-λακτόνη αποτελεί ένα μέσο οξίνισης το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί για την επέκταση του χρόνου ζωής του κρέατος. Έχει χρησιμοποιηθεί σε λουκάνικα προκειμένου να αναστείλλει την ανάπτυξη της *Listeria monocytogenes*. Σε προϊόντα βοδινού και χοιρινού κρέατος έχει μειώσει το ολικό μικροβιακό φορτίο. Σε συνδυασμό με άλατα γαλακτικού οξέος, αυξάνει το χρώμα και αναστέλλει την ανάπτυξη της *L. monocytogenes*. Ένας αριθμός μελετών έχει αποδείξει τη το συνεργιστικό αποτέλεσμα όταν η γλυκονο-δ-λακτόνη συνδυαστεί με άλλα οξέα. Μίγμα ερυθροβικού νατρίου και γλυκονο-δ-λακτόνης αναστέλλει την ανάπτυξη του *Bacillus cereus* στο λουκάνικο συκωτιού σε μεγαλύτερο βαθμό απ'ότι το ερυθροβικό νάτριο από μόνο του.

Οι Barringer et al., 2004, πραγματοποίησαν ηλεκτροστατική επικάλυψη με χρήση 4g 3:1 μίγματος γλυκονο-δ-λακτόνης και ερυθροβικού νατρίου (GDL:SE) στην επιφάνεια ποικίλων προϊόντων κρέατος και τα συνέκριναν με τα αντίστοιχα μη προκατεργασμένα δείγματα. Το ολικό μικροβιακό φορτίο της επιφάνειας του κρέατος μετά από 9 ημέρες συντήρησής του υπο ψύξη ήταν χαμηλότερο από εκείνο του Control κατά 2 logCFU/g. Η ανάμιξη γλυκονο-δ-λακτόνης και ερυθροβικού νατρίου προκάλεσαν όμοια μικροβιακή αναστολή με εκείνη που προκάλεσε το ερυθροβικό νάτριο από μόνο του. Επίσης, προσδιορίστηκε η μεταβολή του χρώματος των προκατεργασμένων και μη δειγμάτων κατά την αποθήκευση. Η ερυθρότητα, των μη προκατεργασμένων δειγμάτων μειώθηκε κατά την αποθήκευση καθώς το χρώμα του κρέατος κινούταν προς το καφέ. Αντίθετα, η παράμετρος a, δηλαδή η ερυθρότητα, αυξήθηκε κατά την αποθήκευση από την τιμή 12,5 στην τιμή 15,5. Αναγωγικοί παράγοντες όπως η γλυκονο-δ-λακτόνη και το ερυθροβικό νάτριο, παρεμποδίζουν τον σχηματισμό της μεταμυογλοβίνης από οξυμυογλοβίνη.

Η αμερικανική κυβέρνηση θέτει ως όριο περιεκτικότητας σε γλυκονο-δ-λακτόνη στα διαλύματα εμβάπτισης του κρέατος, την τιμή 0,3% (Code of federal Regulations, 2000), ενώ η Ευρωπαϊκή Ένωση θέτει ως όριο προσθήκης μέχρι 5g/kg κρέατος (Directive95/2/CE, 1995). Όσον αφορά τη χρήση γλυκονο-δ-λακτόνης σε πουλερικά, οι J.Yuste et al.,1998, μελέτησαν το συνδυαστικό αποτέλεσμα της επεξεργασίας με υπερυψηλή υδροστατική πίεση και προσθήκης νισίνης (0, 100, 200 ppm) και γλυκονο-δ-λακτόνης (0 και 1%) σε κρέας πουλερικών το οποίο συντηρήθηκε υπό ψύξη σε θερμοκρασία 2°C. Οι ψυχρόφιλοι μικροοργανισμοί φάνηκαν να είναι πιο ευαίσθητοι στα δείγματα που είχαν επεξεργαστεί με 100ppm νισίνης και γλυκονο-δ-λακτόνη σε πίεση 450MPa και το φορτίο τους έφτασε σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα. Ο συνδυασμός πίεσης 350MPa, 100ppm νισίνης και 1% γλυκονο-δ-λακτόνης ήταν αρκετός για να επεκτείνει το χρόνο ζωής του τροφίμου κατά τη συντήρησή του υπό ψύξη για 30ημέρες. Στη συγκεκριμένη μελέτη η προσθήκη 1% γλυκονο-δ-λακτόνης μείωσε το pH στην τιμή 5,42.

Επίσης σε πρόσφατη έρευνα ωσμωτικά επεξεργασμένων φιλέτων κοτόπουλου στους 15°C για 30 min με διάλυμα 50% μαλτοδεξτρίνης (DE47) και 5% NaCl με και χωρίς προσθήκη γλυκονο-δ-λακτόνης, συντηρημένων στον ατμοσφαιρικό αέρα, η δράση της γλυκονο-δ-λακτόνης ήταν αξιοσημείωτη. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του οργανοληπτικού ελέγχου, ο χρόνος ζωής των δειγμάτων που υποβλήθηκαν σε ωσμωτική επεξεργασία επεκτάθηκε κατά 3 ημέρες, ενώ των δειγμάτων που υποβλήθηκαν σε ωσμωτική επεξεργασία με προσθήκη γλυκονο-δ-λακτόνης κατά 6 ημέρες, σε θερμοκρασία συντήρησης 5°C. Με βάση τα αποτελέσματα του μικροβιολογικού ελέγχου παρατηρήθηκε επέκταση του χρόνου ζωής στην ίδια θερμοκρασία, κατά 2 και 3 ημέρες αντίστοιχα (Οικονόμου, 2013).

Citrox Biocite

Το Citrox Biocite AFA001 (ProVigoroTM) είναι φυσικό προϊόν που αποτελείται από ένα συνδυασμό βιοφλαβονοειδών, βιταμινών και φυσικών οργανικών οξέων. Πρόκειται για ένα σύστημα που παρασκευάζεται από απόσταγμα του φυτού *Citrus aurantium amara*, κιτρικό οξύ, εκχύλισμα μαγιάς (yeast extract) και αλγινικά.

Από τη βιβλιογραφία δεν έχει αναφερθεί η χρήση του citrox ως αντιμικροβιακού σε πουλερικά. Όμως η χρήση του σε ωσμωτικά προεπεξεργασμένα φιλέτα τσιπούρας έδειξε ενθαρρυντικά αποτελέσματα για την αποτελεσματικότητά του ως αντιμικροβιακό κρέατος. Συγκεκριμένα η διατηρησιμότητα των φιλέτων στους 5 °C επεκτάθηκε κατά 3 ημέρες με την προσθήκη citrox σε σχέση με τα ωσμωτικά προεπεξεργασμένα φιλέτα χωρίς αυτό (Τσιρώνη,2010). Επίσης, σε μια άλλη έρευνα οι Tsiraki and Savvaidis, 2014 μελέτησαν την επίδραση της προσθήκης citrox (0,2 ml/100 g) σε τζατζίκι στους 4 °C και βρέθηκε ότι υπήρξε επιβράδυνση της ανάπτυξης των μεσόφιλων μικροοργανισμών, των ζυμών και των μυκήτων με αποτέλεσμα, με βάση την οργανοληπτική εξέταση, να επεκταθεί η διατηρησιμότητα του προϊόντος κατά περίπου 10 ημέρες.

Με βάση τα παραπάνω η χρήση αντιμικροβιακών αποτελεί σημαντικό παράγοντα επιβράδυνσης στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Μια νέα τάση που βρίσκει πολλές εφαρμογές σήμερα είναι η προσθήκη αντιμικροβιακών σε εδώδιμες μεμβράνες και θα παρουσιασθεί αναλυτικά σε επόμενο κεφάλαιο.

3.3.3 Ακτινοβόλιση

Η επεξεργασία με ιοντίζουσα ακτινοβολία αποτελεί επιλογή όλο και περισσότερων χωρών προκειμένου να καταστήσουν τα τρόφιμα στείρα από μικροοργανισμούς. Είναι μία ασφαλής, αποτελεσματική, περιβαλλοντικά καθαρή και ενεργειακά αποδοτική διαδικασία, κυρίως ως μέθοδος επεξεργασίας τελικών προϊόντων (Badr, 2004). Διατροφικές μελέτες έχουν δείξει ότι χαμηλής δόσης ακτινοβολία δεν προκαλεί αξιοσημείωτες μειώσεις στη θρεπτική αξία των τροφίμων κι ότι μακρομόρια όπως πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και λίπη, παραμένουν σχετικά σταθερά. Επίσης, η αλλαγή στη θρεπτικότητα εξαρτάται και από άλλες παραμέτρους όπως το είδος του τροφίμου, οι συνθήκες επεξεργασίας και συσκευασίας όπως θερμοκρασία και έκθεση στον αέρα κατά τη διάρκεια της ακτινοβόλησης και ο χρόνος αποθήκευσης (Crawford and Ruff, 1996). Η ιοντίζουσα ακτινοβολία μπορεί να επηρεάσει άμεσα τους μικροοργανισμούς αλληλεπιδρώντας με βασικά μόρια μέσα στο κύτταρο, ή έμμεσα μέσω ελευθέρων ριζών οι οποίες παράγονται κατά τη ραδιόλυση του (Adams and Moss, 2007). Η ακτινοβόληση των πουλερικών σε δόσεις μέχρι 3kGy δεν επιφέρει δυσμενή αποτελέσματα στη θρεπτική αξία του προϊόντος. Υψηλές δόσεις ακτινοβολίας αποστειρώνουν το τρόφιμο, θανατώνοντας τους μικροοργανισμούς όχι όμως και τους ιούς. Τέλος, η δημιουργία ελευθέρων ριζών αν και προκαλεί ανησυχία για την ασφάλεια των ακτινοβολημένων τροφίμων, σύμφωνα με επιστημονικές έρευνες τα τελευταία 30 χρόνια κατά τις οποίες απομονώθηκαν προϊόντα ραδιόλυσης, δείχνουν ότι δεν προκύπτει καμία ουσία τοξικολογικής σημασίας εξαιτίας της ακτινοβόλησης τροφίμων (Crawford and Ruff, 1996). Σύμφωνα με τους Grandinson and Jennings, 1993, , κατόπιν ακτινοβόλησης με ακτινοβολία ηλεκτρονίων δειγμάτων κρέατος κοτόπουλου, το ολικό μικροβιακό φορτίο ακριβώς μετά την ακτινοβόληση δόσης 1kGy, μειώθηκε κατά 1 logCFU/g.

3.3.4 Ωσμωτική αφυδάτωση

Η μερική αφυδάτωση των τροφίμων με τη χρήση μιας ωσμωτικής κατεργασίας ελκύει όλο και περισσότερο το ενδιαφέρον ως μία μέθοδος προκατεργασίας για τη βελτίωση των θρεπτικών, οργανοληπτικών και λειτουργικών ιδιοτήτων του τροφίμου. Κατά την ωσμωτική αφυδάτωση, το νερό ρέει από το τρόφιμο προς το ωσμωτικό διάλυμα, ενώ οι ωσμωτικές διαλυμένες ουσίες μεταφέρονται από το διάλυμα στο τρόφιμο. Με τη μείωση της ενεργότητας νερού στο τρόφιμο μειώνεται ή παρεμποδίζεται η μικροβιακή ανάπτυξη. Επίσης, αυξανόμενο ενδιαφέρον παρουσιάζει η κατεργασία των τροφίμων σε ωσμωτικά διαλύματα υψηλότερων συγκεντρώσεων (60 ή 70 g διαλυμένης ουσίας ανά 100 g διαλύτη) προκειμένου να επιτευχθεί σημαντική αφαίρεση νερού μαζί με ελεγχόμενη ενσωμάτωση της διαλυμένης ουσίας. Σε

πρόσφατη έρευνα ωσμωτικής κατεργασίας σε στήθος κοτόπουλου, σε ωσμωτικό διάλυμα 60% μαλτοδεξτρίνης και 5% NaCl για 45min σε θερμοκρασία 15°C, σύμφωνα με τα αποτελέσματα του οργανοληπτικού ελέγχου η διατηρησιμότητα επεκτάθηκε κατά 5 ημέρες σε θερμοκρασία συντήρησης 5°C (Ανδρέου, 2013).

3.3.5 Υπερυψηλή πίεση

Η υπερυψηλή πίεση (ΥΠ) αποτελεί μία από τις πιο διαδεδομένες μεθόδους ψυχρής παστερίωσης τροφίμων. Η επεξεργασίες με ΥΠ μεταξύ 300 και 600 MPa μπορούν να αδρανοποιήσουν αλλοιογόνους μικροοργανισμούς στο κρέας, αν και η πίεση ενδέχεται επίσης να επηρεάσει κάποια άλλα χαρακτηριστικά του τροφίμου όπως τρυφερότητα, χρώμα, οξείδωση των λιπών και μικροβιολογικά χαρακτηριστικά (Rodríguez-Calleja et al., 2012). Η ΥΠ δρα πρωτίστως στους μη ομοιοπολικούς δεσμούς, όπως ιοντικούς δεσμούς, δεσμούς υδρογόνου και υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις, και προωθεί αντιδράσεις κατά τις οποίες προκύπτει μία συνολική μείωση σε όγκο. Έπειτα, μπορεί να επιφέρει εμφανή αποτελέσματα σε δομικές και λειτουργικές πρωτεΐνες, αν και το αποτέλεσμα ποικίλει ανάλογα με τη δομή της πρωτεΐνης. Τα μη πρωτεϊνικά μακρομόρια μπορούν επίσης να επηρεαστούν τόσο ώστε για παράδειγμα τα αμυλούχα προϊόντα να αποκτούν γλυκύτερη γεύση λόγω των μεταβολών στο άμυλο οι οποίες επιτρέπουν στην αμυλάση του σιάλου μεγαλύτερη πρόσβαση. Τέλος, η κυτταρική μεμβράνη φαίνεται να αποτελεί επιπλέον έναν σημαντικό στόχο. Οι διπλοστιβάδες λιπιδίων έχει φανεί ότι συμπιέζονται κατά την ΥΠ, πράγμα το οποίο μεταβάλλει τη διαπερατότητά τους (Adams and Moss, 2007).

Η εφαρμογή της ΥΠ έχει ερευνηθεί σε συνδυασμό με ακτινοβολία και άλλες τεχνολογίες όπως θερμική επεξεργασία, χαμηλό pH, αντιμικροβιακές ενώσεις και MAP. Έχει επίσης παρατηρηθεί ότι ο συνδυασμός αντιμικροβιακών με ΥΠ μπορεί να αυξήσει τη μικροβιακή αδρανοποίηση και να επεκτείνει το χρόνο ζωής των τροφίμων. Σύμφωνα με τη μελέτη των Rodríguez-Calleja et al, 2012, κατά την οποία πραγματοποιήθηκε επεξεργασία φιλέτων στήθους κοτόπουλου με ΥΠ (300MPa), η ολική μικροβιακή χλωρίδα των δειγμάτων στον χρόνο t_0 , μειώθηκε στην τιμή $2,10 \log \text{ cfu/g}$ για τα δείγματα ΥΠ-MAP, και κάτω από το όριο ανίχνευσης για τα δείγματα ΥΠ-MAP επεξεργασμένων με διάλυμα οξικού-γαλακτικού οξέος, επεκτείνοντας το χρόνο ζωής τους μέχρι και 4 εβδομάδες κατά τη συντήρησή τους στους 4°C. Επίσης, η εφαρμογή της ΥΠ επέφερε αλλαγές και στο χρώμα των δειγμάτων (αποχρωματισμός δειγμάτων), αυξάνοντας σημαντικά τις τιμές των L, a, b (Rodríguez-Calleja et al., 2012).

Σε μια πρόσφατη έρευνα σε φιλέτα στήθους κοτόπουλου έγινε επεξεργασία των φιλέτων σε ΥΠ στα 600MPa για 5min, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (περίπου 20°C), με και χωρίς ωσμωτική προκατεργασία. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του οργανοληπτικού ελέγχου, ο χρόνος ζωής των δειγμάτων που υποβλήθηκαν σε ωσμωτική επεξεργασία επεκτάθηκε κατά 5 ημέρες, των δειγμάτων που υπέστησαν επεξεργασία με ΥΠ κατά 8 ημέρες και τα δείγματα

που ήταν και ωσμωτικά προκατεργασμένα και επεξεργασμένα με ΥΠ κατά 17 ημέρες σε σχέση με τα ανεπεξεργαστα, σε θερμοκρασία συντήρησης 5°C. Αντίστοιχα είναι τα αποτελέσματα και για τις υπόλοιπες θερμοκρασίες αποθήκευσης (Ανδρέου, 2013).

3.4 Η τεχνολογία εμποδίων (hurdle technology) στην επεξεργασία πουλερικών

Η τεχνολογία εμποδίων αποτελεί μία νέα προσέγγιση για την παραγωγή ασφαλών, σταθερών, θρεπτικών και οικονομικών τροφίμων. Πρόκειται για τη συνδυαστική εφαρμογή διαφορετικών μεθόδων συντήρησης με σκοπό την επιβολή μίας σειράς παραμέτρων ανάσχεσης της αλλοίωσης, οι οποίες καλούνται εμπόδια (hurdles). Η εφαρμογή πολλαπλών εμποδίων συνεπάγεται ότι η δράση του καθενός θα στοχεύει σε διαφορετική δράση του κυττάρου. Ορισμένες τέτοιες παράμετροι όπως για παράδειγμα η παστερίωση, αποτελούν υψηλά εμπόδια για τους περισσότερους μικροοργανισμούς ενώ υπάρχουν εμπόδια, όπως το NaCl, που παρουσιάζουν πιο ασθενή δράση ή η δράση τους περιορίζεται σε ένα εύρος μικροοργανισμών. Ο στόχος της τεχνολογίας εμποδίων είναι η συνδυαστική εφαρμογή εμποδίων ώστε να αναστέλλεται η δράση της μικροχλωρίδας που περιέχεται στο συγκεκριμένο τρόφιμο (Leistner and Gorris, 1995).

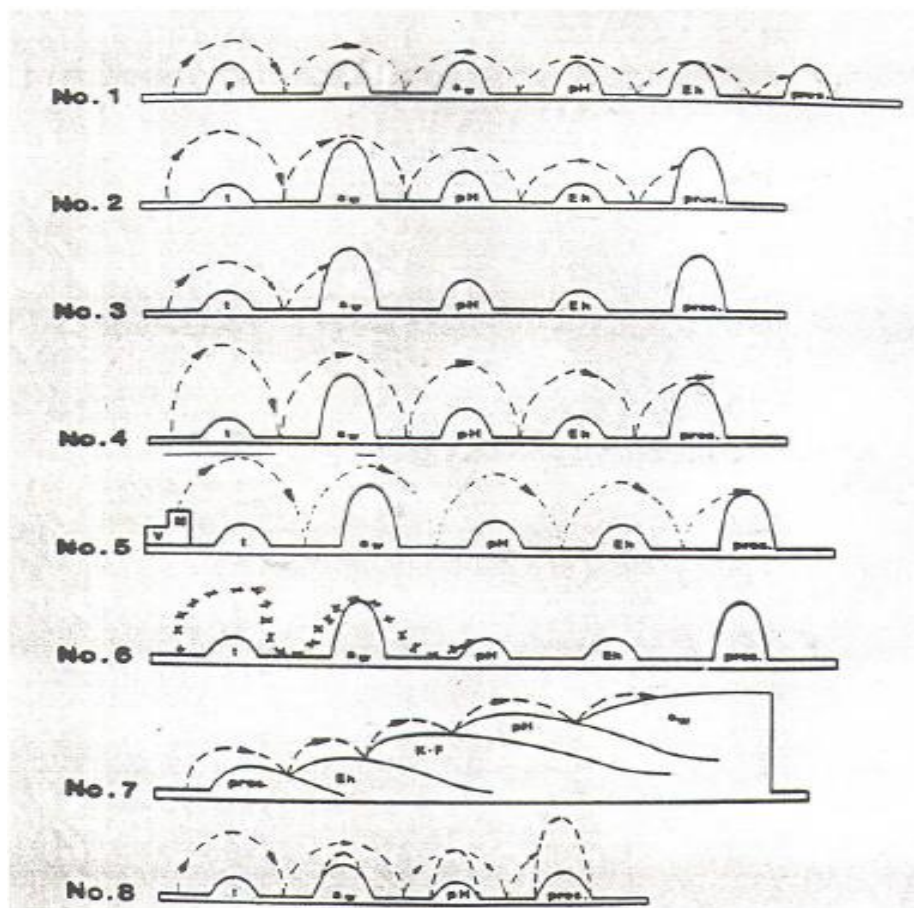
Τα εμπόδια που δρουν συνεργιστικά και καταστέλνουν την μικροβιακή ανάπτυξη διακρίνονται σε φυσικά και φυσικοχημικά και συνοψίζονται στον πίνακα 3.1.

Πίνακας 3.1: Φυσικά και φυσικοχημικά εμπόδια στην τεχνολογία εμποδίων (Ταουκίς et al., 2009)

ΦΥΣΙΚΑ ΕΜΠΟΔΙΑ	ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΑ ΕΜΠΟΔΙΑ
1. Θερμική επεξεργασία (π.χ. από-στερίωση, παστερίωση, λεύκανση)	1. a_w
	2. pH
2. Θερμοκρασία συντήρησης	3. Eh
3. Ακτινοβόληση	4. NaCl
4. Ηλεκτρομαγνητική ενέργεια	5. NaNO ₂
5. Υπερυψηλή πίεση	6. CO ₂
6. Υπέρηχοι	7. Οργανικά οξέα
7. Συσσκευασία	8. Συντηρητικά
8. MAP	9. Κάπνισμα
9. Ασηπτική συσκευασία	10. Μπαχαρικά
10. Μικροϋφή	11. Ανταγωνιστική μικροχλωρίδα

Η τεχνολογία εμποδίων επιτρέπει την παραγωγή σταθερών προϊόντων με συνδυαστική χρήση ήπιων μεθόδων επεξεργασίας. Λόγω της συνεργιστικής δράσης των επιμέρους παραμέτρων, τα εμπόδια μπορούν να εφαρμοστούν σε χαμηλότερη ένταση από ότι θα απαιτείται στην περίπτωση που θα εφαρμόζονταν μεμονωμένα ως μέθοδοι διατήρησης. Η χρήση της τεχνολογίας εμποδίων θεωρείται επιτυχημένη, εάν ο συνδυασμός των εμποδίων αναστέλλει τη μικροβιακή ανάπτυξη στο τρόφιμο, σταθεροποιώντας τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και τη θρεπτικότητα του τροφίμου.

Στο παρακάτω Σχήμα 3.2 απεικονίζεται η δράση διαφόρων εμποδίων όπως π.χ. θέρμανση, ψύξη, a_w , pH, E_h (οξειδοαναγωγικό δυναμικό), συντηρητικά, βιταμίνες, θρεπτικά συστατικά και ανταγωνιστική μικροχλωρίδα σε οχτώ διαφορετικά παραδείγματα (Taoukis et al., 2009).



Σχήμα 3.2: Απεικόνιση της δράσης των εμποδίων σε οχτώ παραδείγματα

Όσον αφορά τα προϊόντα πουλερικών, έχουν χρησιμοποιηθεί αρκετοί συνδυασμοί επεξεργασιών προκειμένου να επιτευχθεί επέκταση του χρόνου ζωής τους, όπως συνδυασμού υπερυψηλής πίεσης-τροποποιημένης ατμόσφαιρας-αντιμικροβιακού (Rodríguez-Calleja et al., 2012), τροποποιημένης ατμόσφαιρας- αιθέριου ελαίου ρίγανης

(Chouliara et al., 2007), ωσμωτικής κατεργασίας- υπερευψηλής πίεσης (Ανδρέου, 2013),
ωσμωτικής κατεργασίας – αντιμικροβιακού (Οικονόμου, 2013).

4. ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΑΣ

4.1 Εισαγωγή

Οι βιομηχανίες επεξεργασίας κρέατος δείχνουν συνεχές ενδιαφέρον στην ανάπτυξη τεχνολογιών με σκοπό την επέκταση της διατηρησιμότητας και την βελτίωση της αποδοχής του προϊόντος από τον καταναλωτή διατηρώντας ταυτόχρονα την ποιότητα και την ασφάλεια τους. Η επέκταση της διάρκειας ζωής των προϊόντων κρέατος και πουλερικών μπορεί να πραγματοποιηθεί χρησιμοποιώντας διάφορες μεθόδους όπως ψύξη, συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας (Modified Atmosphere Packaging, MAP), συσκευασία υπό κενό, κονσερβοποίηση, κατάψυξη και συντηρητικά. Όμως, επειδή η απαίτηση του καταναλωτή για ελάχιστα επεξεργασμένα τρόφιμα είναι αυξημένη, μια από τις ελκυστικότερες τεχνολογίες αποτελεί η MAP. Η MAP εκτός από την επέκταση της διατηρησιμότητας του τροφίμου μπορεί να βελτιώσει και την εμφάνιση του. Η αποτελεσματικότητα της MAP στην επέκταση της διάρκειας ζωής των συσκευασμένων κρεάτων βασίζεται στις αντιμικροβιακές ιδιότητες του CO₂ που βρίσκεται στο εσωτερικό της συσκευασίας. Η παρουσία του CO₂ στον υπερκείμενο χώρο της συσκευασίας αναστέλλει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών με αποτέλεσμα να παρουσιάζεται μικρότερη αλλοίωση. Η διατήρηση του χρώματος είναι επίσης κομβικής σημασίας επειδή το χρώμα είναι η πρώτη ιδιότητα ποιότητας που χρησιμοποιούν οι καταναλωτές για την εκτίμηση της ποιότητας των κρεατικών προϊόντων και έτσι έχει σημαντική επίδραση για την επιλογή αγοράς. Με την χρήση της MAP, το επιθυμητό χρώμα του κρέατος μπορεί να διατηρηθεί και σε κάποιες περιπτώσεις να βελτιωθεί.

Τα ευεργετικά αποτελέσματα της δράσης της MAP μειώνονται αισθητά κατά την αποθήκευση των προϊόντων σε ακατάλληλες θερμοκρασιακές συνθήκες. Όταν ένα τρόφιμο αποθηκεύεται σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας σε θερμοκρασία υψηλότερη από την κατάλληλη για το συγκεκριμένο προϊόν, οι χημικές αντιδράσεις που πραγματοποιούνται καθώς και η ανάπτυξη των μικροοργανισμών επιταχύνονται και η ατμόσφαιρα στο εσωτερικό της συσκευασίας μεταβάλλεται κατά την προώθηση της αλλοίωσης του τροφίμου. Οι εφαρμογές της MAP στα τρόφιμα συνεχώς αυξάνονται καθώς οι βιομηχανίες τροφίμων προσπαθούν να εκπληρώσουν τις απαιτήσεις των καταναλωτών για φρέσκα ψυγμένα τρόφιμα με εκτεταμένη διατηρησιμότητα (Arvanitoyannis and Stratakos, 2012).

4.2 Χρησιμοποιούμενα αέρια στην συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας

Αρκετά αέρια μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην MAP, το καθένα από τα οποία έχει διαφορετικό ρόλο στην διατήρηση των προϊόντων τροφίμων. Τα κύρια αέρια που χρησιμοποιούνται είναι το οξυγόνο, το διοξείδιο του άνθρακα και το άζωτο. Αυτά τα τρία αέρια συνήθως συνδυάζονται με τους ακόλουθους τρόπους:

- ✓ Αδρανή συσκευασία χρησιμοποιώντας εξολοκλήρου N₂
- ✓ Ημι-δραστική συσκευασία χρησιμοποιώντας μίγμα CO₂/N₂ ή O₂/CO₂/N₂

- ✓ Δραστική συσκευασία με χρήση CO₂ ή CO₂/O₂

Αρκετά ακόμα αέρια έχουν χρησιμοποιηθεί όπως, οξειδίο του αζώτου, αιθάνιο, χλώριο, μονοξείδιο του άνθρακα και διοξείδιο του θείου αλλά κυρίως χρησιμοποιούνται υπό πειραματικές συνθήκες εξαιτίας των περιορισμών της νομοθεσίας για την ασφάλεια και του κόστους. Επιπλέον το ήλιο, το αργό, το ξένο και το νέο έχουν επίσης μελετηθεί για την χρήση τους στην MAP καθώς είναι αδρανή και χρησιμεύουν ως αέρια πλήρωσης (Arvanitoyannis and Stratakos, 2012).

4.2.1 Διοξείδιο του άνθρακα

Το διοξείδιο του άνθρακα αποτελεί συχνά μέρος αέριων μιγμάτων για προϊόντα φρέσκου κρέατος και πουλερικών εξαιτίας των αντιμικροβιακών χαρακτηριστικών του τα οποία είναι εντονότερα κατά των αερόβιων gram – βακτηρίων όπως οι ψευδομονάδες με αποτέλεσμα την καθυστέρηση της έναρξης της μικροβιακής αλλοίωσης. Η συνολική επίδραση που έχει στους μικροοργανισμούς είναι η επέκταση της λανθάνουσας φάσης ανάπτυξης και η μείωση του ρυθμού ανάπτυξης κατά την διάρκεια της εκθετικής φάσης. Η επίδραση του CO₂ στους μικροοργανισμούς εξαρτάται από τη συγκέντρωσή του, από το αρχικό μικροβιακό φορτίο, από τη θερμοκρασία κατά την διάρκεια της αποθήκευσης και από το είδος του τροφίμου (Arvanitoyannis and Stratakos, 2012). Οι Mullan και McDowell (2003) ανέφεραν ότι η αντιμικροβιακή δράση του διοξειδίου του άνθρακα είναι υψηλότερη για προϊόντα που αποθηκεύονται μέχρι τους 10 °C σε σύγκριση με προϊόντα που αποθηκεύονται στους 15 °C ή σε υψηλότερες θερμοκρασίες. Η αντιμικροβιακή επίδραση του CO₂ οφείλεται στην ικανότητά του να διέρχεται από τις μεμβράνες των βακτηρίων και να μεταβάλλει το εσωτερικό pH των κυττάρων με συνέπεια να αλλάζουν οι μεταβολικές διεργασίες. Μια επίσης πιθανή εξήγηση για την παρεμποδιστική δράση του διοξειδίου του άνθρακα είναι η αναστολή της πρόσληψης του υποστρώματος από τους μικροοργανισμούς, η απευθείας επίδραση στα ένζυμα καθώς επίσης και η τροποποίηση των πρωτεϊνικών ιδιοτήτων. Επιπλέον το γεγονός ότι το διοξείδιο του άνθρακα προκαλεί μείωση στην τιμή του pH του τροφίμου μπορεί επίσης να δρα δυσμενώς στην ανάπτυξη. Επίσης το διοξείδιο του άνθρακα απορροφάται εύκολα από το κρέας με την απορρόφηση να εξαρτάται από την θερμοκρασία, το pH, την μερική πίεση του CO₂, την αναλογία του υπερκείμενου χώρου της συσκευασίας προς τον όγκο του κρέατος, τον όγκο και την επιφάνεια του κρέατος και τέλος την περιεκτικότητα σε νερό και λίπος. Αν και οι υψηλές συγκεντρώσεις του διοξειδίου είναι ωφέλιμες για την παρεμπόδιση της ανάπτυξης των μικροοργανισμών, υψηλές συγκεντρώσεις σε συσκευασία κρέατος MAP σκουραίνουν το χρώμα του κρέατος εξαιτίας σχηματισμού της μεταμυογλοβίνης. Από την άλλη πλευρά εξαιτίας της λιγότερο παρατηρούμενης μεταβολής του χρώματος του κοτόπουλου σε σχέση με το κόκκινο κρέας, η συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας στο κοτόπουλο μπορεί να επιτρέψει τη χρήση υψηλότερων συγκεντρώσεων διοξειδίου του άνθρακα χωρίς απώλεια του χρώματος (Arvanitoyannis and Stratakos, 2012).

4.2.2 Οξυγόνο

Το οξυγόνο παίζει σημαντικό ρόλο στη συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας του κόκκινου κρέατος. Ο κύριος λόγος της παρουσίας του οξυγόνου στην MAP είναι η ανάπτυξη και διατήρηση ενός επιθυμητού κόκκινου χρώματος (Arvanitoyannis and Stratakos, 2012). Σύμφωνα με τον Kropf (2004), η οξυμυογλοβίνη μπορεί να αναπτυχθεί υπό φυσιολογική ατμοσφαιρική πίεση. Όμως, μία αύξηση στο επίπεδο του οξυγόνου όπως αυτή που επιτυγχάνεται στην MAP μπορεί να οδηγήσει σε βαθύτερη στρώση της κόκκινης οξυμυογλοβίνης η οποία θα προσδώσει παρατεταμένη διάρκεια στο κόκκινο χρώμα του κρέατος. Το κόκκινο χρώμα του κρέατος που προσελκύει τον καταναλωτή μπορεί να επιτευχθεί σε αποθήκευση υπό τροποποιημένη ατμόσφαιρα που περιέχει 70-80% οξυγόνο καθώς σε αυτές τις αναλογίες προωθείται η οξυγόνωση της μυογλοβίνης. Επίσης, σε χαμηλά επίπεδα οξυγόνου το φρέσκο κρέας αποχρωματίζεται όπως αναφέρει ο Solomon (2004). Συγκεκριμένα, σε χαμηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου παρατηρείται μετατροπή του κόκκινου χρώματος σε καφέ εξαιτίας της μετατροπής της μυογλοβίνης σε μεταμυογλοβίνη. Ωστόσο, η αποθήκευση του κρέατος σε ατμόσφαιρες με υψηλή συγκέντρωση οξυγόνου έχει βρεθεί ότι προκαλεί υποβάθμιση στην ποιότητα του κρέατος. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το οξυγόνο επιφέρει οξειδωση των λιπαρών (τάγγισμα) και έτσι δημιουργούνται ανεπιθύμητες οσμές, οι οποίες ανιχνεύονται εύκολα από τους καταναλωτές. Τα υψηλά επίπεδα οξυγόνου μπορούν να προκαλέσουν ενδομοριακές συνδέσεις οι οποίες μειώνουν την τρυφερότητα του κρέατος και την διατροφική αξία καθώς προκαλείται απώλεια των απαραίτητων αμινοξέων. Επιπλέον το οξυγόνο ενισχύει την ανάπτυξη των αερόβιων μικροοργανισμών και παρεμποδίζει την ανάπτυξη των αναερόβιων (Arvanitoyannis and Stratakos, 2012).

4.2.3 Άζωτο

Το άζωτο έχει ελάχιστη επίδραση στις αντιδράσεις μεταβολισμού που πραγματοποιούνται στο κρέας εξαιτίας της χαμηλής διαλυτότητάς του στο νερό και στο λίπος. Το N₂ είναι απαραίτητο ως αέριο πλήρωσης σε προϊόντα κρέατος που συσκευάζονται σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα επειδή συσκευασίες με υψηλή περιεκτικότητα σε διοξείδιο του άνθρακα τείνουν να καταρρεύσουν εξαιτίας της υψηλής διαλυτότητας του CO₂ στον ιστό του κρέατος. Το N₂ χρησιμοποιείται ως υποκατάστατο του οξυγόνου στη συσκευασία με σκοπό τον περιορισμό της οξειδωσης και την αναστολή της ανάπτυξης των αερόβιων μικροοργανισμών. Συσκευασία με 100% N₂ μπορεί να αναστείλει την απώλεια γεύσης και άλλες χημικές μεταβολές που προκαλούνται παρουσία οξυγόνου επεκτείνοντας έτσι την διάρκεια ζωής του προϊόντος (Sebranek and Houser 2006).

4.2.4 Μονοξείδιο του άνθρακα

Ο Αμερικανικός οργανισμός τροφίμων και φαρμάκων (U.S. Food and Drug Administration) επικύρωσε το CO ως μία ουσία που θεωρείται ασφαλής σε επίπεδα CO έως 0,4% σε συστήματα MAP (FDA 2002). Η μυογλοβίνη παρουσία CO σχηματίζει την

καρβοξυμογλοβίνη η οποία προσδίδει στην επιφάνεια του κρέατος ένα κόκκινο χρώμα. Η καρβοξυμογλοβίνη είναι σταθερότερη από την οξυμογλοβίνη και έτσι είναι λιγότερο πιθανό να οξειδωθεί σε μεταμογλοβίνη κατά την διάρκεια της αποθήκευσης. Εκτός από την διατήρηση του επιθυμητού χρώματος, το CO εξαιτίας της αντιβακτηριακής του δράσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά ώστε να επεκτίνει την διατηρησιμότητα των προϊόντων. Οι Luño et al. (2000) ανέφεραν ότι το CO στην MAP μειώνει σημαντικά τους ολικούς αερόβιους μικροοργανισμούς ενώ τα γαλακτικά βακτήρια φαίνεται να είναι πιο ανθεκτικά (Arvanitoyannis and Stratakos, 2012).

4.2.5 Διοξείδιο του θείου

Το διοξείδιο του θείου είναι χημικά πολύ δραστικό σε υδατικό διάλυμα και σχηματίζει ενώσεις θειώδους άλατος οι οποίες είναι ανασταλτικές στην ανάπτυξη των βακτηρίων σε όξινες συνθήκες. Το διοξείδιο του θείου χρησιμοποιείται στον έλεγχο της μικροβιακής ανάπτυξης όπως τα λουκάνικα. Μερικοί άνθρωποι επιδεικνύουν ευαισθησία στα θειώδη άλατα στα τρόφιμα και γι' αυτό η χρήση τους επανεξετάζεται τα τελευταία χρόνια (Kerry et al., 2002).

4.2.6 Αργό

Το αργό είναι ευγενές αέριο και δεν είναι γνωστό να πραγματοποιεί οποιαδήποτε χημική ή βιολογική δραστηριότητα. Εντούτοις, έχει αναφερθεί ότι έχει εμφανίσει αντιμικροβιακή δράση. Το αργό είναι παρόν στην ατμόσφαιρα σε μικρά ποσοστά (0,90%) (Kerry et al., 2002).

4.3 Υλικά συσκευασίας περιέκτη

Η κατάλληλη επιλογή του υλικού συσκευασίας είναι μια σημαντική παράμετρος για την αποτελεσματικότητα της MAP. Η ποιότητα του τροφίμου που τοποθετείται στο εσωτερικό της συσκευασίας σχετίζεται με τις ιδιότητες του υλικού συσκευασίας. Η πλειονότητα των υλικών που χρησιμοποιούνται για τη συσκευασία του κρέατος και των πουλερικών αποτελείται από πολυαμίδιο (PA), πολυεστέρα, πολυαιθυλένιο (PE) και πολυπροπυλένιο (PP). Συγκεκριμένα, το πολυαμίδιο ή νάϊλον εξαιτίας της πολικότητας της αμινομάδας του χαρακτηρίζεται από χαμηλή διαπερατότητα σε υδρατμούς. Επίσης, το πολυαμίδιο εμφανίζει υψηλές αντοχές στην διάτρηση. Όσον αφορά το πολυαιθυλένιο χαρακτηρίζεται από μεγάλη ελαστικότητα, υψηλή αντίσταση στο κρύο και χαμηλή διαπερατότητα σε υδρατμούς. Τέλος, το πολυπροπυλένιο είναι ένα θερμοπλαστικό πολυμερές με κύρια πλεονεκτήματά του τη χαμηλή διαπερατότητα σε υδρατμούς και την αντοχή σε χημικές ουσίες και διαβρώσεις. Το πολυπροπυλένιο είναι το ευρύτερα χρησιμοποιούμενο πολυμερές για την κατασκευή άκαμπτων θηκών συσκευασίας τροφίμων λόγω των υψηλών μηχανικών αντοχών του. Τέλος, εξαιτίας των απαιτήσεων των καταναλωτών για υλικά συσκευασίας φιλικότερα προς το περιβάλλον, τα βιοπολυμερή μπορούν να αντικαταστήσουν τα συνθετικά πολυμερή σε εφαρμογές συσκευασίας.

Για να είναι ένα υλικό συσκευασίας αποτελεσματικό θα πρέπει να τηρεί ορισμένες φυσικές και μηχανικές προδιαγραφές όπως:

- ✓ Να διαθέτει τις φυσικές ιδιότητες ώστε να επιτρέπει τη χαμηλή μεταφορά υδρατμών, αερίων και φωτός
- ✓ Να επιτρέπει ένα ποσοστό του χώρου, μετά την τοποθέτηση του προϊόντος, να είναι ελεύθερο
- ✓ Να διαθέτει το κατάλληλο σχήμα
- ✓ Να μπορεί να διαφυλάξει την αέρια σύσταση της συσκευασίας μέχρι η τελευταία να ανοιχθεί από τον καταναλωτή
- ✓ Να διαθέτει τις μηχανικές ιδιότητες ώστε να μπορεί να διατηρείται κατά την επεξεργασία, συντήρηση και διανομή του τελικού προϊόντος (Arvanitoyannis and Stratakos, 2012).

4.4 Εξοπλισμός για συσκευασία MAP

Αρκετές συσκευές είναι διαθέσιμες για τη συσκευασία των τροφίμων σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, χρησιμοποιώντας διάφορα μίγματα κυρίως O₂/CO₂/N₂ τα οποία παρατείνουν την διάρκεια ζωής του φρέσκου κρέατος για αρκετό χρονικό διάστημα ανάλογα με την περιεκτικότητά τους και τις θερμοκρασίες ψύξης. Ο πιο κοινός τύπος, εισάγει το μίγμα του αερίου στη συσκευασία και στη συνέχεια τη σφραγίζει. Η χρήση της τεχνολογίας τροποποιημένης ατμόσφαιρας για τη μαζική συσκευασία τροφίμων αναπτύχθηκε στα μέσα της δεκαετίας του 1970. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιεί προσχηματισμένες συσκευασίες από εύκαμπτα υλικά. Ο αέρας που περιβάλλει το προϊόν μέσα στη συσκευασία αφαιρείται και αντικαθίσταται με ένα συγκεκριμένο μίγμα αερίων (Kerry et al., 2002).

4.5 Εφαρμογές συσκευασίας τροποποιημένης ατμόσφαιρας σε προϊόντα πουλερικών

Μέχρι σήμερα έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες οι οποίες εξετάζουν την επίδραση της συσκευασίας MAP στην επέκταση της διατηρησιμότητας του προϊόντος και στην βελτίωση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του τροφίμου. Παρακάτω παρουσιάζονται κάποιες πρόσφατες εφαρμογές συσκευασίας τροποποιημένης ατμόσφαιρας σε προϊόντα κοτόπουλου οι οποίες έδειξαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα στην αναστολή της δράσης των μικροοργανισμών.

Η Ντεντοπούλου (2005) μελέτησε την επίδραση συσκευασίας τροποποιημένης ατμόσφαιρας στην επέκταση της διατηρησιμότητας νωπών φιλέτων κοτόπουλου σε θερμοκρασίες συντήρησης 0, 5, 10 και 15 °C. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν 2 διαφορετικά μίγματα αερίων: MAP1 (51,3% CO₂ και 48,7% αέρα) και MAP2 (48% CO₂ και 52% N₂). Η συσκευασία MAP1 επέκτεινε τον χρόνο ζωής των δειγμάτων σε σχέση με το δείγμα αναφοράς κατά 3 ημέρες ενώ η MAP2 κατά 6 ημέρες, στους 0 °C. Αντίστοιχα ήταν τα αποτελέσματα στους 5 και 10 °C ενώ στους 15 °C δεν παρατηρήθηκε αύξηση του χρόνου ζωής των φιλέτων.

Οι Chouliara et al.(2007) μελέτησαν την μεμονωμένη και συνδυαστική επίδραση αιθέριου ελαίου ρίγανης (0,1% και 1%) και συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας (30% CO₂/70%

N₂ (MAP1) και 70% CO₂/30% N₂ (MAP2) με σκοπό την επέκταση της διατηρησιμότητας φρέσκων φιλέτων κοτόπουλου στους 4 °C. Με βάση την μικροβιολογική ανάλυση παρατηρήθηκε επέκταση της διατηρησιμότητας κατά 6 ημέρες για το MAP1 και 9 ημέρες για το MAP2. Την μεγαλύτερη επέκταση την έδωσε ο συνδυασμός τόσο του MAP1 όσο και του MAP2 με το αιθέριο έλαιο ρίγανης (1%) κατά 19 ημέρες. Με βάση την οργανοληπτική ανάλυση πραγματοποιήθηκε επέκταση της διατηρησιμότητας κατά 2-3 ημέρες για τα δείγματα MAP και 5-6 ημέρες για τα δείγματα MAP/αιθέριου ελαίου ρίγανης (0,1%). Όσον αφορά την αναστολή της ανάπτυξης των ψευδομονάδων, η παρουσία του CO₂ μείωσε το φορτίο των ψευδομονάδων στο MAP1 και MAP2 κατά 1,1 και 2,1 log cfu/g αντίστοιχα. Ωστόσο ο συνδυασμός MAP2 με έλαιο ρίγανης (1%) παρουσίασε την καλύτερη παρεμπόδιση στην ανάπτυξη των ψευδομονάδων μειώνοντας το φορτίο κατά 5 log cfu/g. Αντίστοιχα και οι δύο μέθοδοι συσκευασίας MAP μείωσαν λόγω της παρουσίας του CO₂ το φορτίο των γαλακτικών βακτηρίων και των *B. Thermosphacta* είτε μεμονωμένα είτε συνδυαστικά με την χρήση του αιθέριου ελαίου ρίγανης.

Επίσης, οι Chouliara et al.(2008) μελέτησαν την συνδυαστική επίδραση της ακτινοβολίας και της συσκευασίας τροποποιημένης ατμόσφαιρας με σκοπό την επέκταση της διατηρησιμότητας φρέσκων φιλέτων κοτόπουλου στους 4 °C. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν δυο συχνότητες ακτινοβολίας γ (2 και 4 kGy) και δυο συστάσεις αερίων στην MAP1 (30% CO₂/70% N₂) και MAP2 (70% CO₂/30%N₂) καθώς και συνδυασμός τους. Με βάση τον μικροβιολογικό έλεγχο, όταν η ολική μικροβιακή χλωρίδα έφτασε την τιμή 7 log cfu/g, η οποία αποτελεί το ανώτατο μικροβιολογικό όριο για το φρέσκο κοτόπουλο παρατηρήθηκαν τα εξής αποτελέσματα: το MAP1 επέκτεινε την διάρκεια ζωής κατά 6 ημέρες, το MAP2 κατά 9 ημέρες και ο συνδυασμός ακτινοβολίας (4 kGy) τόσο για το MAP1 και το MAP2 παρουσίασε τα καλύτερα αποτελέσματα δίνοντας επέκταση κατά 20 ημέρες. Όσον αφορά το μικροβιολογικό φορτίο, τόσο οι ψευδομονάδες όσο και τα *B. Thermosphacta* παρουσίασαν αναστολή ανάπτυξης και στις δυο συνθήκες MAP σε σχέση με το αρχικό ανεπεξεργαστο δείγμα τόσο μεμονωμένα όσο και σε συνδυασμό με την ακτινοβολία. Αντίθετα, τα γαλακτικά βακτήρια δεν παρουσίασαν σημαντική μείωση παρουσία MAP σε σχέση με το δείγμα αναφοράς λόγω της ικανότητας των γαλακτικών βακτηρίων να αναπτύσσονται σε αναερόβιες συνθήκες.

Επιπλέον, οι Patsias et al (2008) μελέτησαν την επίδραση συσκευασίας τροποποιημένης ατμόσφαιρας (70% N₂-30%CO₂) σε δείγματα φρέσκων φιλέτων κοτόπουλου στους 4 °C. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το MAP καθυστέρησε την μικροβιακή ανάπτυξη. Συγκεκριμένα οι ψευδομονάδες ήταν οι επικρατέστεροι μικροοργανισμοί στα φιλέτα και το MAP μείωσε τον πληθυσμό τους κατά 2-4 log cfu/g. Όσον αφορά τα γαλακτικά βακτήρια, το τελικό τους φορτίο δεν επηρεάστηκε από την παρουσία της MAP ωστόσο ο ρυθμός ανάπτυξής τους μειώθηκε. Σύμφωνα με την μικροβιολογική εξέταση, με βάση το όριο των 7 log cfu/g η διατηρησιμότητα των δειγμάτων ήταν 6 ημέρες για τα δείγματα αναφοράς και 10 ημέρες για τα συσκευασμένα

κάτω από τροποποιημένη ατμόσφαιρα. Σύμφωνα με την οργανοληπτική εξέταση, το MAP επέκτεινε την αποδοχή των δειγμάτων κατά 1 ημέρα.

Σε μία άλλη έρευνα οι Giatrakou et al (2010) εξέτασαν σε δείγματα κεμπάπ κοτόπουλου την επίδραση της συσκευασίας MAP τόσο μεμονωμένα όσο και συνδυαστικά με χρήση χιτοζάνης (1,5%) και αιθέριου ελαίου θυμαριού (0,2%) στους 4 °C. Συγκεκριμένα, με βάση το μικροβιολογικό φορτίο βρέθηκε ότι σε σχέση με το δείγμα αναφοράς η επέκταση της διάρκειας ζωής ήταν 2 και 5 ημέρες για τα δείγματα MAP και MAP-αιθέριο έλαιο θυμαριού και MAP- χιτοζάνη αντίστοιχα και 9 ημέρες για τα δείγματα MAP-αιθέριο έλαιο θυμαριού-χιτοζάνη. Η μεμονωμένη χρησιμοποίηση MAP επιβράδυνε την ανάπτυξη των ψευδομονάδων και μείωσε το τελικό τους φορτίο κατά 1 log cfu/g. Αντίθετα, οι αποικίες των *B. thermosphacta* και των γαλακτικών βακτηρίων δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από την μεμονωμένη εφαρμογή της MAP. Από την άλλη πλευρά, η MAP σε συνδυασμό με τους αντιμικροβιακούς παράγοντες μείωσε σημαντικά το φορτίο των παραπάνω μικροοργανισμών. Με βάση την οργανοληπτική αποδοχή (όριο = βαθμολόγηση 6), τόσο τα δείγματα αναφοράς όσο και τα δείγματα MAP είχαν χρόνο ζωής 6 ημέρες ενώ το MAP σε συνδυασμό με τους αντιμικροβιακούς παράγοντες έδωσαν διατηρησιμότητα 12 ημέρες.

Ακόμη, οι Hasapidou et al.(2011) μελέτησαν την συνδυαστική επίδραση αιθέριου ελαίου ρίγανης, EDTA και συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας με σκοπό την επέκταση της διατηρησιμότητας σε συκώτι κοτόπουλου στους 4 °C. Μελετώντας την ολική μικροβιακή χλωρίδα συμπέραναν με βάση τον μικροβιολογικό έλεγχο και την οργανοληπτική ανάλυση τα εξής: η διατηρησιμότητα του δείγματος συκωτιού κοτόπουλου σε συσκευασία MAP (30%CO₂/70% N₂) επεκτάθηκε κατά 7 ημέρες. Ο συνδυασμός MAP με EDTA (20 mM) επέκτεινε την διάρκεια ζωής κατά 9 ημέρες, MAP με EDTA και αιθέριου ελαίου ρίγανης (0.1%) κατά 15 ημέρες και MAP με EDTA και αιθέριου ελαίου ρίγανης (0.3%) περισσότερο από 15 ημέρες.

Επίσης οι Rossaint et al (2014) σύγκριναν την επίδραση δύο διαφορετικών συστάσεων συσκευασίας MAP με υψηλή περιεκτικότητα O₂ (70% O₂ και 30% CO₂) και υψηλή περιεκτικότητα N₂ (70% N₂ και 30% CO₂) με σκοπό την επέκταση της διατηρησιμότητας φρέσκων φιλέτων κοτόπουλου στους 4 °C. Οι αναερόβιες συνθήκες ευνόησαν την ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων ενώ οι αερόβιες συνθήκες ευνόησαν την ανάπτυξη των *Brochothrix thermosphacta*. Ωστόσο, μη σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) στην ολική μικροβιακή χλωρίδα, στις *Pseudomonas spp.* και στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά παρατηρήθηκαν για τα δείγματα κοτόπουλου που αποθηκεύτηκαν σε συσκευασία MAP υψηλής περιεκτικότητας O₂ και υψηλής περιεκτικότητας N₂. Η διατηρησιμότητα των δειγμάτων και στις δύο συνθήκες συσκευασίας MAP ήταν 10 ημέρες με βάση το όριο των 7 log cfu/g για την ολική μικροβιακή χλωρίδα. Ταυτόχρονα η οργανοληπτική αποδοχή και των δύο δειγμάτων έφτασε επίσης στις 10 ημέρες.

Όπως φαίνεται από τις παραπάνω εφαρμογές η συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας επιδρά θετικά στην καθυστέρηση της μικροβιολογικής αλλοίωσης του κρέατος των πουλερικών τόσο μεμονωμένα όσο και συνδυαστικά με άλλους παράγοντες ανάσχεσης της ανάπτυξης των αλλοιογόνων μικροοργανισμών.

5. ΕΔΩΔΙΜΕΣ ΜΕΜΒΡΑΝΕΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΑ

5.1 Οι εδώδιμες μεμβράνες και ο ρόλος τους

Εδώδιμη μεμβράνη θεωρείται κάθε είδος υλικού που χρησιμοποιείται για επικάλυψη σε διάφορα τρόφιμα με σκοπό να παραταθεί η διάρκεια ζωής του προϊόντος και μπορεί να καταναλωθεί μαζί με το τρόφιμο (Embuscado and Huber, 2009). Οι εδώδιμες μεμβράνες λειτουργούν ως «φράγμα» ανάμεσα στο τρόφιμο και το περιβάλλον του με σκοπό να ενισχύσουν την ποιότητα του τροφίμου προστατεύοντάς το από φυσικές, χημικές και μικροβιολογικές αλλοιώσεις. Ο σχεδιασμός και η εφαρμογή των εδώδιμων μεμβρανών σε προϊόντα κρέατος προκύπτει από την έρευνα νέων μεθόδων διατήρησής τους, την ανάγκη αξιοποίησης παραπροϊόντων από ανανεώσιμες πηγές και την επιθυμία να δοθεί μία πιο βιολογική και φυσική εικόνα στο τρόφιμο.

Οι εδώδιμες μεμβράνες παρέχουν μείωση της απώλειας υγρασίας κατά την διάρκεια αποθήκευσης νωπού ή κατεψυγμένου κρέατος, έλεγχο της ανταλλαγής και διάχυσης αερίων, διατήρηση του ζωμού του κρέατος και μείωση της οξειδωσης της μυογλοβίνης στο κόκκινο κρέας. Επίσης εμποδίζουν το τρόφιμο να επιμολυνθεί μικροβιακά καθώς και να χάσει σημαντικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του όπως το χρώμα, το άρωμα και η υφή. Η δράση των εδώδιμων μεμβρανών ενισχύεται κατά την ενσωμάτωση αντιμικροβιακών και αντιοξειδωτικών ουσιών με σκοπό την παρεμπόδιση ανάπτυξης αλλοιογόνων και παθογόνων μικροοργανισμών, την καθυστέρηση της οξειδωσης των λιπαρών, την αποφυγή εμφάνισης ανεπιθύμητου χρώματος και την βελτίωση της θρεπτικότητας του επικαλυμμένου τροφίμου (Sánchez-Ortega et al., 2014).

Μια άλλη εφαρμογή των εδώδιμων μεμβρανών είναι η χρήση τους ως περιβλήματα μαζί με μη εδώδιμες μεμβράνες, δημιουργώντας πολυστρωματική συσκευασία στο τρόφιμο αυξάνοντας έτσι την αντίσταση στην διάχυση υγρασίας και αερίων. Στην περίπτωση αυτή, οι εδώδιμες μεμβράνες αποτελούν το εσωτερικό στρώμα που έρχεται σε επαφή με το τρόφιμο (Bourtoom et al., 2008).

Τα υλικά που χρησιμοποιούνται για τις εδώδιμες μεμβράνες, διαλυτοποιούνται σε διάλυμα νερού ή αλκοόλης ή και μίγμα νερού/αλκοόλης. Σε αρκετές περιπτώσεις κρίνεται απαραίτητη η προσθήκη πλαστικοποιητών ή γαλακτοματοποιητών για την παραγωγή αποτελεσματικότερων εδώδιμων μεμβρανών. Οι πλαστικοποιητές βελτιώνουν τις μηχανικές ιδιότητες των μεμβρανών, ενώ οι γαλακτοματοποιητές μπορεί να προστεθούν με σκοπό την αύξηση της σταθερότητας και της προσκολλησιμότητας. Πλαστικοποιητές, όπως η γλυκερίνη, τα ακετυλιωμένα μονογλυκερίδια, η πολυαιθυλενογλυκόλη, και η σακχαρόζη χρησιμοποιούνται συχνά για να αυξήσουν τις μηχανικές ιδιότητες της μεμβράνης. Η ενσωμάτωση των εδώδιμων μεμβρανών πάνω σε τρόφιμα γίνεται συνήθως με εμβάπτιση,

άπλωμα με χρήση μαχαιριού και με την διεργασία εκβολής για την παραγωγή εδώδιμων επικαλυπτικών φιλμ (Espitia et al., 2014).

Τα ιδανικά χαρακτηριστικά των εδώδιμων μεμβρανών είναι:

- Μη τοξικά, υποαλλεργικά και εύπεπτα συστατικά
- Παροχή δοκιμής και μηχανικής σταθερότητας, ώστε να αποφευχθεί η φθορά κατά την μεταφορά και εμπορευματοποίηση του προϊόντος
- Καλή προσκόλληση στην επιφάνεια του τροφίμου
- Έλεγχος της διάχυσης του νερού εντός και εκτός του τροφίμου ώστε να διατηρείται η επιθυμητή υγρασία
- Παροχή ημι- διαπερατότητας για να διατηρήσουν την εσωτερική ισορροπία των αερίων
- Αποτροπή απώλειας των συστατικών που σταθεροποιούν το άρωμα, το χρώμα και όλα τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που είναι απαραίτητα για την αποδοχή του προϊόντος από τους καταναλωτές
- Παροχή βιοχημικής και μικροβιακής σταθερότητας προστατεύοντας το προϊόν από την μικροβιακή επιμόλυνση και άλλους τύπους αποσύνθεσης (Kong et al., 2010).

5.2 Είδη εδώδιμων μεμβρανών

Οι κύριες κατηγορίες εδώδιμων μεμβρανών χρησιμοποιούν τα βασικά συστατικά των τροφίμων όπως πρωτεΐνες, πολυσακχαρίτες και λιπαρά. Τα χαρακτηριστικά και οι ιδιότητες των κατηγοριών των εδώδιμων μεμβρανών αναλύονται στις επόμενες παραγράφους.

5.2.1 Σύσταση και ιδιότητες πρωτεϊνικών μεμβρανών

Οι μεμβράνες που σχηματίζονται από πρωτεΐνες προέρχονται από ζωικές (καζεΐνη, πρωτεΐνες ορού γάλακτος, κολλαγόνο, ζελατίνη, αλβουμίνη αυγού) και φυτικές (καλαμπόκι, σόγια, σιτάρι, σπόρο βαμβακιού, ρύζι) πηγές. Οι πρωτεϊνικές μεμβράνες εφαρμόζουν καλά στις υδρόφιλες επιφάνειες του κρέατος και παρέχουν φράγμα στο οξυγόνο και το διοξείδιο του άνθρακα αλλά δεν παρουσιάζουν αντίσταση στην διάχυση του νερού. Η προσθήκη πλαστικοποιητών όπως η πολυαιθυλενογλυκόλη και η γλυκερόλη πραγματοποιείται στις πρωτεϊνικές μεμβράνες ώστε να βελτιώσουν την ελαστικότητα τους, ενώ η διαπερατότητα του νερού μειώνεται προσθέτοντας υδρόφοβες ενώσεις όπως κερί μέλισσας ή έλαια (ελαϊκό). Παρά τα πλεονεκτήματά τους, οι πρωτεϊνικές εδώδιμες μεμβράνες είναι ευαίσθητες στα πρωτεολυτικά ένζυμα που βρίσκονται στα προϊόντα κρέατος καθώς επίσης κάποιες από αυτές μπορεί να είναι αλλεργιογόνες, όπως οι πρωτεΐνες σιταριού, προκαλώντας ανεπιθύμητες αντιδράσεις σε ευπαθή άτομα. Μια εφαρμογή χρήσης πρωτεϊνικών μεμβρανών είναι η αντικατάσταση των παραδοσιακών υλικών που χρησιμοποιούνταν ως περίβλημα των λουκάνικων (έντερο ζώων) με κολλαγόνο.

5.2.2 Σύσταση και ιδιότητες πολυσακχαρικών μεμβρανών

Οι εδώδιμες μεμβράνες πολυσακχαριτών χαρακτηρίζονται γενικά από υψηλή διαπερατότητα υγρασίας αλλά παρουσιάζουν εκλεκτικότητα στην διαπερατότητα στο οξυγόνο και το διοξείδιο του άνθρακα και αντίσταση στα λίπη και έλαια. Οι μεμβράνες πολυσακχαριτών προέρχονται από κυτταρίνη, άμυλο (φυσικό και τροποποιημένο), πηκτίνη, εκχυλίσματα φυκιών (αλγινικά, καραγενάνη και άγαρ), κόμμεα (αραβικό κόμμι, τραγακάνθη, γκουάρ), πουλλουλάνη και χιτοζάνη. Αυτές οι ενώσεις προσδίδουν στις μεμβράνες ιδιότητες όπως σκληρότητα, υψηλό ιξώδες, συγκολλητικότητα και ικανότητα σχηματισμού γέλης. Οι μεμβράνες των πολυσακχαριτών χρησιμοποιούνται με σκοπό να επεκτείνουν την διάρκεια ζωής των προϊόντων κρέατος εμποδίζοντας την αφυδάτωση λόγω της υδροφιλικότητάς τους. Ταυτόχρονα λόγω της αντίστασης που παρουσιάζουν στην διάχυση του οξυγόνου αποτρέπουν τον οξειδωτικό ταγγισμό, την δημιουργία σκουρόχρωμης επιφάνειας και επιβραδύνουν την ανάπτυξη των αερόβιων μικροοργανισμών που προκαλούν αλλοίωση στα τρόφιμα. Οι εδώδιμες μεμβράνες πολυσακχαριτών σε προϊόντα κρέατος βελτιώνουν την δομή, την υφή και μειώνουν την απώλεια υγρασίας κατά το μαγείρεμα.

Η χιτοζάνη είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη εδώδιμη πολυσακχαρική μεμβράνη λόγω της αντιμικροβιακής της δράσης και έχει τοποθετηθεί σε χοιρινά μπιφτέκια, σε λουκάνικα, σε βραστή γαλοπούλα, σε βοδινό κρέας, σε φιλέτο κοτόπουλου και σε φιλέτα μπακαλιάρου. Επίσης, αρκετές αναφορές παρουσιάζουν την πηκτίνη ως εδώδιμη μεμβράνη σε μπιφτέκια, λουκάνικα και στήθος κοτόπουλου (Sánchez-Ortega et al., 2014).

5.2.2.1 Πηκτίνες

Οι πηκτίνες είναι μια οικογένεια πολυσακχαριτών που βρίσκεται στα τοιχώματα των φυτικών κυττάρων. Ο σκελετός της πηκτίνης περιέχει (1 → 4) α-D-γαλακτουρονικό οξύ και ανάλογα με την προέλευσή τους περιέχουν D- γλυκόζη, L- αραβινόζη και L- ραμνόζη. Οι καρβοξυλικές ομάδες του γαλακτουρονικού οξέος εστεροποιούνται μερικώς από μεθυλομάδες. Ο βαθμός εστεροποίησης, που αναφέρεται στον αριθμό των μέθυλο- εστεροποιημένων γαλακτουρονικών οξέων έναντι του συνολικού αριθμού των μονάδων του γαλακτουρονικών οξέων, καθώς επίσης και η κατανομή των μεθυλομάδων κατά μήκος της πολυσακχαρικής αλυσίδας καθορίζουν την διαλυτότητα και τις ιδιότητες ζελατινοποίησης των πηκτινών. Αν ο βαθμός εστεροποίησης είναι μεγαλύτερος από 50% τότε οι πηκτίνες ονομάζονται υψηλά εστεροποιημένες ενώ όταν είναι μικρότερος από 50% ονομάζονται χαμηλά εστεροποιημένες (Baldwin et al., 2012).

Στις μέρες μας το μεγαλύτερο μέρος της πηκτίνης του εμπορίου λαμβάνεται με κατεργασία φλοιών εσπεριδοειδών με αραιά οξέα, ενώ μικρά ποσά πηκτίνης παρασκευάζονται από υπολείμματα έκθλιψης μήλου. Τα πηκτινικά συστατικά που παράγουν σταθερά πήγματα είναι εκείνα που έχουν μεγάλο M.B και μεγάλο βαθμό μεθυλίωσης. Όσο αυξάνεται ο βαθμός μεθυλίωσης τόσο μεγαλύτερη είναι η θερμοκρασία που μπορεί να σχηματιστεί πήγμα.

Πηκτίνες με μικρό βαθμό μεθυλίωσης σχηματίζουν πήγματα με ένωση των μορίων τους με δυσθενή ιόντα, κυρίως ασβεστίου. Οι πηκτίνες με μικρό βαθμό μεθυλίωσης δεν απαιτούν σάκχαρα για το σχηματισμό του πηγματος και δίνουν σταθερά πήγματα σε ευρεία περιοχή τιμών pH.

Ο σχηματισμός του πηγματος εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως:

- Η περιεκτικότητα της πηκτίνης: όσο αυξάνεται η συγκέντρωση της πηκτίνης αυξάνεται και η σταθερότητα του πηγματος.
- Το M.B των πηκτινικών συστατικών: αυξανόμενου του M.B αυξάνεται η δύναμη του πηγματος
- Η περιεκτικότητα μεθυλεστέρων: όσοι περισσότεροι μεθυλεστέρες υπάρχουν τόσο ισχυρότερο είναι το πήγμα
- Το pH: σταθερότερα πήγματα σχηματίζονται όσο μειώνεται το pH μέχρι 3,2 περίπου και τότε χρησιμοποιείται και λιγότερη πηκτίνη. Συνήθως υπάρχει βέλτιστη τιμή για σταθερότερο πήγμα, με περαιτέρω μείωση προκαλείται συναίρεση.
- Σάκχαρα: είναι απαραίτητα για το σχηματισμό πηγματος, πρέπει να βρίσκονται στην ελάχιστη συγκέντρωση, συνήθως 65% (Tzia et al., 2009).

5.2.3 Σύσταση και ιδιότητες λιπαρών μεμβρανών

Μια μεγάλη κατηγορία υδρόφοβων ενώσεων χρησιμοποιείται για την παραγωγή λιπαρών εδώδιμων μεμβρανών περιλαμβάνοντας ζωικά και φυτικά λίπη και έλαια (φιστίκι, καρύδα, φοίνικα, κακάο, λιπαρά οξέα και μονο-, δι-, και τρι- γλυκερίδια), κηρούς (παραφίνη, κερι μέλισσας), φυσικές ρητίνες, αιθέρια έλαια, γαλακτοματοποιητές και επιφανειοδραστικούς παράγοντες (λεκιθίνη, λιπαρά οξέα). Στα προϊόντα κρέατος, οι γαλακτοματοποιητές και οι επιφανειοδραστικοί παράγοντες χρησιμοποιούνται ως φράγμα αερίων και υγρασίας. Επίσης, τα καθαρά λιπαρά μπορούν να συνδυαστούν με υδροκολλοειδή όπως πρωτεΐνες, άμυλο, κυτταρίνες και παράγωγα αυτών ώστε να προκύψει ένα σύστημα πολλών συστατικών το οποίο θα χρησιμοποιηθεί για την επικάλυψη προϊόντων κρέατος. Σε νωπά και επεξεργασμένα προϊόντα κρέατος, οι λιπαρές εδώδιμες μεμβράνες μπορούν να βελτιώσουν την υδροφοβικότητα και συνεκτικότητα του προϊόντος. Παράλληλα, μπορούν να δράσουν ως εξαιρετικό φράγμα υγρασίας που οδηγεί σε παράταση της φρεσκάδας, του χρώματος, του αρώματος, της γεύσης και της μικροβιολογικής σταθερότητας.

Το Palmitoylated alginate είναι η μόνη εδώδιμη λιπαρή μεμβράνη που έχει χρησιμοποιηθεί σε προϊόντα κρέατος και ειδικότερα σε μπιφτέκια. Ωστόσο, τα αιθέρια έλαια χρησιμοποιούνται ευρέως λόγω της αντιμικροβιακής τους δράσης στις εδώδιμες μεμβράνες (Sánchez-Ortega et al., 2014).

5.3 Εισαγωγή αντιμικροβιακών σε εδώδιμες μεμβράνες

Η ενσωμάτωση αντιμικροβιακών ενώσεων σε εδώδιμες μεμβράνες σκοπεύει στην βαθμιαία απελευθέρωσή τους και αποτελεί μια εναλλακτική μέθοδο έναντι της απευθείας εφαρμογής τους στην επιφάνεια προϊόντων κρέατος. Έτσι, μειώνεται η συγκέντρωση του προστιθέμενου αντιμικροβιακού καθώς και οι οργανοληπτικές αλλαγές που προκαλούνται από τη χρήση του. Επίσης, οι αντιμικροβιακές ενώσεις που είναι ενσωματωμένες στην εδώδιμη μεμβράνη αλληλεπιδρούν σε μικρότερο βαθμό με τα συστατικά του τροφίμου με αποτέλεσμα να διατηρείται η δραστηριότητά τους.

Συνεπώς, η ικανότητα των εδώδιμων μεμβρανών να επεκτείνουν την διατηρησιμότητα του τροφίμου, μέσω της ικανότητάς τους να μειώνουν την διαπερατότητα του οξυγόνου, της υγρασίας και των αρωματικών ουσιών του τροφίμου, ενισχύεται με την προσθήκη σε αυτές χημικών ή φυσικών αντιμικροβιακών ουσιών με σκοπό την αποτελεσματικότερη προστασία από τους αλλοιογόνους και παθογόνους μικροοργανισμούς (Espitia et al., 2014).

Τα κυριότερα αντιμικροβιακά που ενσωματώνονται σε προϊόντα κρέατος είναι τα οργανικά οξέα, τα αιθέρια έλαια, οι βακτηριοσίνες με κυριότερη την νισίνη, οι πρωτεΐνες με κυριότερη την λυσοζύμη και το Lauric Arginate που είναι ένα μίγμα αποτελούμενο από λαυρικό οξύ, L-αργινίνη και αιθανόλη (Sánchez-Ortega et al., 2014).

5.4 Εφαρμογές των εδώδιμων μεμβρανών με προσθήκη αντιμικροβιακού σε προϊόντα κρέατος και πουλερικών

Τα τελευταία χρόνια η προσθήκη αντιμικροβιακών σε εδώδιμες μεμβράνες και η εφαρμογή τους σε προϊόντα κρέατος και πουλερικών αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη μέθοδο για την επέκταση της διατηρησιμότητας των προϊόντων κρέατος και πουλερικών.

Οι Emiroglu et al.(2010) χρησιμοποίησαν εδώδιμη μεμβράνη από πρωτεΐνες σόγιας και πρόσθεσαν σαν αντιμικροβιακό παράγοντα αιθέρια έλαια ρίγανης, θυμαριού καθώς και συνδυασμό τους (5%) σε μοσχαρίσια μπιφτέκια κατά τη συντήρησή τους στους 4 °C. Κατά την μικροβιολογική ανάλυση διαπιστώθηκε μείωση του φορτίου των ψευδομονάδων στα επικαλυμμένα δείγματα με προσθήκη ρίγανης και θυμαριού κατά 1,27 και 1,13 log cfu/g αντίστοιχα. Επίσης παρατηρήθηκε ότι το ολικό βακτηριακό φορτίο μειώθηκε κατά 1,6, 1,9 και 2,0 log cfu/g για τα δείγματα με ρίγανη, ρίγανη- θυμάρι και θυμάρι αντίστοιχα.

Σε μια άλλη εφαρμογή, οι Ravishankar et al., (2012) μελέτησαν την επίδραση των εδώδιμων μεμβρανών με την προσθήκη αντιμικροβιακού στην ανάπτυξη του *L. Monocytogenes* σε δείγματα ζαμπόν. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε υψηλά μεθυλιωμένη πηκτίνη μήλου με καρβακρόλη ή κινναμολδεΐδη ως αντιμικροβιακά σε συγκεντρώσεις 0,5, 1,5 και 3% αντίστοιχα. Η μεγαλύτερη μείωση παρατηρήθηκε στα δείγματα πηκτίνης- καρβακρόλης (3%) όπου το φορτίο μειώθηκε κατά 3 log cfu/g την έβδομη ημέρα.

Επίσης η Χανιώτη (2011) εξέτασε την ενσωμάτωση εκχυλισμάτων δενδρολίβανου και κοριανδρού (1%) είτε σε εδώδιμες μεμβράνες χιτοζάνης και υδροξυπροπυλομεθυλοκυτταρίνης (HPMC) είτε απευθείας μέσα στο προϊόν κρέατος, συγκεκριμένα σε λουκάνικα τύπου Φρακφούρτης. Μελετώντας την ανάπτυξη της ολικής μικροβιακής χλωρίδας και των γαλακτικών βακτηρίων βρέθηκε ότι τον μεγαλύτερο χρόνο ζωής στους 0 °C εμφάνισαν τα δείγματα χιτοζάνης με ενσωμάτωση κοριανδρού (22 ημέρες) και στη συνέχεια τα δείγματα HPMC με ενσωμάτωση δενδρολίβανου (21 ημέρες). Τα δείγματα με χιτοζάνη και HPMC χωρίς προσθήκη αντιμικροβιακών (τυφλά) παρουσίασαν τους μικρότερους χρόνους ζωής, 15 και 13 ημέρες αντίστοιχα. Παράλληλα τα δείγματα με αντιμικροβιακό αλλά χωρίς εδώδιμη επικάλυψη διατηρήθηκαν για 15 και 18 ημέρες για τον κοριανδρό και το δενδρολίβανο, αντίστοιχα. Ταυτόχρονα ο μικρότερος ρυθμός ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων παρουσιάστηκε στα δείγματα χιτοζάνης – κοριανδρού.

Όσον αφορά την εφαρμογή εδώδιμων μεμβρανών- αντιμικροβιακού σε πουλερικά, οι Fernandez et al., (2014) μελέτησαν την επέκταση της διατηρησιμότητας φιλέτων κοτόπουλου στους 4 °C με εδώδιμη μεμβράνη πρωτεΐνης ορού γάλακτος (10%) με προσθήκη αιθέριου ελαίου ρίγανης ή γαρύφαλλου (1 και 2%). Στο ομογενοποιημένο διάλυμα προστέθηκε 5% γλυκερίνη ως πλαστικοποιητής. Συγκεκριμένα βρέθηκε ότι ο συνδυασμός επικάλυψης πρωτεΐνης ορού γάλακτος- ελαίου ρίγανης (2%) παρουσίασε τα καλύτερα αποτελέσματα επεκτείνοντας τον χρόνο ζωής από 6 ημέρες (δείγμα αναφοράς) σε 13 ημέρες καταστέλλοντας την ανάπτυξη των ψευδομονάδων και των γαλακτικών βακτηρίων.

Επίσης οι Ravishankar et al (2009) χρησιμοποιώντας πηκτίνη μήλου με υψηλό βαθμό μεθυλίωσης σε στήθος κοτόπουλου μελέτησαν την επίδραση των συνδυασμών πηκτίνης- καρβακρόλης (0,5-3%) και πηκτίνης- κινναμαλδεΐδης (0,5-3%) στην ανάπτυξη των βακτηρίων *Salmonella enterica, serovar Enteritidis* και *E. Coli* στους 4°C. Αποδείχθηκε ότι η επικάλυψη πηκτίνης- καρβακρόλης (0,5-3%) μείωσε το φορτίο της *S. Enteritidis* σε σχέση με το δείγμα αναφοράς κατά 1,6-3 log cfu/g και το φορτίο της *E. Coli* κατά 1-3 log cfu/g. Ο συνδυασμός πηκτίνης- κινναμαλδεΐδης (0,5-3%) μείωσε τους παραπάνω πληθυσμούς κατά 1,2-2,8 log cfu/g και 0,2-1,2 log cfu/g αντίστοιχα.

Σε μια προσπάθεια σύγκρισης πολυσακχαριτικών εδώδιμων μεμβρανών οι Jiang et al (2011) σύγκριναν την δράση των συνδυασμών πηκτίνης, χιτοζάνης, αμύλου και αλγινικής μεμβράνης με ένα σύμπλεγμα αντιμικροβιακών ουσιών (γαλακτικό νάτριο (SL), διοξικό νάτριο (SD), εμπορικά παρασκευάσματα Opti.Form PD4, NovaGARD; CB1, Protect-M και Guardian; NR100) σε έτοιμη προς κατανάλωση γαλοπούλα (ready-to-eat) στους 4 °C υπό κενό. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι την καλύτερη αντιμικροβιακή προστασία έναντι των αερόβιων και αναερόβιων μικροοργανισμών έδωσε η μεμβράνη της πηκτίνης.

Τέλος, όσον αφορά την επικάλυψη δειγμάτων κοτόπουλου με χιτοζάνη, οι Higuera et al (2013) επικάλυψαν δείγματα φιλέτων κοτόπουλου με προσθήκη χιτοζάνης ή με συνδυασμό

προσθήκης χιτοζάνης - Lauric Arginate (LAE) στους 4 °C. Τα αποτελέσματα την όγδοη μέρα έδειξαν μείωση των μεσόφιλων και ψυχρόφιλων μικροοργανισμών, των ψευδομονάδων, των ζυμών και των γαλακτικών βακτηρίων για όλους τους συνδυασμούς σε σχέση με το δείγμα αναφοράς. Η προσθήκη LAE (5%) στην εδώδιμη μεμβράνη μείωσε κατά 5,81 log cfu/g την παραπάνω μικροβιακή χλωρίδα διατηρώντας έτσι την φρεσκάδα των φιλέτων.

Με βάση τα παραπάνω, παρατηρείται ότι ο συνδυασμός των εδώδιμων μεμβρανών με την προσθήκη αντιμικροβιακών ουσιών επιφέρει σημαντική επίδραση στην επιβράδυνση και αναστολή της ανάπτυξης των μικροοργανισμών σε προϊόντα κρέατος και πουλερικών. Τα πλεονεκτήματα της χρήσης των μεμβρανών που αναλύθηκαν στα υποκεφάλαια 5.1, 5.2 καθώς και η δράση των αντιμικροβιακών ουσιών επιφέρουν σημαντική συνεργιστική παρεμπόδιση στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών.

6. ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΚΡΕΑΤΟΣ

6.1 Εισαγωγή

Αν και στα κεφάλαια 1,2 αναλύθηκαν οι επιπτώσεις της χημικής και μικροβιολογικής αλλοίωσης στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά κρίνεται σκόπιμο να περιγραφούν γενικά οι οργανοληπτικές ιδιότητες του κρέατος.

Ως οργανοληπτικές ιδιότητες του κρέατος θεωρούνται όλες οι παράμετροι ή οι χαρακτήρες του συγκεκριμένου κρέατος που το καθιστούν εύληπτο από τους καταναλωτές. Κάθε μεταβολή των χαρακτηριστικών αυτών, ανεξάρτητα από την αιτιολογία τους συνεπάγεται μικρότερη ή μεγαλύτερη μεταβολή και των οργανοληπτικών του ιδιοτήτων. Οι σπουδαιότερες οργανοληπτικές ιδιότητες του κρέατος που έχουν πρακτική σημασία εξετάζονται περιληπτικά παρακάτω (Γεωργάκης, 2005).

6.2 Χρώμα και εμφάνιση του κρέατος

Το χρώμα είναι μια από τις σπουδαιότερες οργανοληπτικές παραμέτρους του κρέατος, η οποία γίνεται πρώτη αντιληπτή από τον καταναλωτή και τον δοκιμαστή και δημιουργεί τις πρώτες εντυπώσεις και κατ' επέκταση προδιαθέτει θετικά ή αρνητικά τον κάθε ενδιαφερόμενο για το συγκεκριμένο τεμάχιο (ή σφάγιο). Το χρώμα του κρέατος σε φυσιολογικές καταστάσεις οφείλεται σε πολλούς παράγοντες με κυριότερο όλων την μυοσφαιρίνη ή μυογλοβίνη και τις μεταβολές της αίμης, κυρίως για το «κόκκινο» κρέας. .

Η μυοσφαιρίνη απαντάται στον μυ με τρεις μορφές ως οξυμυοσφαιρίνη, ως μεταμυοσφαιρίνη και ως παράγωγα μυοσφαιρίνης. Η οξυμυοσφαιρίνη αποτελεί την οξυγονομένη μορφή της μυοσφαιρίνης. Σε αυτήν ο σίδηρος είναι δισθενής και στην έκτη θέση το νερό έχει αντικατασταθεί με οξυγόνο. Η οξυμυοσφαιρίνη δίνει στο μυϊκό ιστό έναν ωραίο ερυθρό, ανοικτού τόνου, χρωματισμό, χαρακτηριστικό του νωπού κρέατος. Η μυοσφαιρίνη έχει ισχυρή συγγένεια προς το οξυγόνο, γι' αυτό και είναι πολύ γρήγορος ο σχηματισμός της οξυμυοσφαιρίνης στα επιφανειακά στρώματα του κρέατος, όπου η επιφανειακή τάση του οξυγόνου είναι υψηλή. Η μεταμυοσφαιρίνη χαρακτηρίζεται από το ότι ο σίδηρος της αίμης έχει μεταραπεί σε τρισθενή, στην δε 6^η θέση, το οξυγόνο έχει αντικατασταθεί από το νερό. Η μεταμυοσφαιρίνη, χρώματος καστανέρυθρου, δεν προσλαμβάνει οξυγόνο, βρίσκεται δε συνήθως στις περιοχές όπου η συγκέντρωση του οξυγόνου είναι πολύ χαμηλή. Κατά την ωρίμανση του κρέατος οι στιβάδες του που ενέχουν τη μυοσφαιρίνη αυξάνουν σε πάχος με αντίστοιχη μείωση της ήδη λεπτής στιβάδας που ενέχει την οξυμυοσφαιρίνη. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία προβλημάτων ποιότητας του νωπού «κόκκινου» κρέατος όταν εκτίθεται προς πώληση, αφού είναι γνωστό πως οι καταναλωτές επιζητούν κρέας ανοικτού ερυθρού χρώματος. Ως παράγωγα μυοσφαιρίνης θεωρούνται η πρασίνου χρώματος χρωστική (σουλφο – μυοσφαιρίνη). Η χρωστική αυτή οφείλεται στην πρόσληψη υδρόθειου από τη μυοσφαιρίνη (6^η θέση του σιδήρου της αίμης), το οποίο παράγεται από βακτηριακές

δράσεις. Το γεγονός αυτό αποτελεί πρόβλημα κυρίως στα κοτόπουλα, στο έντερο των οποίων παράγεται υδρόθειο και το οποίο στη συνέχεια διαχέεται στο κρέας. Όμως παραγωγή υδρόθειου λόγω βακτηριακών δράσεων μπορεί να συμβεί και σε κρέατα τα οποία έχουν συσκευασθεί σε κενό.

Επίσης άλλος ένας παράγοντας που επηρεάζει έμμεσα το χρώμα του κρέατος είναι το pH. Σε χαμηλές τιμές ο χρωματισμός του κρέατος είναι ανοικτός ξανθός – ερυθρός, ενώ σε υψηλές γίνεται σκούρος. Όταν ο μυϊκός ιστός έχει ανοικτή υφή, βρίσκεται δηλαδή σε αρχικό στάδιο διόγκωσης η οποία είναι συνδεδεμένη με χαμηλές τιμές pH το φως ανακλάται, διαχέεται πολύ ισχυρά επί των ινιδίων και δίνει και δίνει στο κρέας ένα ξανθό – ερυθρό χρωματισμό. Στο μέγιστο της διόγκωσης (κλειστή υφή του κρέατος), η οποία είναι συνδεδεμένη με υψηλό pH οι ακτίνες του φωτός εισχωρούν βαθιά μέσα στο κρέας και απορροφώνται κατά πολύ μεγάλο μέρος. Τότε το κρέας εμφανίζεται σκούρο ερυθρό ανεξάρτητα από το ποσό της μυοσφαιρίνης που υπάρχει. Τέλος ο χρωματισμός του κρέατος εξαρτάται και από άλλους παράγοντες όπως:

- το είδος του ζώου. Το κρέας του κοτόπουλου είναι λευκό και το κρέας του χοίρου είναι λευκότερο από ό,τι των βοειδών
- την ηλικία. Τα νεαρά ζώα δίνουν κρέας λευκότερο (ξανθό) από ό,τι τα ενήλικα
- τον κάματο πριν από την σφαγή επειδή συμβάλλει στην υπερ-κατανάλωση γλυκογόνου, όπως επίσης και την κακή αφαίμαξη που συντελούν στην ανάπτυξη σκούρου χρώματος στο κρέας
- την διατροφή και το είδος των τροφών. Σιτηρά με μεγάλες ποσότητες σιδήρου συντελούν στην ανάπτυξη σκούρου χρώματος
- τις κατάλληλες συνθήκες ψύξης και συντήρησης του κρέατος που συμβάλλουν στην ανάπτυξη επιθυμητού ανοικτού- ερυθρού χρωματισμού (Γεωργάκης, 2005).

6.3 Άρωμα και οσμή του κρέατος

Το άρωμα και η οσμή αποτελούν χαρακτηριστικές ιδιότητες του κρέατος, οι οποίες γίνονται αντιληπτές από τον καταναλωτή, μαζί με το χρώμα. Το σφάγιο, θερμό ακόμα, αποβάλλει μαζί με την υγρασία ιδιάζουσα οσμή, πάντως όχι ευχάριστη, γνωστή ως «οσμή θερμού κρέατος». Με την πρόοδο της νεκρικής ακαμψίας και μετά την πλήρη ψύξη, το σφάγιο αποκτά τη δική του οσμή που είναι χαρακτηριστική του είδους του σφαγίου. Με την πρόοδο της ωρίμανσης του κρέατος αποδομούνται το ATP, πρωτεΐνες και λίπη. Το ATP με ενδιάμεσο στάδιο το ADP σχηματίζει IMP και αμμωνία. Κατά την προοδευτική αποσύνθεση των νουκλεοτιδίων με ενδιάμεσες βαθμίδες σχηματίζονται μονοφωσφορική ινοσίνη, η οποία τελικά σχηματίζει ριβόζη και υποξανθίνη. Η υποξανθίνη θεωρείται ότι συμβάλλει σημαντικά στο άρωμα του κρέατος. Όμως το χαρακτηριστικό άρωμα του κρέατος, το οποίο με την έψηση γίνεται εντονότερο, αποδίδεται στο σύνολο των χημικών ενώσεων όπως των πεπτιδίων, των

αμινοξέων, των αναγωγικών σακχάρων, των μονοκαρβονυλικών ενώσεων, των θειούχων ενώσεων κ.α.

Η οσμή και το άρωμα του κρέατος επηρεάζονται από το είδος της θέρμανσης στην οποία αυτό υποβάλλεται, εξίσου όμως επηρεάζονται πολύ από την διατροφή και το είδος του ζώου, τη φυλή, το γένος, την αναπαραγωγική κατάσταση του ζώου (π.χ ευνουχισμένα ή μη), την ηλικία, το χρόνο και τις συνθήκες αποθήκευσης του κρέατος (Γεωργάκης, 2005).

6.4 Γεύση και νοστιμάδα του κρέατος

Όπως η οσμή έτσι και η γεύση δεν οφείλεται σε μια συγκεκριμένη ουσία ή χημική ένωση, αλλά στο σύνολο των χημικών ενώσεων που υπάρχουν στο κρέας, που δημιουργούνται κυρίως κατά την ωρίμανση και περαιτέρω κατά την θέρμανση. Η υποξανθίνη και η μονοφωσφορική ινοσίνη, ενώ δεν αποτελούν στοιχεία που προσδίδουν γεύση στο κρέας, ερεθίζουν τους γευστικούς κάλυκες της γλώσσας με αποτέλεσμα ο καταναλωτής να αντιλαμβάνεται καλύτερα τα ερεθίσματα των άλλων ουσιών.

Η θέρμανση του κρέατος επηρεάζει τη γεύση, όπως επίσης την επηρεάζει και η λιποπεριεκτικότητα. Το καλύτερο κρέας από την άποψη της λιποπεριεκτικότητας είναι είναι αυτό που έχει ποσότητα λίπους ίση προς το ένα τρίτο του βάρους του. Βέβαια, σήμερα ένα κρέας με τέτοια λιποπεριεκτικότητα δεν γίνεται αποδεκτό από τον καταναλωτή. Η γεύση του κρέατος επηρεάζεται από τους ίδιους παράγοντες που αναφέρθηκαν και για την οσμή. Επιπλέον, επηρεάζεται από την αιμάτωση του μύος και την περιεκτικότητά του σε ATP. Αυτό σημαίνει πως μύες εργαζόμενοι περισσότερο έντονα είναι περισσότερο «νόστιμοι».

Παρεμφερής προς την έννοια της γεύσης είναι η “νοστιμάδα” ή η “ευγευστότητα”, έννοια η οποία αποτελεί απόδοση στα ελληνικά του όρου «flavor». Ως νοστιμάδα χαρακτηρίζεται η συνολική εντύπωση την οποία σχηματίζει ο καταναλωτής από τη δομή, τη μάσηση, τη θερμοκρασία και τον πόνο που δημιουργείται κατά τη γευστική δοκιμή ή κατά την κατανάλωση του κρέατος. Είναι φανερό πως η νοστιμάδα δεν αποτελεί η ίδια μια χαρακτηριστική ιδιότητα ενός τροφίμου, αλλά τη συνισταμένη έκφρασης πολλών χαρακτηριστικών του κρέατος (Γεωργάκης, 2005).

6.5 Τρυφερότητα/σκληρότητα

Η τρυφερότητα του κρέατος αποτελεί μια από τις πιο σημαντικές ιδιότητές του και αποτελεί κριτήριο ποιοτικής αξιολόγησης του κρέατος. Η τρυφερότητα κρίνεται από τον καταναλωτή όχι μόνο με την αίσθηση του σκληρού ή του μαλακού (σκληρότητα) που αισθάνεται κατά τη μάσηση, αλλά και από την αίσθηση συνοχής των μυϊκών ινών. Η τρυφερότητα ή σκληρότητα του δείγματος επηρεάζεται από το είδος, τη φυλή, την ηλικία, τον τρόπο διαβίωσης, την διατροφή, τον κάματο του ζώου πριν τη σφαγή, την ψύξη του σφαγίου, την περιεκτικότητα σε λίπος και κυρίως από την ωρίμανση (Γεωργάκης, 2005).

7. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ/ΥΛΙΚΑ - ΜΕΘΟΔΟΙ

7.1 Σκοπός

Τα πειράματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του ΕΜΠ. Σκοπός της εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης νέων τεχνολογιών συσκευασίας και επεξεργασίας στην διατηρησιμότητα και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά σε νωπό μπουτί κοτόπουλου. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν η επίδραση της συσκευασίας σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (MAP) περιεκτικότητας $42,7 \pm 1,5\%$ σε O_2 , $18,5 \pm 0,5\%$ σε CO_2 και $38,8 \pm 0,7\%$ σε N_2 καθώς και η επίδραση της επεξεργασίας και συσκευασίας τους με χρήση εδώδιμης μεμβράνης πηκτίνης μήλου (πολυσακχαρική μεμβράνη) (2% w/w) στην οποία προστέθηκαν αντιμικροβιακοί παράγοντες. Οι αντιμικροβιακές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν σε συνδυασμό με την πηκτίνη ήταν οι εξής: citrox (εμπορικό σκεύασμα αποτελούμενο από φυσικά αντιμικροβιακά συστατικά, Biocite AFA001, Citrox Limited, Riverside Park Middlesbrough, UK) και γλυκονο-δ-λακτόνη (delta-Gluconolacton, Acros Organics, New Jersey, USA), σε συγκεντρώσεις 1% w/w και 0,5% w/w αντίστοιχα. Η επιλογή της περιεκτικότητας της αντιμικροβιακής ουσίας βασίστηκε τόσο σε βιβλιογραφικά δεδομένα όσο και στα όρια που καθορίζονται από τους κανονισμούς για χρήση πρόσθετων στα τρόφιμα. Τα πειράματα διατηρησιμότητας διεξήχθησαν σε θερμοκρασίες αποθήκευσης 0, 5 και 10 °C, με μετρήσεις της μικροβιολογικής αλλοίωσης, της μεταβολής των ποιοτικών χαρακτηριστικών καθώς και της υποβάθμισης των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών σε τέσσερις σειρές δειγμάτων: (1) ανεπεξέργαστα σε αερόβιες συνθήκες (control), (A), (2) συσκευασμένα σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (M), (3) επεξεργασμένα με επικάλυψη εδώδιμης μεμβράνης πηκτίνης με προσθήκη citrox (X) και (4) επεξεργασμένα με επικάλυψη εδώδιμης μεμβράνης πηκτίνης με προσθήκη γλυκονο-δ-λακτόνης (G).

7.2 Μεταφορά και προετοιμασία δειγμάτων

Οι εμπορικές συσκευασίες αποτελούνταν από 3 ή 4 ολόκληρα μπουτία κοτόπουλου και παραλήφθηκαν από δύο διαφορετικούς προμηθευτές (προμηθευτής A και προμηθευτής B) μέσω αλυσίδας λιανεμπορίου που συνεργάζεται με το Εργαστήριο. Τα δείγματα του προμηθευτή A ήταν ήδη συσκευασμένα σε συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας και ύστερα από μέτρηση με τον αναλυτή αερίων του εργαστηρίου βρέθηκε ότι η περιεκτικότητα των αερίων του μίγματος ήταν: $42,7 \pm 1,5\%$ O_2 , $18,5 \pm 0,5\%$ CO_2 και $38,8 \pm 0,7\%$ N_2 .

Μετά από έλεγχο του αρχικού μικροβιακού φορτίου στα δείγματα και των δύο προμηθευτών αποδείχθηκε ότι τα δείγματα είχαν το ίδιο προφίλ. Στη συνέχεια τα δείγματα κοτόπουλου, εκτός από ένα μέρος των δειγμάτων του προμηθευτή A που ήταν συσκευασμένα σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, αποσυσκευάστηκαν και είτε επανασυσκευάστηκαν σε αερόβιες συνθήκες είτε επανασυσκευάστηκαν με επικάλυψη εδώδιμης μεμβράνης πηκτίνης μήλου –

αντιμικροβιακού. Στη συνέχεια όλα τα δείγματα μοιράστηκαν και αποθηκεύτηκαν σε ψυκτικούς θαλάμους Sanyo MIR 153 (Sanyo electric, Japan) σε θερμοκρασίες 0, 5 και 10 °C. Η συσκευασία των δειγμάτων έγινε σε περιέκτες κενού πολλαπλών στρώσεων πολυαμιδίου (PA) και πολυαιθυλενίου (PE) (80 μm, water vapor transmission 2,7 g/m²d, 56,7 cm³/m² d bar O₂, 170 cm³/m² d bar CO₂, 11 cm³/m² d bar N₂) με χρήση κατάλληλης συσκευής (Boss NT42N, Bad Homburg, Germany). Η σύσταση των αερίων στη συσκευασία που προσδιορίστηκε πριν από κάθε δειγματοληψία μετρήθηκε με τη συσκευή CheckMate 9900 O₂/CO₂ (PBI Dansensor, Ringsted, Denmark). Επιπλέον, ως αρχικός χρόνος t₀, t=0 θεωρήθηκε η ημέρα παραλαβής των δειγμάτων από το supermarket και συγκεκριμένα μετά την τοποθέτησή τους στα ψυγεία του εργαστηρίου.

Τα 4 δείγματα που μελετήθηκαν ήταν τα εξής: δείγματα που συσκευάστηκαν αερόβια, δείγματα (A) (Control), δείγματα που λήφθηκαν συσκευασμένα σε MAP, (M), επεξεργασμένα με επικάλυψη πηκτίνης – citrox, (X) και επεξεργασμένα με επικάλυψη πηκτίνης – γλυκονο-δ-λακτόνης, (G).

Κατά την επεξεργασία των δειγμάτων που συσκευάστηκαν με την επικάλυψη πηκτινικής μεμβράνης με προσθήκη αντιμικροβιακού (X και G), χρησιμοποιήθηκε πηκτίνη μήλου, SIGMA Life science, Switzerland σε συνδυασμό με τα αντιμικροβιακά citrox Biocite AFA001 ή γλυκονο-δ-λακτόνη. Συγκεκριμένα, σε χλιαρό απιονισμένο νερό με χρήση αναδευτήρα σε ποτήρια ζέσεως των 2 L έγινε η σταδιακή διάλυση ποσότητας πηκτίνης μήλου σε συγκέντρωση 2% w/w με ταυτόχρονη σταδιακή προσθήκη των αντιμικροβιακών citrox ή γλυκονο-δ-λακτόνης σε συγκέντρωση 1,0 και 0,5% w/w αντίστοιχα. Μετά την παρασκευή του διαλύματος έγινε εμβάπτιση των δειγμάτων σε ειδική αποστειρωμένη σκαφίδα. Για κάθε τριάδα δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε 1,5 L διαλύματος πηκτίνης- αντιμικροβιακού για την εμβάπτιση τους. Η εμβάπτιση έγινε και για τις δύο πλευρές του κοτόπουλου και διήρκεσε συνολικά 6 min για κάθε δείγμα. Αμέσως μετά, τα δείγματα τοποθετήθηκαν πάνω σε αποστειρωμένη σχάρα στραγγίσματος, συσκευάστηκαν αερόβια στους περιέκτες που αναφέρθηκαν παραπάνω και τοποθετήθηκαν στους ψυκτικούς θαλάμους θερμοκρασίας 0, 5, 10 °C.

Αξίζει να σημειωθεί ότι η πηκτίνη δεν επιμόλυνε τα δείγματα καθώς ύστερα από μικροβιολογικό έλεγχο το μικροβιακό της φορτίο βρέθηκε μηδενικό.

Τέλος, κατά την διάρκεια της εμβάπτισης καθώς και κατά την αποσυσκευασία και συσκευασία όλων των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε λύχνος προκειμένου να αποφευχθεί η επιμόλυνσή τους.

7.3 Στάδια διεξαγωγής μικροβιολογικού ελέγχου

1) Αποστείρωση υποστρωμάτων και εξοπλισμού μικροβιολογίας

Ανάλογα με τον αριθμό των προς εξέταση δειγμάτων, παρασκευάσθηκαν και οι αντίστοιχες ποσότητες υποστρωμάτων στα οποία θα αναπτυχθούν και οι μικροοργανισμοί. Επιπλέον, για τη διεξαγωγή του μικροβιακού ελέγχου ήταν απαραίτητη η χρήση σιφωνιού των 10ml αλλά και η χρήση μικρού και μεγαλύτερου μεγέθους tips. Τέλος, αναγκαία ήταν και η χρήση ορού Ringer ως υγρό αραιώσης, δηλαδή ισοτονικού διαλύματος ως προς το κυτταρόπλασμα του μικροβιακού πληθυσμού, ο οποίος προοριζόταν για τις διαδοχικές αραιώσεις των δειγμάτων.

Για να χρησιμοποιηθεί ο συνολικός εξοπλισμός για μικροβιολογικό έλεγχο, τοποθετήθηκε σε συνθήκες αποστείρωσης ώστε να καταστεί στείρος μικροοργανισμών. Η αποστείρωση πραγματοποιήθηκε σε αυτόκλειστο της εταιρείας Sanyo, LabAutoclave στους 121°C για 15 min. Μετά την αποστείρωση, ο ορός Ringer ψυχόταν μέσω διαβροχής της φιάλης με ψυχρό νερό, ενώ τα υποστρώματα διατηρούνταν σε ρευστή μορφή σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 60°C ώστε να μην επέλθει η στερεοποίησή τους.

Για την ανάπτυξη και καταμέτρηση του μικροβιακού πληθυσμού χρησιμοποιήθηκαν υλικά ανάπτυξης, τεχνικές εμβολιασμού, θερμοκρασίες και χρόνοι επώασης ως εξής:

- Plate Count Agar Standard (PCA, Merck), με επιφανειακή επίστρωση, επώαση στους 30°C για 72 ώρες (3 ημέρες), για την ολική μικροβιακή χλωρίδα (OMX).
- Cetrimide Agar (CFC, Merck), με επιφανειακή επίστρωση, επώαση στους 30°C για 48 ώρες (2 ημέρες) για την καλλιέργεια των ψευδομονάδων.
- de Man-Rogosa-Sharpe Agar (MRS, Merck), με ενσωμάτωση και επώαση στους 30°C για 96 ώρες (4 ημέρες), για τα γαλακτικά βακτήρια.
- STAA Agar (CM881, Oxoid) με προσθήκη του SR 151 (Oxoid) και επώαση στους 30°C για 48 ώρες (2 ημέρες) για την ανάπτυξη και καταμέτρηση του *Brochothrix Thermosphacta*.

2) Δειγματοληψία

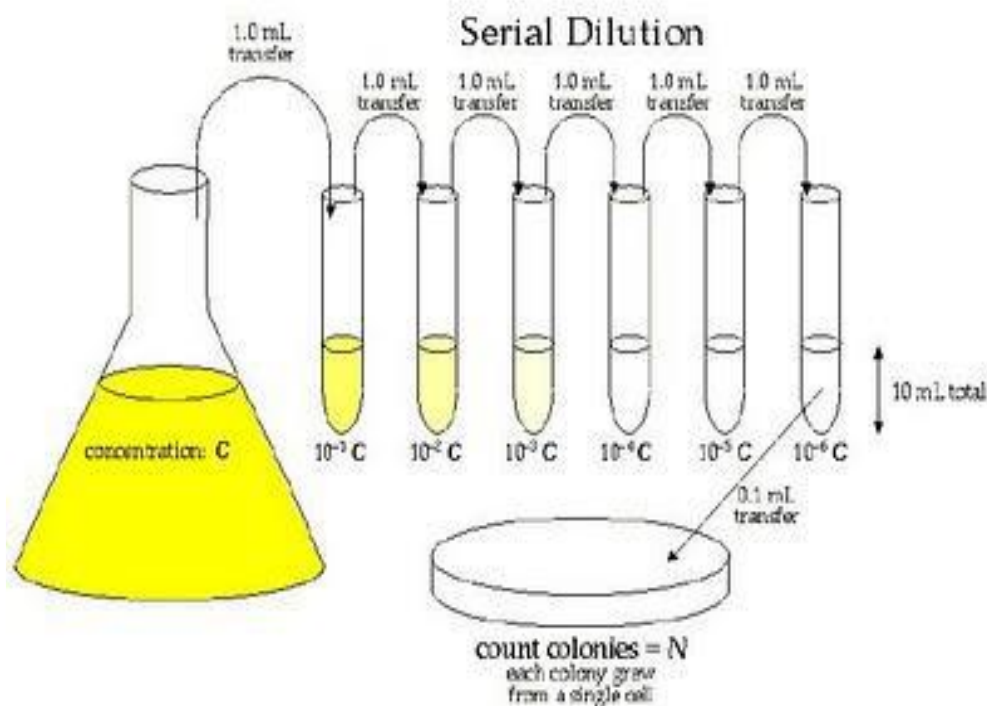
Κατά τη δειγματοληψία, τοποθετείται στον ζυγό ποτήρι ζέσεως, μέσα στο οποίο έχει τοποθετηθεί και ανοιχθεί αποστειρωμένη σακούλα ενώ στη συνέχεια μηδενίζεται ο ζυγός προκειμένου να ζυγιστεί το δείγμα που προστίθεται μέσα στη σακούλα. Από το μπουτί κοτόπουλου λαμβάνεται δείγμα διάφορα σημεία με την χρήση τσιμπιδας και μαχαιριού τα οποία πρώτα έχουν αποστειρωθεί. Κατόπιν ζύγισης του δείγματος (10 g) και μηδενισμού εκ νέου του ζυγού, προστίθεται ορός Ringer στη σακούλα, βάρους 9 φορές (90 g) εκείνου του δείγματος, έτσι ώστε να προκύψει αραιώση 1 προς 10 ή 10⁻¹. Η όλη διαδικασία της δειγματοληψίας πραγματοποιείται δίπλα σε λύχνο για τη διατήρηση ασηπτικών συνθηκών. Χρησιμοποιούνται σακούλες, μοντέλου L και όγκου 400 ml. Έπειτα η σακούλα κλείνεται πρόχειρα, προσέχοντας να μην έχει εγκλωβίσει αέρα και τοποθετείται σε ομογενοποιητή (BagMixer Interscience) όπου και πραγματοποιείται ομογενοποίηση για 1 min. Με την

ομογενοποίηση, το μικροβιακό φορτίο του δείγματος διαχέεται στον ορό Ringer, δεδομένου ότι για να πραγματοποιηθεί ο μικροβιολογικός έλεγχος, το δείγμα θα πρέπει να βρίσκεται σε υγρή μορφή.

3) Τεχνική διαδοχικών αραιώσεων

Με την πάροδο του χρόνου και καθώς το τρόφιμο υποβαθμίζεται ποιοτικά, το μικροβιακό του φορτίο αυξάνεται μέχρι ενός σημείου. Γι' αυτό το λόγο η καλλιέργεια του δείγματος που προέκυψε από την πρώτη αραιώση, με την προσθήκη ορού Ringer στη σακούλα η οποία εμπεριέχει το δείγμα, δεν εξυπηρετεί την απαρίθμηση του μικροβιακού πληθυσμού, ιδιαίτερα όταν η αλλοίωση του τροφίμου βρίσκεται σε προχωρημένο στάδιο.

Επομένως, για να διευκολυνθεί η εκτίμηση του μικροβιακού φορτίου του δείγματος, πραγματοποιούνται διαδοχικές αραιώσεις 10^{-2} , 10^{-3} έως και 10^{-7} όταν το μικροβιακό φορτίο έχει αυξηθεί σημαντικά. Κατά τη διαδικασία των διαδοχικών αραιώσεων, τοποθετούνται στη σειρά δοκιμαστικοί σωλήνες ο ένας δίπλα στον άλλον, οι οποίοι έχουν πληρωθεί ο καθένας με 9 ml ορού Ringer με χρήση σιφωνιού, όπως φαίνεται στην εικόνα 7.1.



Εικόνα 7.1: Τεχνική των διαδοχικών αραιώσεων

Αρχικά, προστίθεται στον πρώτο δοκιμαστικό σωλήνα 1 ml δείγματος από τη σακούλα (10^{-1}) και ο δοκιμαστικός σωλήνας ανακινείται καλά προκειμένου να ομογενοποιηθεί το διάλυμα. Η αραιώση που προκύπτει είναι 1 προς 100 ή αλλιώς 10^{-2} αφού 10 ml του δοκιμαστικού σωλήνα περιέχει 0,1 ml του αρχικού δείγματος (μπούτι κοτόπουλου). Στη συνέχεια επαναλαμβάνεται η ίδια διαδικασία λαμβάνοντας 1 ml από τον δοκιμαστικό σωλήνα που αντιστοιχεί στη δεύτερη αραιώση (10^{-2}) και προστίθεται στον αμέσως επόμενο σε σειρά δοκιμαστικό σωλήνα, ο

οποίος ανακινείται και προκύπτει αραιώση 1 προς 1000 ή 10^{-3} αφού ανά 10 ml εμπεριέχονται 0,01 ml του αρχικού δείγματος κ.τ.λ. Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να τονισθεί ότι κατά τη μετάβαση από μία μικρότερη σε μία μεγαλύτερη αραιώση, θα πρέπει να πραγματοποιείται αλλαγή του tip ώστε να μην υπάρξει επιμόλυνση του δείγματος. Η όλη διαδικασία, εξακολουθεί να υφίσταται παρουσία λύχνου και κατόπιν απολύμανσης των χεριών και του χώρου διεξαγωγής του πειράματος με διάλυμα αιθυλικής αλκοόλης.

4) Εμβολιασμός δείγματος σε επιλεκτικό και μη επιλεκτικό υπόστρωμα

Στο εν λόγω πείραμα, πραγματοποιήθηκαν δύο τύπου καλλιέργειες: καλλιέργεια υπό αερόβιες συνθήκες και καλλιέργεια υπό αναερόβιες συνθήκες. Υπο αερόβιες συνθήκες αναπτύχθηκαν το ολικό μικροβιακό φορτίο του δείγματος, οι ψευδομονάδες και τα βακτήρια *Brochothrix thermosphacta*. ενώ υπό αναερόβιες συνθήκες το φορτίο σε γαλακτικά βακτήρια.

Όσον αφορά στην ανάπτυξη του ολικού μικροβιακού πληθυσμού, χρησιμοποιήθηκε το μη επιλεκτικό υπόστρωμα PCA αφότου αφέθηκε να στερεοποιηθεί μετά τη διανομή του στα αποστειρωμένα τρυβλία Petri. Σε κάθε τρυβλίο προστίθενται 100 μ L δείγματος με χρήση πιππέτας Brand ενώ στη συνέχεια το δείγμα απλώνεται στην επιφάνεια του στερεοποιημένου υποστρώματος με χρήση ελαστικού αποστειρωμένου πολυμερικού ραβδίου (στυλεό), το οποίο φέρει κυκλική απόληξη.

Τα δείγματα λαμβάνονται από 3 διαδοχικές δεκαδικές αραιώσεις (π.χ 3^η, 4^η, 5^η). Σε κάθε αραιώση αντιστοιχούν 2 τρυβλία για την επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων. Μετά το πέρας του εμβολιασμού, τα τρυβλία στοιβάζονται ανάποδα μέσα σε σακούλα και αφήνονται να επωαστούν για 3 ημέρες στους 30°C.

Η ίδια διαδικασία ακολουθείται και για την καλλιέργεια ψευδομονάδων και των *Brochothrix thermosphacta* με τη διαφορά ότι χρησιμοποιούνται τα επιλεκτικά υποστρώματα CFC και STAA αντίστοιχα.

Τέλος, για την καλλιέργεια των προαιρετικά αναερόβιων γαλακτικών βακτηρίων χρησιμοποιείται το επιλεκτικό υπόστρωμα MRS agar. Η διαφορά της αερόβιας καλλιέργειας από την αναερόβια, έγκειται στο γεγονός ότι πρώτα πραγματοποιείται η εισαγωγή του δείγματος στο τρυβλίο και στη συνέχεια προστίθεται το υπόστρωμα, ώστε να ενσωματωθεί στη μάζα του ο μεγαλύτερος αριθμός των μικροοργανισμών που έχουν επιλεχθεί. Η κίνηση του τρυβλίου ευνοεί τη διασπορά των μικροοργανισμών μέσα στο υπόστρωμα. Πρέπει να σημειωθεί ότι σ' αυτή την περίπτωση, η ποσότητα του δείγματος που εμβολιάζεται είναι 1 mL και όχι 100 μ L. Μετά τη στερεοποίηση της πρώτης στρώσης του MRS agar, προστίθεται και δεύτερη προκειμένου να καλυφθούν τυχόν επιφανειακά γαλακτικά βακτήρια δημιουργώντας αναερόβιες συνθήκες. Εδώ χρειάζεται να τονισθεί ότι το MRS agar κατά τη διανομή του στα τρυβλία θα πρέπει να έχει χαμηλή θερμοκρασία, ώστε να αποφευχθεί η θανάτωση γαλακτικών βακτηρίων, αλλά όχι και ιδιαίτερα χαμηλή δεδομένου ότι το συγκεκριμένο

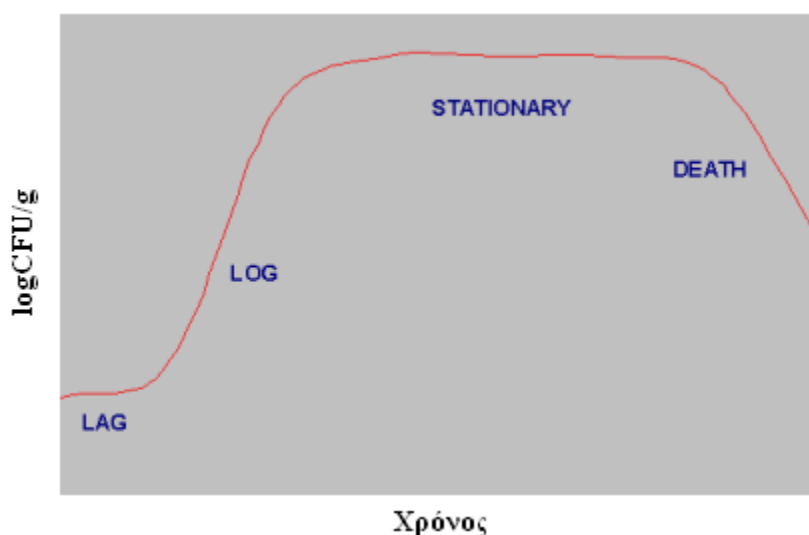
υπόστρωμα στερεοποιείται πολύ εύκολα. Γι' αυτό και κατά την αναμονή από το τέλος της πρώτης μέχρι και την έναρξη της δεύτερης διανομής του υποστρώματος, το MRS θα πρέπει να διατηρείται σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 60°C. Η επώαση των γαλακτικών βακτηρίων στους 30°C διαρκεί 4 ημέρες.

5) Καταμέτρηση αποικιών και υπολογισμός μικροβιακού φορτίου του δείγματος

Μετά την επώαση των μικροοργανισμών, μετρούνται οι αποικίες των μικροοργανισμών (colony forming units, cfu) οι οποίες έχουν προκύψει στο κάθε τρυβλίο. Τα τρυβλία που αντιστοιχούν σε μικρότερες αραιώσεις εμφανίζουν μεγαλύτερο αριθμό αποικιών, όπως είναι άλλωστε αναμενόμενο, ενώ εκείνα τα οποία αντιστοιχούν σε μεγαλύτερες εμφανίζουν μικρότερο αριθμό αποικιών. Η καταμέτρηση των αποικιών διευκολύνεται όταν επιλέγονται τρυβλία τα οποία περιέχουν 50-200 αποικίες.

Στη συνέχεια ο αριθμός των αποικιών που μετρήθηκε σε κάθε τρυβλίο, ανάγεται στην αραιώση 0 προκειμένου να εκτιμηθεί το μικροβιακό φορτίο ανά γραμμάριο δείγματος κοτόπουλου.

Τέλος, για τη διευκόλυνση της επεξεργασίας των αποτελεσμάτων ο αριθμός των αποικιών που προέκυψε, λογαριθμίζεται με χρήση δεκαδικού λογαρίθμου και τα αποτελέσματα των μετρήσεων που λαμβάνονται ανά τακτά χρονικά διαστήματα, αναπαρίστανται σε μορφή διαγράμματος, όπως φαίνεται στο σχήμα 7.1, το οποίο ακολουθεί την τυπική καμπύλη ανάπτυξης μικροοργανισμών.



Σχήμα 7.1: Τυπική καμπύλη ανάπτυξης μικροβίων

Για παράδειγμα, αν σε ένα τρυβλίο αραιώσης 10^{-4} ($4^{\text{η}}$ αραιώση) μετρηθούν συνολικά 117 αποικίες γαλακτικών βακτηρίων, τότε το συνολικό φορτίο θα είναι:

$$117 * (1/10^{-4}) = 117 * 10^4 = 1.170.000 \text{ CFU/g}$$

Στην συγκεκριμένη περίπτωση, θα λέγαμε ότι το αρχικό δείγμα (μπούτι κοτόπουλου) έχει φορτίο γαλακτικών βακτηρίων:

$$\log (1.170.000) = 6,07$$

Άρα το συνολικό φορτίο σε γαλακτικά βακτήρια είναι 6,07 log CFU/g.

Ομοίως αν σε ένα τρυβλίο αραιώσης 10^{-4} (4η αραιώση) μετρηθούν συνολικά 82 αποικίες ψευδομονάδων, τότε επειδή ο εμβολιασμός στο τρυβλίο έγινε με 100 μL από την 4η αραιώση το συνολικό φορτίο θα είναι:

$$82 * (1/10^{-5}) = 82 * 10^5 = 8.200.000 \text{ CFU/g}$$

Συνεπώς το αρχικό δείγμα θα έχει φορτίο ψευδομονάδων:

$$\log (8.200.000) = 6,91 \text{ log CFU/g.}$$

7.4 Μέτρηση pH

Η τιμή του pH των προϊόντων κοτόπουλου είναι πολύ σημαντική παράμετρος, καθώς επηρεάζει τις ιδιότητες, τα ποιοτικά χαρακτηριστικά και το είδος της αναπτυσσόμενης μικροβιακής χλωρίδας. Σημαντική είναι και η επίδραση του pH στη διαλυτότητα των πρωτεϊνών, αφού όσο περισσότερο απέχει το pH του προϊόντος από το ισοηλεκτρικό τους σημείο, οι γαλακτωματοποιητικές ιδιότητες των πρωτεϊνών βελτιώνονται. Με τη μείωση του pH, που μπορεί να παρατηρηθεί κατά την αποθήκευση, και την προσέγγισή του προς το ισοηλεκτρικό σημείο, η διαλυτότητα των πρωτεϊνών μειώνεται και αυτό έχει ως αποτέλεσμα μεγάλες απώλειες υγρασίας και αλλοίωση της υφής του προϊόντος.

Η μέτρηση των τιμών του pH γίνεται με χρήση ηλεκτρονικού pH - μέτρου (pH-meter 338, AMEL Instruments, Milan, Italy). Προκειμένου να μετρηθεί το pH, πραγματοποιείται εμβάπτιση του ηλεκτρονικού pH-μέτρου στο ομογενοποιημένο διάλυμα δείγματος – ορού Ringer 1/10 (σακούλα) κατόπιν του μικροβιολογικού ελέγχου.

7.5 Μέτρηση χρώματος

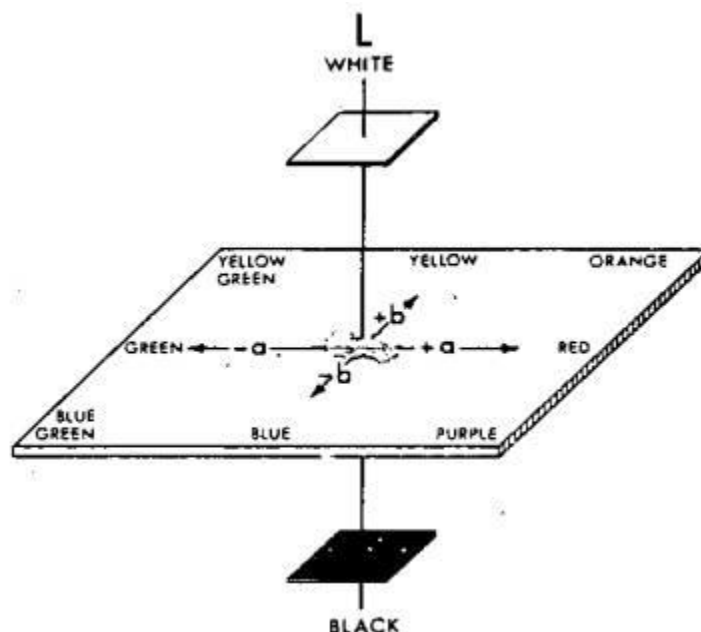
Η μέτρηση του χρώματος των δειγμάτων κοτόπουλου πραγματοποιείται με την εφαρμογή της συσκευής Minolta CR – 200 (Minolta Company, Chuo – Ku, Osaka, Japan), εικόνα 7.2, με χρήση των παραμέτρων χρώματος CIE (Comission International de l' Eclairage) Lab (CIE 1978). Πριν τη διεξαγωγή της μέτρησης, πραγματοποιείται βαθμονόμηση στην επιφάνεια λευκής πλάκας (Calibration plate CR-200, L= 97,5 ,a= -0,31 , b= -3,83). Το άκρο του χρωματομέτρου φέρει οπή διαμέτρου 8mm. Πιέζοντας το κουμπί που είναι προσαρτημένο πάνω στη λαβή της κεφαλής μέτρησης, το χρωματομέτρο ακτινοβολεί το δείγμα τρεις φορές και το αποτέλεσμα (οι τρεις παράμετροι του χρώματος L, a, b) αναγράφεται αυτομάτως στην οθόνη, ως μέση τιμή των τριών μετρήσεων. Κάθε δείγμα μπούτι κοτόπουλου μετρήθηκε σε

τρεις διαφορετικες περιοχες με αποτελεσμα οι τιμες που λαμβανονται να ειναι αντιπροσωπευτικες.



Εικόνα 7.2: Συσκευή Minolta CR – 200

Το σύστημα μέτρησης χρώματος CIELAB (Commission Internationale de l' Eclairage, 1986) χρησιμοποιείται ευρέως για την εκτίμηση του χρώματος των τροφίμων. Οι τιμές L, α και b περιγράφουν έναν ενιαίο τρισδιάστατο χρωματικό χώρο όπως φαίνεται στην εικόνα 7.3, όπου το L είναι ο κάθετος άξονας και ορίζει τη φωτεινότητα, και τα α και b είναι οι οριζόντιοι άξονες που ορίζουν την κόκκινη-πράσινη απόχρωση και την μπλε-κίτρινη απόχρωση αντίστοιχα. Ο θετικός ημιάξονας του α δηλώνει το κόκκινο χρώμα ενώ ο αρνητικός το πράσινο, και ο θετικός ημιάξονας του b δηλώνει το κίτρινο χρώμα ενώ ο αρνητικός το μπλε. Το L μπορεί να κυμαίνεται από 0 έως 100, ενώ τα α και b ποικίλουν μεταξύ -60 και +60 (Martinez et al., 1995).



Εικόνα 7.3: Αναπαράσταση στο χώρο των παραμέτρων L, a, b.

Ο βασικός λόγος εισαγωγής της διεθνούς χρωματικής κλίμακας Cielab, με τις παραμέτρους L, a και b, ήταν η δημιουργία ενός μόνο αριθμού του ΔΕ, ο οποίος αντιπροσωπεύει το μέγεθος της οπτικής διαφοράς μεταξύ δύο χρωμάτων.

Η διαφορά του συνολικού χρώματος ΔΕ είναι το μέτρο του διανύσματος που προκύπτει από τις τρεις συνιστώσες διαφορές, τη διαφορά του δείκτη φωτεινότητας ΔL, τη διαφορά του δείκτη χρωματισμού Δa και τη διαφορά του δείκτη χρωματισμού Δb. Έτσι, το μέγεθος της διαφοράς του συνολικού χρώματος ΔΕ προκύπτει από την εξίσωση (Liu et al.,2002):

$$\Delta E = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2} \quad \text{ή}$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

όπου L_0 , a_0 , b_0 οι τιμές αναφοράς που αντιστοιχούν στα δείγματα πουλερικών κατά την έναρξη της αποθήκευσής τους (χρόνος 0) στις διάφορες θερμοκρασίες .

7.6 Οργανοληπτικός έλεγχος δειγμάτων

Ο οργανοληπτικός έλεγχος πραγματοποιήθηκε σε δύο διαφορετικούς τύπους δειγμάτων, δηλαδή σε νωπά δείγματα κοτόπουλου και σε δείγματα τα οποία υποβλήθηκαν σε θερμική επεξεργασία σε φούρνο του εργαστηρίου στους 180°C για 45-60 min, τυλιγμένα σε φύλλο αλουμινίου, προκειμένου να διατηρηθεί το άρωμά τους. Στα νωπά δείγματα, προσδιορίστηκαν η όψη/εμφάνιση του φρέσκου προϊόντος, η οσμή και το χρώμα, ενώ στα θερμικά επεξεργασμένα δείγματα, η σκληρότητα, η γεύση και η συνολική εντύπωση. Τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων βαθμολογήθηκαν σε κλίμακα εύρους από το 1 έως το 9, στην οποία οι τιμές από το 5 και κάτω δηλώνουν χαμηλής ποιότητας τρόφιμο και

μη αποδεκτό, ενώ τιμές άνω του 5 δηλώνουν τρώφιμο καλύτερης ποιότητας και αποδεκτό. Εξαίρεση αποτελεί η σκληρότητα που και σε τιμές κάτω και πάνω του 5 κρίνεται αποδεκτή. Σε όλα τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά εξετάστηκε η αρέσκεια εκτός από την όψη και την σκληρότητα που εξετάστηκαν η ποιότητα και η ένταση αντίστοιχα. Η οργανοληπτική εκτίμηση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε από έμπειρη ομάδα δοκιμαστών (5 άτομα).

Στη συνέχεια παρατίθεται το έντυπο οργανοληπτικής δοκιμής μπούτι κοτόπουλου.

**ΕΝΤΥΠΟ ΟΡΓΑΝΟΛΗΠΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ
ΚΟΤΟΠΟΥΛΟ ΜΠΟΥΤΙ**

Όνοματεπώνυμο:
Ημερομηνία:

Νωπό Προϊόν

Όψη φρέσκου προϊόντος (ποιότητα, 1=χαμηλότερη, 9= υψηλότερη)

Δείγμα: 1 2 3 4 5 6 7 8 9

Παρατηρήσεις :

Όσμη φρέσκου προϊόντος (αρέσκεια, 1=χαμηλότερη , 9=υψηλότερη)

Δείγμα: 1 2 3 4 5 6 7 8 9

Παρατηρήσεις :

Μαγειρεμένο Προϊόν

Σκληρότητα (ένταση, 1=μικρότερη , 9=μεγαλύτερη)

Δείγμα: 1 2 3 4 5 6 7 8 9

Παρατηρήσεις :

Γεύση (αρέσκεια), 1=χαμηλότερη, 9=υψηλότερη)

Δείγμα: 1 2 3 4 5 6 7 8 9

Παρατηρήσεις :

Γενική Εντύπωση (αρέσκεια, 1=χαμηλότερη, 9=υψηλότερη)

Δείγμα: 1 2 3 4 5 6 7 8 9

Παρατηρήσεις:

Δοκιμή Αποδεκτότητας

Θεωρείτε κάθε ένα από τα δείγματα ως αποδεκτό;

Δείγμα:

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ΝΑΙ	ΝΑΙ	ΝΑΙ	ΝΑΙ	ΝΑΙ	ΝΑΙ	ΝΑΙ	ΝΑΙ	ΝΑΙ	ΝΑΙ
ΟΧΙ	<u>ΟΧΙ</u>	<u>ΟΧΙ</u>	<u>ΟΧΙ</u>	<u>ΟΧΙ</u>	<u>ΟΧΙ</u>	<u>ΟΧΙ</u>	<u>ΟΧΙ</u>	<u>ΟΧΙ</u>	<u>ΟΧΙ</u>

Παρατηρήσεις:

7.7 Στατιστική επεξεργασία

Για την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων όσον αφορά την επίδραση της εφαρμογής διαφορετικών μεθόδων συσκευασίας στις οργανοληπτικές παραμέτρους του τροφίμου κατά τη συντήρηση, πραγματοποιείται ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) με χρήση πολλών παραμέτρων, ώστε να εκτιμηθεί η σημαντικότητα των διαφόρων παραμέτρων της συνολικής διεργασίας (συνθήκες συσκευασίας/επεξεργασ και θερμοκρασία αποθήκευσης). Η στατιστική επεξεργασία πραγματοποιείται με τη βοήθεια του λογισμικού πακέτου του STATISTICA® 10 (StatSoft Inc., Tulsa, USA).

8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

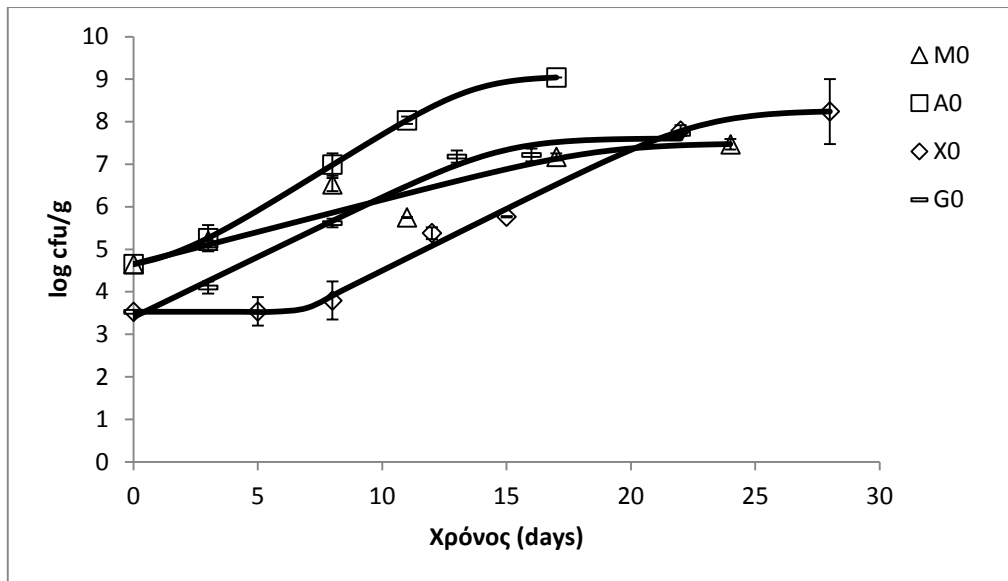
8.1 Μικροβιακή ανάλυση δειγμάτων

Τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν παρουσιάζονται παρακάτω, σε μορφή διαγραμμάτων και πινάκων. Κατά την ανάλυση εξετάστηκε η επίδραση της συσκευασίας σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα ($42,7 \pm 1,5\%$ O₂, $18,5 \pm 0,5\%$ CO₂ και $38,8 \pm 0,7\%$ N₂) και η επίδραση της χρήσης εδώδιμης μεμβράνης πηκτικής μήλου (2%) με προσθήκη αντιμικροβιακού citrox (1%) ή γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5%), έχοντας σαν μέτρο σύγκρισης τη μικροβιακή ανάπτυξη στα ανεπεξέργαστα δείγματα (control). Επίσης, εξετάστηκε για όλες τις κατηγορίες δειγμάτων η επίδραση της θερμοκρασίας συντήρησης στους 0, 5, και 10°C στην ανάπτυξη του μικροβιακού τους φορτίου.

Στα παρακάτω διαγράμματα γίνεται εφαρμογή του μοντέλου Baranyi και η προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων σε αυτό, μέσω του προγράμματος Dmfit, και υπολογίζονται οι ρυθμοί μικροβιακής ανάπτυξης για την ολική μικροβιακή χλωρίδα, τις ψευδομονάδες, τον *Brochothrix thermosphacta* και τα γαλακτικά βακτήρια. Η καμπύλη του μοντέλου Baranyi είναι σιγμοειδούς μορφής, περιλαμβάνει λανθάνουσα φάση, εκθετική φάση και φάση στασιμότητας και ο ρυθμός ανάπτυξης του μικροβιακού φορτίου αναφέρεται στην εκθετική φάση. Επίσης στη συνέχεια για κάθε κατηγορία μικροοργανισμού και μέθοδο επεξεργασίας/συσκευασίας γίνεται χρήση του μοντέλου Arrhenius με σκοπό την εύρεση του ρυθμού k_{ref} (για $T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$) και της ενέργειας ενεργοποίησης E_a .

8.1.1 Ολική μικροβιακή χλωρίδα

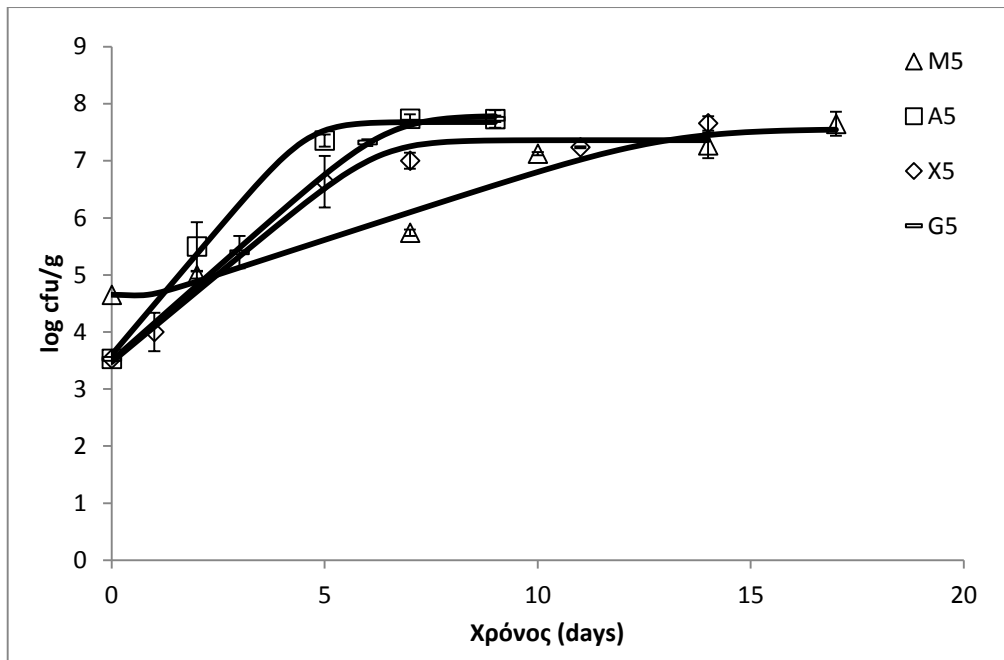
Στα διαγράμματα και στους πίνακες που ακολουθούν (Σχήματα 8.1-8.3 και Πίνακες 8.1-8.3) παρουσιάζεται η μεταβολή της ολικής μικροβιακής χλωρίδας συναρτήσει του χρόνου και οι ρυθμοί εκθετικής ανάπτυξης, για τις τέσσερις κατηγορίες δειγμάτων (A, M, X, G) και για τις τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης (0, 5, 10 °C). Ο οριζόντιος άξονας παριστάνει το χρόνο σε ημέρες και ο κατακόρυφος το λογάριθμο του πληθυσμού των μικροβιακών κυττάρων που βρίσκονται ανά γραμμάριο δείγματος, με εφαρμογή του μοντέλου Baranyi.



Σχήμα 8.1: Καμπύλες ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 0 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.1: Σταθερές του εκθετικού ρυθμού ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 0 °C

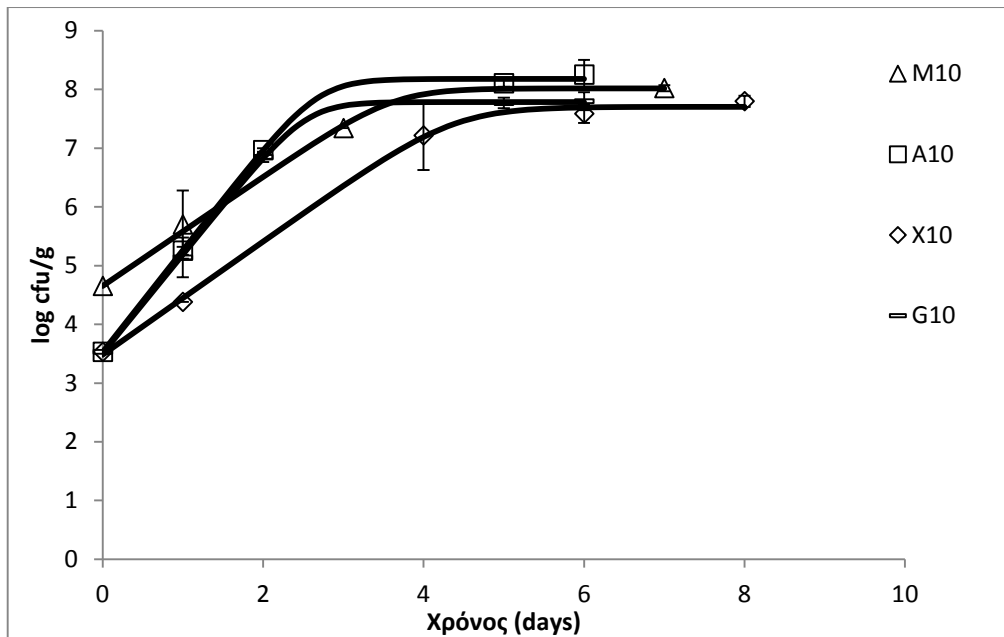
Δείγμα	Σταθερά ρυθμού ανάπτυξης k (d ⁻¹) ολικής μικροβιακής χλωρίδας
A	0,3655 ± 0,0045
M	0,1511 ± 0,0607
X	0,2911 ± 0,0244
G	0,2833 ± 0,0256



Σχήμα 8.2: Καμπύλες ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 5 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.2: Σταθερές του εκθετικού ρυθμού ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 5 °C

Δείγμα	Σταθερά ρυθμού ανάπτυξης k (d ⁻¹) ολικής μικροβιακής χλωρίδας
A	0,8835 ± 0,1001
M	0,2424 ± 0,0537
X	0,6183 ± 0,0715
G	0,6605 ± 0,0236



Σχήμα 8.3: Καμπύλες ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 10 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.3: Σταθερές του εκθετικού ρυθμού ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 10 °C

Δείγμα	Σταθερά ρυθμού ανάπτυξης k (d ⁻¹) ολικής μικροβιακής χλωρίδας
A	1,7347 ± 0,0561
M	0,9304 ± 0,0974
X	0,9642 ± 0,0532
G	1,6833 ± 0,0342

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω διαγράμματα με τους αντίστοιχους πίνακες ο εκθετικός ρυθμός ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας στα αερόβια ανεπεξέργαστα δείγματα (A) παρουσιάζει την μεγαλύτερη τιμή σε σχέση με τα υπόλοιπα σε όλες τις θερμοκρασίες συντήρησης. Αντίθετα στα δείγματα (M, X και G) ο ρυθμός ανάπτυξης εμφανίζεται χαμηλότερος σε σχέση με το δείγμα αναφοράς με την μικρότερη τιμή να εμφανίζεται στα δείγματα M σε όλες τις θερμοκρασίες. Ταυτόχρονα τα δείγματα M, X και G σε όλες τις θερμοκρασίες παρουσιάζουν χαμηλότερο τελικό ολικό μικροβιακό φορτίο (πλατό) σε σχέση με το δείγμα αναφοράς (A) με την μεγαλύτερη μείωση να παρουσιάζεται στο δείγμα M στους

0 °C κατά 1 log cfu/g περίπου. Επίσης, φαίνεται ότι με την αύξηση της θερμοκρασίας παρατηρείται αύξηση όλων των εκθετικών ρυθμών ανάπτυξης και των 4 δειγμάτων καθώς με την αύξηση της θερμοκρασίας οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται ταχύτερα. Με βάση τη στατιστική επεξεργασία, η επίδραση της θερμοκρασίας στο ρυθμό ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας είναι σημαντική ($p < 0,05$) ενώ αντίθετα, παρόλο που παρατηρείται μείωση των ρυθμών στα δείγματα M, X, G σε σχέση με τα δείγματα A, δεν παρουσιάζονται σημαντικές διαφορές ($p > 0,05$) όσον αφορά στην επίδραση της μεθόδου συσκευασίας/επεξεργασίας στον ρυθμό ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας στα δείγματα κοτόπουλου.

8.1.2 Μοντέλο Arrhenius για την ολική μικροβιακή χλωρίδα

Οι ρυθμοί μικροβιακής ανάπτυξης που βρέθηκαν με την βοήθεια του μοντέλου Baranyi προσαρμόστηκαν σε εξίσωση της μορφής $y = ax + b$, δηλαδή σε γραμμική εξίσωση. Η παραπάνω εξίσωση αντιστοιχίστηκε με τη γραμμικοποιημένη μορφή της εξίσωσης Arrhenius. Η εξάρτηση του ρυθμού μικροβιακής ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας καθώς και όλων των μικροοργανισμών που μελετούνται από τη θερμοκρασία, για κάθε κατηγορία δείγματος (A, M, X και G), μπορεί να ποσοτικοποιηθεί, εφαρμόζοντας την εξίσωση Arrhenius και υπολογίζοντας την ενέργεια ενεργοποίησης της μικροβιακής ανάπτυξης, για την ολική μικροβιακή χλωρίδα.

Η εξίσωση Arrhenius μετασχηματίζεται στη μορφή:

$$\ln(k) = \ln(k_{ref}) - \frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right) \quad (8.1)$$

όπου,

k είναι ο ρυθμός μικροβιακής ανάπτυξης,

T η απόλυτη θερμοκρασία σε βαθμούς K,

T_{ref} η θερμοκρασία αναφοράς που έχει ληφθεί στους 4°C,

k_{ref} ο ρυθμός μικροβιακής ανάπτυξης στη θερμοκρασία αναφοράς T_{ref} σε d^{-1}

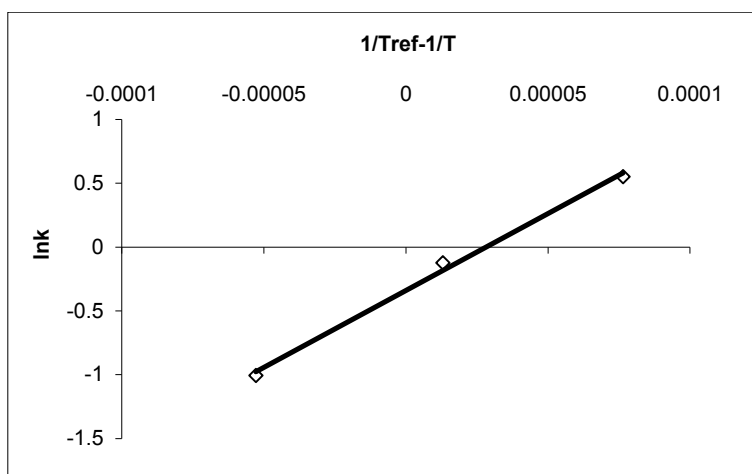
R η παγκόσμια σταθερά των αερίων ($R=8,314 \text{ J/mol.K}$) και

E_a η ενέργεια ενεργοποίησης σε J/mol

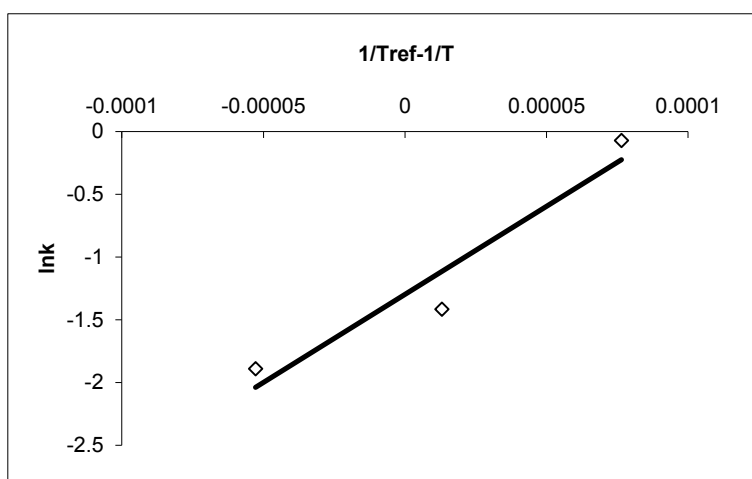
Η ενέργεια ενεργοποίησης E_a είναι ένα μέγεθος που εκφράζει την ευαισθησία ενός φαινομένου στις μεταβολές της θερμοκρασίας. Όσο μεγαλύτερη είναι η E_a τόσο μεγαλύτερη είναι η επίδραση από τη θερμοκρασιακή μεταβολή.

Παρακάτω, παρουσιάζονται τα διαγράμματα που προκύπτουν από την εξίσωση Arrhenius (εξ. 8.1) που δείχνουν την εξάρτηση του ρυθμού ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας

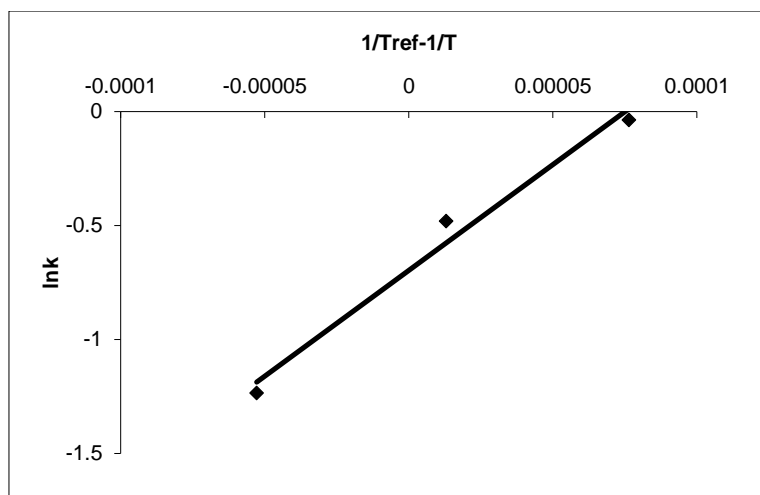
από την θερμοκρασία και για τις τέσσερις σειρές δειγμάτων (Σχήματα 8.4 - 8.7) καθώς και ο πίνακας (πίνακας 8.4) με τις τιμές k_{ref} και E_a .



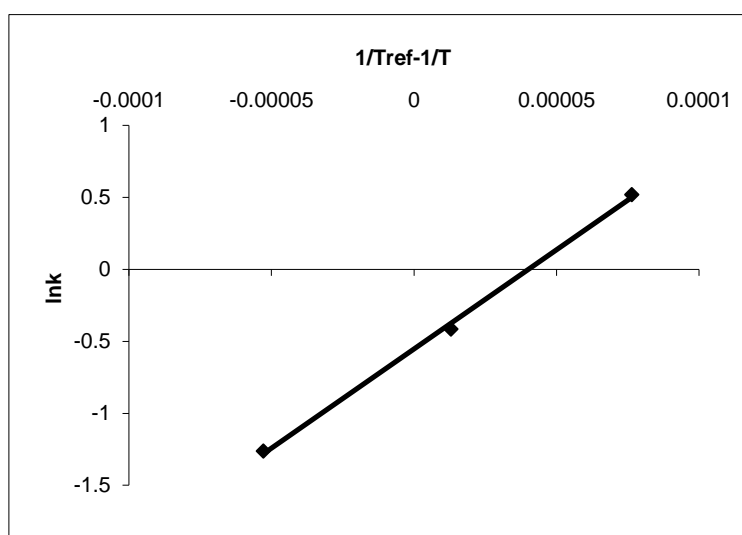
Σχήμα 8.4: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας των δειγμάτων A ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)



Σχήμα 8.5: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας των δειγμάτων M ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)



Σχήμα 8.6: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας των δειγμάτων X ($T_{ref}=4^{\circ}C$)



Σχήμα 8.7: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας των δειγμάτων G ($T_{ref}=4^{\circ}C$)

Πίνακας 8.4: Σταθερές εκθετικού ρυθμού ανάπτυξης k_{ref} και ενέργειες ενεργοποίησης E_{α} των δειγμάτων (A, M, X, G) για την ολική μικροβιακή χλωρίδα

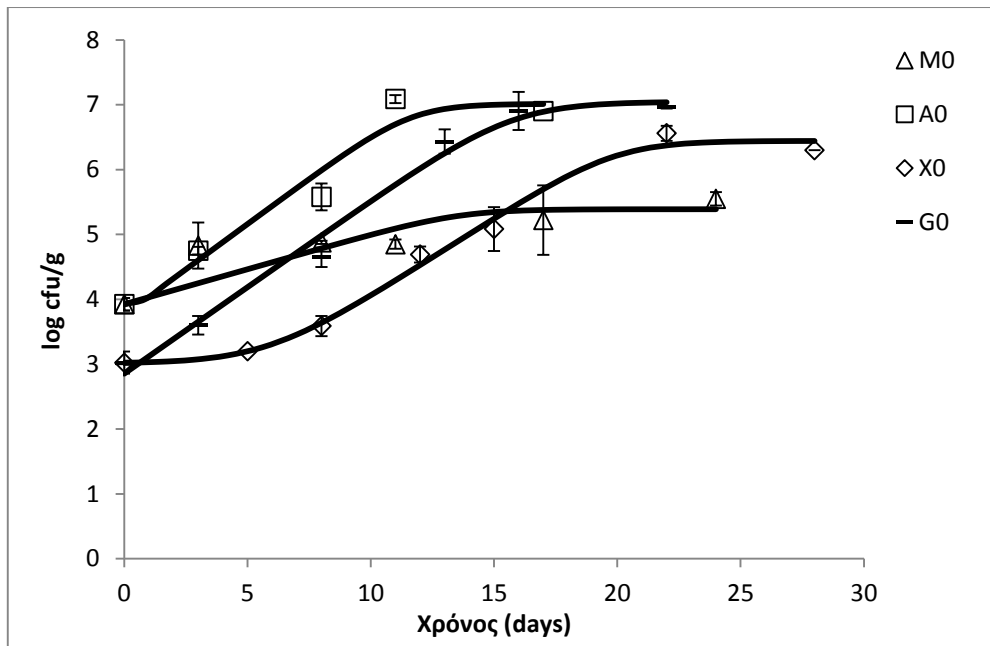
Δείγμα	k_{ref} (d^{-1})	E_{α} (kJ/mol)	R^2
A	0,7116	100,2	0,9956
M	0,2733	116,5	0,9223
X	0,4981	77,1	0,9812
G	0,5752	114,6	0,9985

Συμπεραίνεται ότι τον μικρότερο εκθετικό ρυθμό ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας k_{ref} ($T_{ref} = 4^{\circ}\text{C}$) παρουσιάζουν τα δείγματα Μ ενώ τον μεγαλύτερο τα δείγματα αναφοράς Α. Επίσης, μικρότερους ρυθμούς k_{ref} έχουν και τα δείγματα Χ και Γ σε σχέση με τα δείγματα Α. Ταυτόχρονα, όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα την μεγαλύτερη E_a την έχουν τα δείγματα Μ και Γ ενώ την μικρότερη τα Α.

Η ενέργεια ενεργοποίησης E_a όπως αναφέρθηκε παραπάνω είναι ένα μέγεθος που εκφράζει την ευαισθησία ενός φαινομένου στις μεταβολές της θερμοκρασίας. Όσο μεγαλύτερη είναι η E_a τόσο μεγαλύτερη είναι η επίδραση από τη θερμοκρασιακή μεταβολή. Συνεπώς η αύξηση του εκθετικού ρυθμού ανάπτυξης k για τα δείγματα Μ, Γ είναι μεγαλύτερη καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία συντήρησης. Έτσι, επιβεβαιώνεται και η θεωρία που αναφέρει ότι η συσκευασία MAP δεν επιδρά σημαντικά όσο αυξάνεται η θερμοκρασία.

8.1.3 Ψευδομονάδες

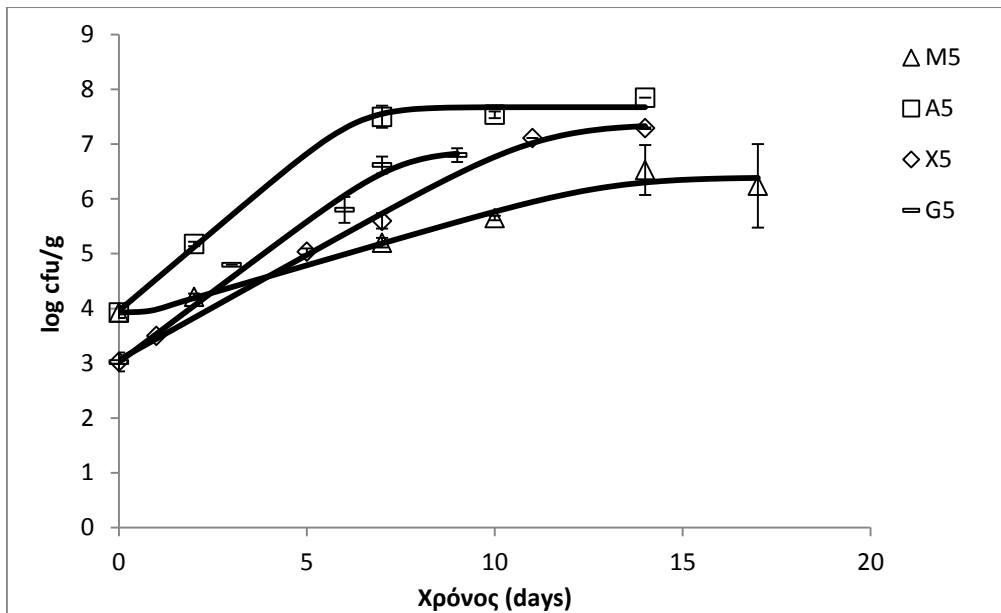
Από τους μικροοργανισμούς που είναι παρόντες στο κοτόπουλο, οι ψευδομονάδες κυριαρχούν στους αλλοιογόνους πληθυσμούς σε αερόβιες συνθήκες (Ανδρέου, 2013). Με την ίδια διαδικασία που ακολουθήθηκε για την ΟΜΧ, στα διαγράμματα και στους πίνακες που ακολουθούν (Σχήματα 8.8-8.10 και Πίνακες 8.5-8.7) παρουσιάζεται η μεταβολή του φορτίου των ψευδομονάδων συναρτήσει του χρόνου και οι ρυθμοί εκθετικής ανάπτυξης, για τις τέσσερις κατηγορίες δειγμάτων (Α, Μ, Χ, Γ) και για τις τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης (0, 5, 10 °C).



Σχήμα 8.8: Καμπύλες ανάπτυξης των ψευδομονάδων για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 0 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (ν/ν) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.5: Σταθερές του εκθετικού ρυθμού ανάπτυξης των ψευδομονάδων για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 0 °C

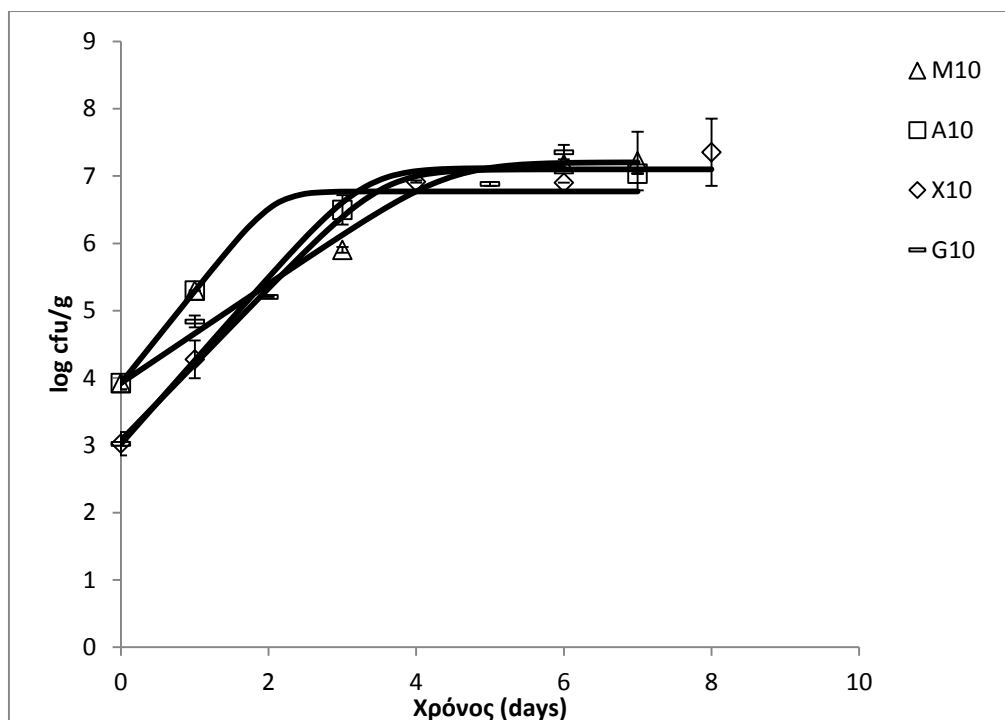
Δείγμα	Σταθερά ρυθμού ανάπτυξης k (d ⁻¹) ψευδομονάδων
A	0,2796 ± 0,0906
M	0,1080 ± 0,0722
X	0,2435 ± 0,0591
G	0,2667 ± 0,0266



Σχήμα 8.9: Καμπύλες ανάπτυξης των ψευδομονάδων για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 5 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (ν/ν) $42,7 \pm 1,5\%$ O_2 , $18,5 \pm 0,5\%$ CO_2 και $38,8 \pm 0,7\%$ N_2 , X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.6: Σταθερές του εκθετικού ρυθμού ανάπτυξης των ψευδομονάδων για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 5 °C

Δείγμα	Σταθερά ρυθμού ανάπτυξης k (d^{-1}) ψευδομονάδων
A	$0,5811 \pm 0,0828$
M	$0,1996 \pm 0,0295$
X	$0,3825 \pm 0,0169$
G	$0,5154 \pm 0,1154$



Σχήμα 8.10: Καμπύλες ανάπτυξης των ψευδομονάδων για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 10 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.7: Σταθερές του εκθετικού ρυθμού ανάπτυξης των ψευδομονάδων για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 10 °C

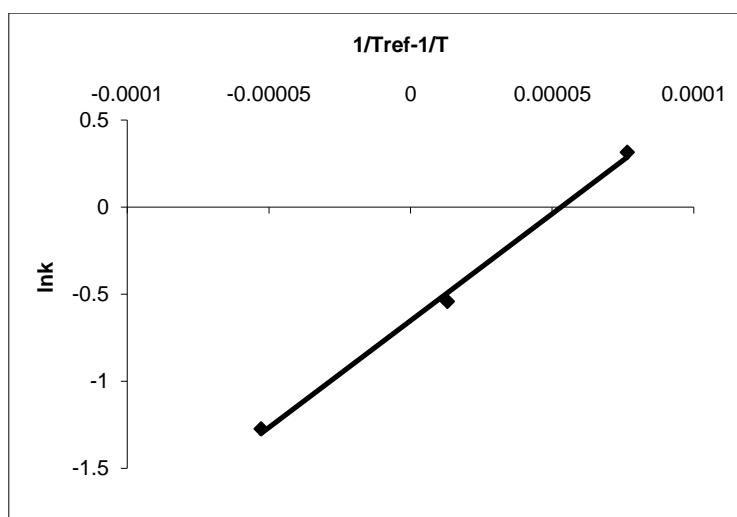
Δείγμα	Σταθερά ρυθμού ανάπτυξης k (d ⁻¹) ψευδομονάδων
A	1,3686 ± 0,2232
M	0,7378 ± 0,3447
X	1,1317 ± 0,2499
G	1,2414 ± 0,7356

Όπως διαπιστώνεται από τα παραπάνω, οι εκθετικοί ρυθμοί ανάπτυξης των ψευδομονάδων στα δείγματα κοτόπουλου αυξάνονται με την αύξηση της θερμοκρασίας και για τις τέσσερις παρτίδες δειγμάτων. Σύμφωνα με τη στατιστική επεξεργασία η θερμοκρασία επιδρά σημαντικά ($p < 0,05$) στο ρυθμό ανάπτυξης των ψευδομονάδων. Ταυτόχρονα, παρουσιάζονται σημαντικές επιδράσεις της μεθόδου συσκευασίας/επεξεργασίας ($p < 0,05$) στο ρυθμό ανάπτυξης των ψευδομονάδων. Οι ρυθμοί για τα δείγματα M, X, G είναι μικρότεροι

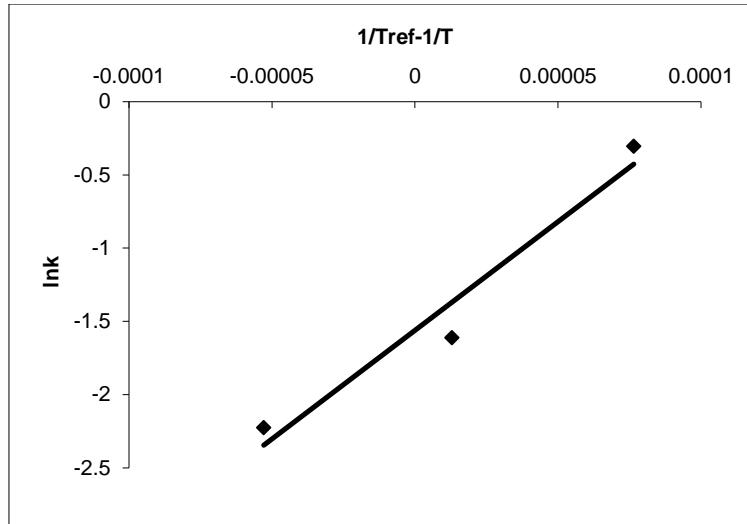
από το ρυθμό ανάπτυξης για τα δείγματα αναφοράς A σε όλες τις θερμοκρασίες αποθήκευσης των δειγμάτων. Συγκεκριμένα, για κάθε θερμοκρασία ο ρυθμός ανάπτυξης του φορτίου των ψευδομονάδων είναι κατά αύξουσα σειρά: $M < X < G < A$. Παράλληλα, το τελικό φορτίο $\log \text{cfu/g}$ των δειγμάτων M, X, G είναι χαμηλότερο σε σχέση με αυτό του δείγματος A και ιδιαίτερα για τις θερμοκρασίες 0 και 5 °C με την μεγαλύτερη μείωση να παρουσιάζεται στα δείγματα M0 °C και X0 °C κατά 1,5 και 0,7 $\log \text{cfu/g}$ περίπου αντίστοιχα. Τέλος, παρατηρείται ότι οι ψευδομονάδες είναι οι επικρατέστεροι μικροοργανισμοί στα δείγματα κοτόπουλου. Τα παραπάνω αποτελέσματα επιβεβαιώνονται από τους Chouliara et. al (2008) και Patsias et. al (2008) όπου παρατηρήθηκε επιβράδυνση της ανάπτυξης των ψευδομονάδων σε δείγματα κοτόπουλου που είχαν συσκευασθεί σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα και από τους Fernandez et al. (2013) όπου η χρήση εδώδιμης μεμβράνης- αντιμικροβιακού παρουσίασε παρόμοια επιβράδυνση στην ανάπτυξή τους.

8.1.4 Μοντέλο Arrhenius για τις ψευδομονάδες

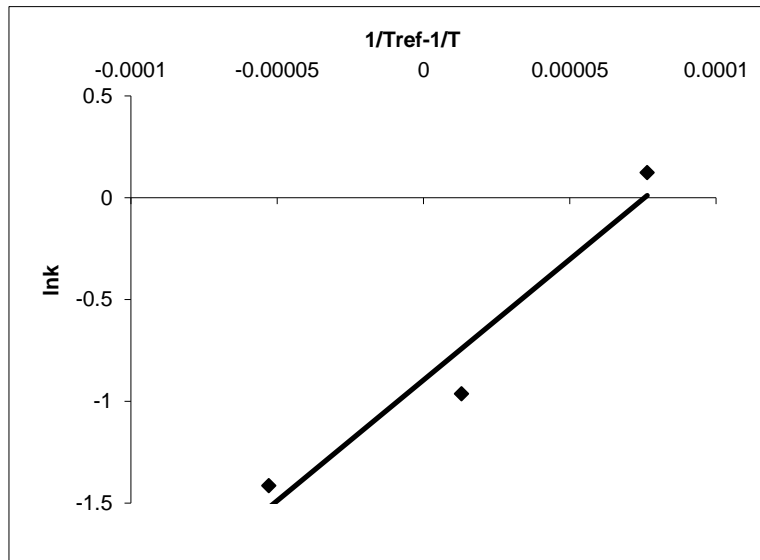
Με τον ίδιο τρόπο που εφαρμόστηκε για την ολική μικροβιακή χλωρίδα βρίσκονται τα k_{ref} και E_{α} για τις ψευδομονάδες με την χρήση των πειραματικών εκθετικών ρυθμών k και του μοντέλου Arrhenius. Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα διαγράμματα που προκύπτουν από την εξίσωση Arrhenius (εξ. 8.1) που δείχνουν την εξάρτηση του ρυθμού ανάπτυξης των ψευδομονάδων από την θερμοκρασία και για τις τέσσερις σειρές δειγμάτων (Σχήματα 8.11 - 8.14) καθώς και ο πίνακας (πίνακας 8.8) με τις τιμές k_{ref} και E_{α} .



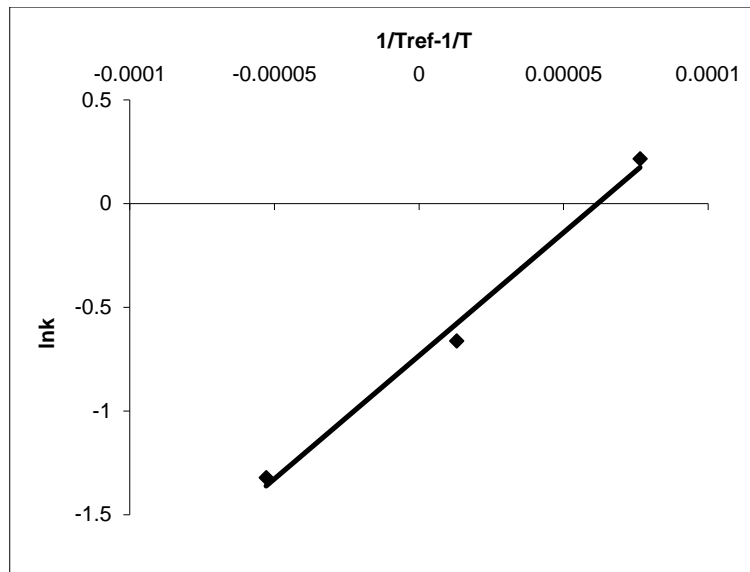
Σχήμα 8.11: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού ανάπτυξης των ψευδομονάδων των δειγμάτων A ($T_{\text{ref}}=4^{\circ}\text{C}$)



Σχήμα 8.12: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού ανάπτυξης των ψευδομονάδων των δειγμάτων M ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)



Σχήμα 8.13: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού ανάπτυξης των ψευδομονάδων των δειγμάτων X ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)



Σχήμα 8.14: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού ανάπτυξης των ψευδομονάδων των δειγμάτων G ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)

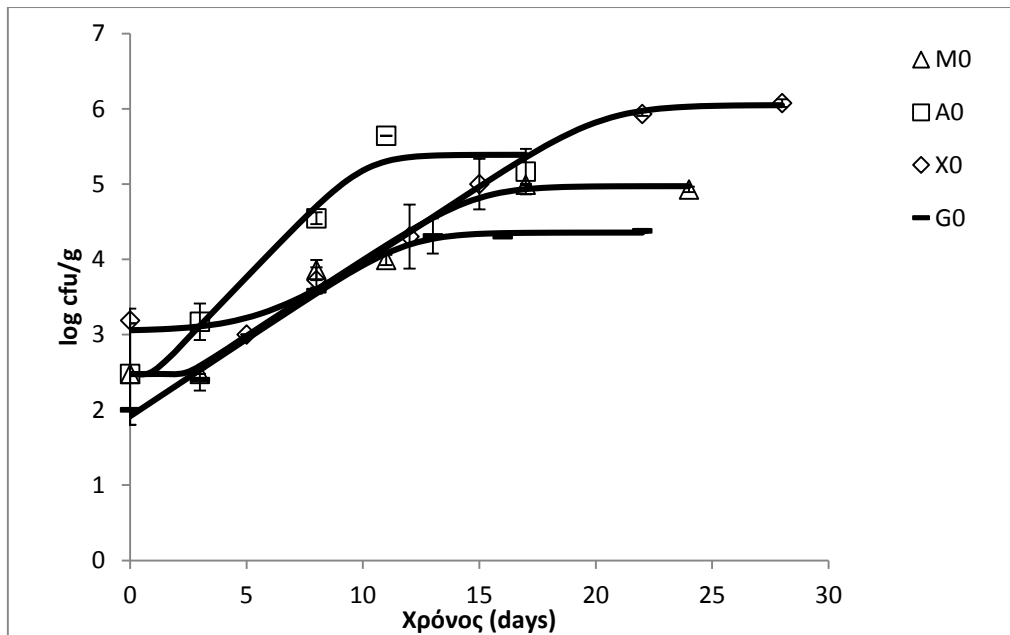
Πίνακας 8.8: Σταθερές εκθετικού ρυθμού ανάπτυξης k_{ref} και ενέργειες ενεργοποίησης E_{α} των δειγμάτων (A, M, X, G) για τις ψευδομονάδες

Δείγμα	k_{ref} (d^{-1})	E_{α} (kJ/mol)	R^2
A	0,5216	102,1	0,9969
M	0,2099	123,3	0,9542
X	0,4088	98,5	0,9417
G	0,4798	98,8	0,9914

Διαπιστώνεται, από τα παραπάνω, ότι τον μικρότερο εκθετικό ρυθμό ανάπτυξης της ολικής μικροβιακής χλωρίδας k_{ref} παρουσιάζουν τα δείγματα M και ακολουθούν τα δείγματα X και G ενώ τον μεγαλύτερο τα δείγματα αναφοράς A. Ακόμα, όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα την μεγαλύτερη E_{α} την έχουν τα δείγματα M ενώ τα υπόλοιπα δεν εμφανίζουν σημαντικές διαφορές στην E_{α} .

8.1.5 Brochothrix Thermosphacta

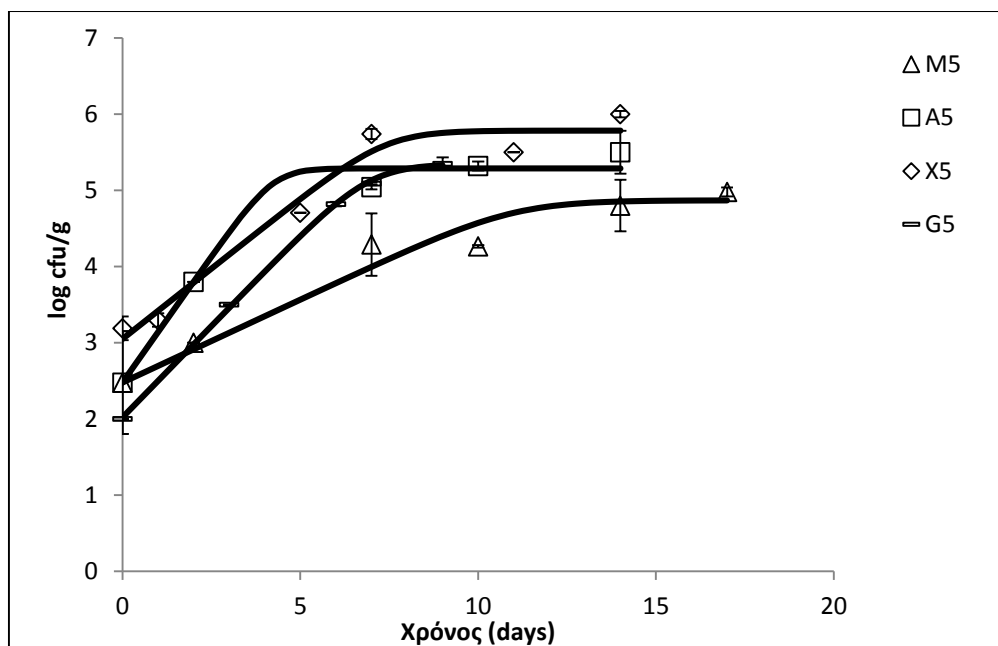
Όμοια, στα διαγράμματα και στους πίνακες που ακολουθούν (Σχήματα 8.15-8.17 και Πίνακες 8.9-8.11) παρουσιάζεται η μεταβολή του φορτίου του γένους *Brochothrix thermosphacta* συναρτήσει του χρόνου και οι ρυθμοί εκθετικής ανάπτυξης, για τις τέσσερις κατηγορίες δειγμάτων (A, M, X, G) και για τις τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης (0, 5, 10 °C).



Σχήμα 8.15: Καμπύλες ανάπτυξης του *Brochothrix thermosphacta* για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 0 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.9: Σταθερές εκθετικού ρυθμού ανάπτυξης του *Brochothrix thermosphacta* για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 0 °C

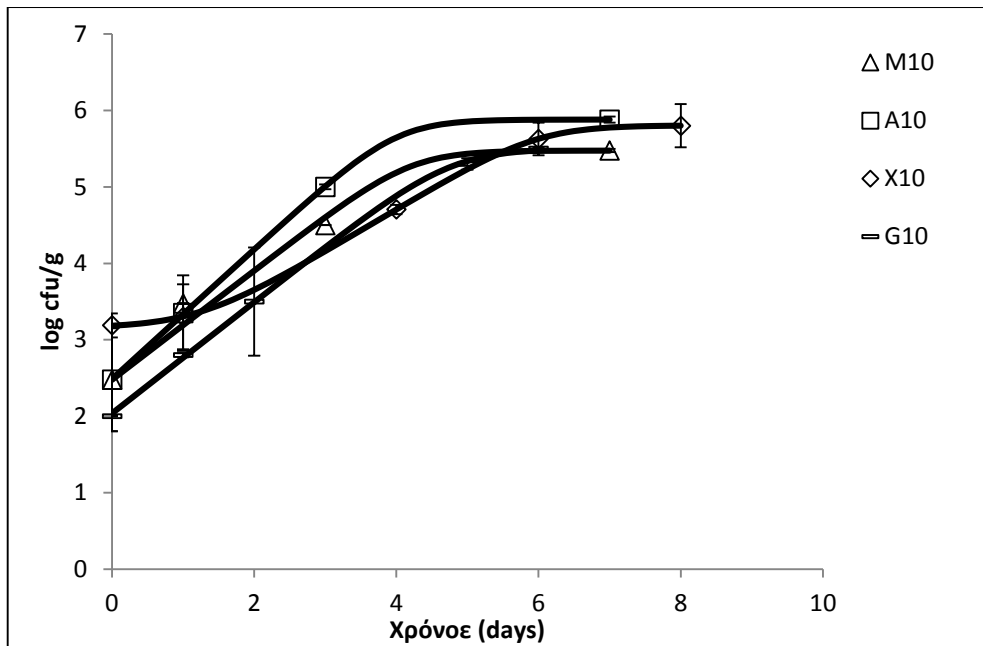
Δείγμα	Σταθερά ρυθμού ανάπτυξης k (d ⁻¹) <i>Brochothrix thermosphacta</i>
A	0,3224 ± 0,0878
M	0,2024 ± 0,0385
X	0,2065 ± 0,0511
G	0,2052 ± 0,0168



Σχήμα 8.16: Καμπύλες ανάπτυξης του *Brochothrix thermosphacta* για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 5 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.10: Σταθερές εκθετικού ρυθμού ανάπτυξης του *Brochothrix thermosphacta* για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 5 °C

Δείγμα	Σταθερά ρυθμού ανάπτυξης k (d ⁻¹) <i>Brochothrix thermosphacta</i>
A	0,6615 ± 0,0368
M	0,2176 ± 0,0532
X	0,3694 ± 0,0623
G	0,4791 ± 0,0119



Σχήμα 8.17: Καμπύλες ανάπτυξης του *Brochothrix thermosphacta* για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 10 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.11: Σταθερές εκθετικού ρυθμού ανάπτυξης του *Brochothrix thermosphacta* για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 10 °C

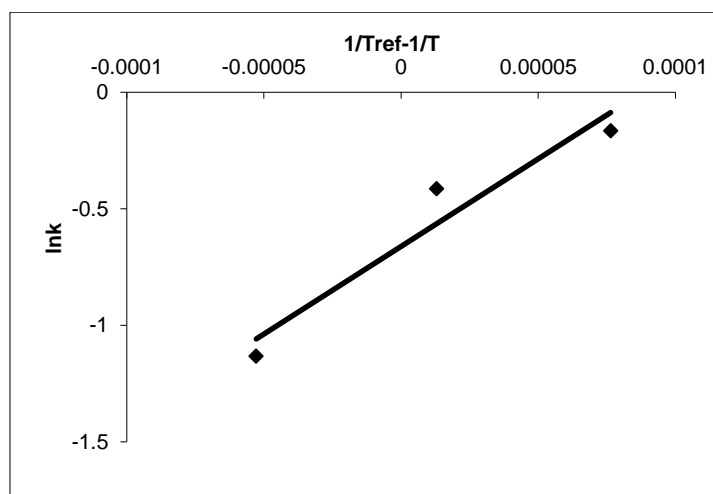
Δείγμα	Σταθερά ρυθμού ανάπτυξης k (d ⁻¹) <i>Brochothrix thermosphacta</i>
A	0,8485 ± 0,0089
M	0,7135 ± 0,0239
X	0,5551 ± 0,0096
G	0,7274 ± 0,0273

Παρατηρείται ότι οι εκθετικοί ρυθμοί ανάπτυξης του *Brochothrix thermosphacta* μειώνονται με την μείωση της θερμοκρασίας συντήρησης για όλες τις κατηγορίες δειγμάτων με αποτέλεσμα να παρατηρείται σημαντική επίδραση της θερμοκρασίας ($p < 0,05$) στο ρυθμό ανάπτυξης του *Brochothrix thermosphacta*. Επιπλέον, για τα δείγματα M, X, G οι ρυθμοί είναι μικρότεροι σε σχέση με το δείγμα αναφοράς σε όλες τις θερμοκρασίες και ιδιαίτερα για τα δείγματα που συντηρούνται στους 0 και 5 °C. Εντούτοις, σύμφωνα με τη στατιστική επεξεργασία, δεν παρατηρούνται σημαντικές επιδράσεις ($p > 0,05$) του είδους συσκευασίας στον ρυθμό ανάπτυξης σε αντίθεση με τους Chouliara et. al (2008), όπου η συσκευασία

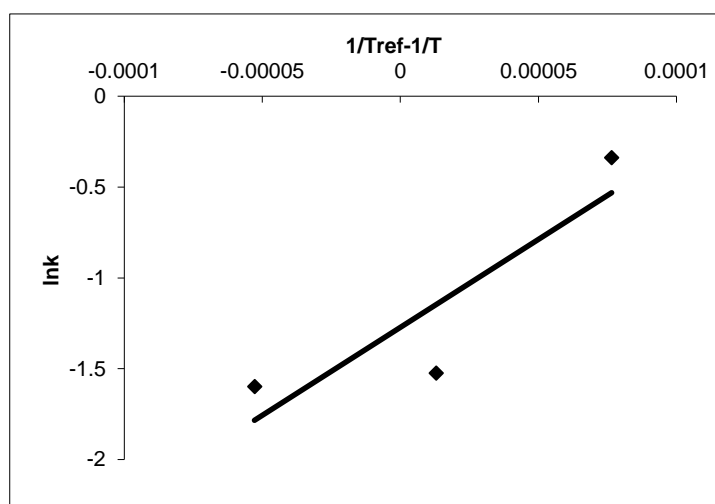
τροποποιημένης ατμόσφαιρας επιβράδυνε σημαντικά την ανάπτυξη του *B. thermosphacta*. Τέλος, παρατηρείται ότι τα δείγματα G στην θερμοκρασία 0 °C παρουσίασαν την μεγαλύτερη μείωση του *Brochothrix thermosphacta* σε σχέση με τα αντίστοιχα A κατά 1 log cfu/g περίπου.

8.1.6 Μοντέλο Arrhenius για τις *Brochothrix Thermosphacta*

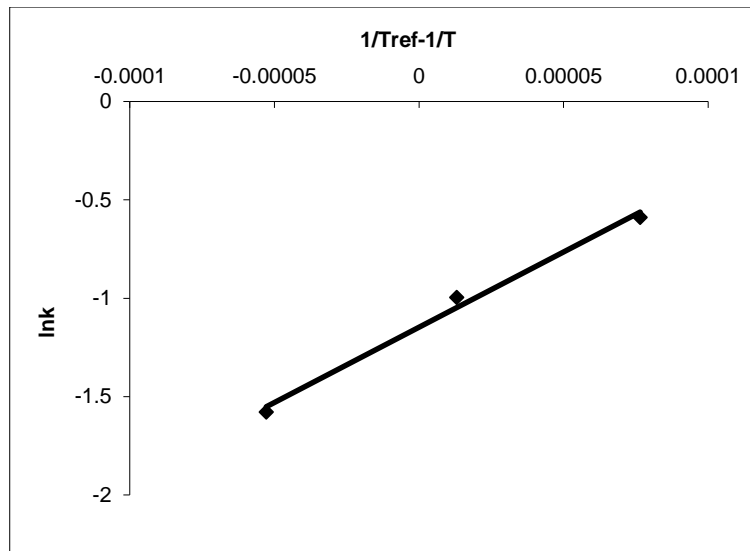
Με τον ίδιο τρόπο που εφαρμόστηκε για την ολική μικροβιακή χλωρίδα και τις ψευδομονάδες βρίσκονται τα k_{ref} και E_a με την χρήση των πειραματικών εκθετικών ρυθμών k και του μοντέλου Arrhenius. Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα που προκύπτουν από την εξίσωση Arrhenius (εξ. 8.1) που δείχνουν την εξάρτηση του ρυθμού ανάπτυξης του *Brochothrix thermosphacta* από την θερμοκρασία και για τις τέσσερις σειρές δειγμάτων (Σχήματα 8.18 - 8.21) καθώς και ο πίνακας (πίνακας 8.12) με τις τιμές k_{ref} και E_a .



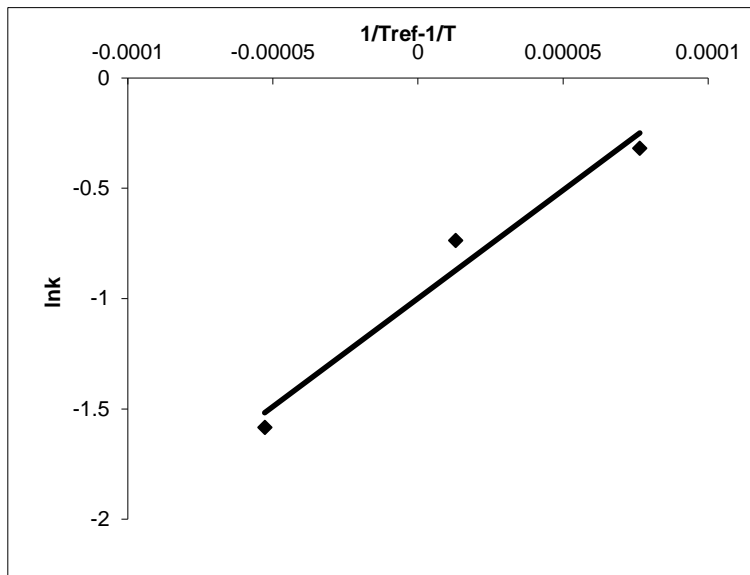
Σχήμα 8.18: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού ανάπτυξης του *Brochothrix thermosphacta* των δειγμάτων A ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)



Σχήμα 8.19: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού ανάπτυξης του *Brochothrix thermosphacta* των δειγμάτων M ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)



Σχήμα 8.20: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού ανάπτυξης του *Brochothrix thermosphacta* των δειγμάτων X ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)



Σχήμα 8.21: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού ανάπτυξης του *Brochothrix thermosphacta* των δειγμάτων G ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)

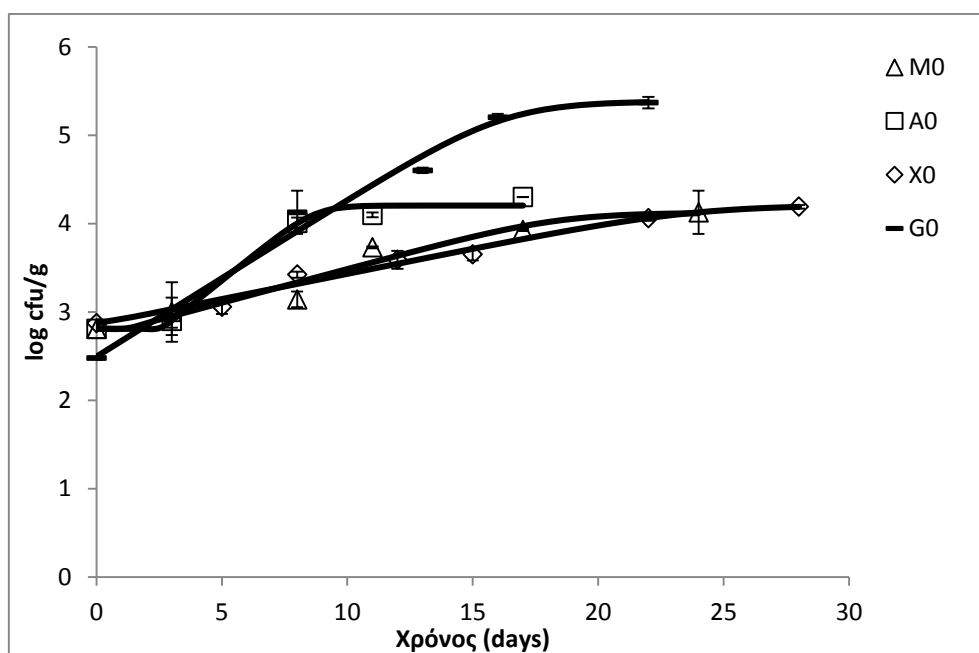
Πίνακας 8.12: Σταθερές εκθετικού ρυθμού ανάπτυξης k_{ref} και ενέργειες ενεργοποίησης E_{α} των δειγμάτων (A, M, X, G) για το γένος *Brochothrix thermosphacta*

Δείγμα	k_{ref} (d^{-1})	E_{α} (kJ/mol)	R^2
A	0,5161	62,4	0,9325
M	0,2804	80,6	0,7845
X	0,3175	63,7	0,9917
G	0.3683	81,5	0,9667

Παρατηρείται ότι ο μικρότερος ρυθμός εκθετικής ανάπτυξης k_{ref} (d^{-1}) των *Brochothrix thermosphacta* εμφανίζεται στα δείγματα Μ και ο μεγαλύτερος στα δείγματα Α. Συγχρόνως και τα δείγματα Χ, G παρουσιάζουν μικρότερους ρυθμούς k_{ref} συγκριτικά με το ρυθμό των Α. Επίσης, φαίνεται ότι οι μεγαλύτερες ενέργειες ενεργοποίησης E_a παρατηρούνται για τα δείγματα G και Μ με αποτέλεσμα ο ρυθμός να εμφανίζει μεγάλη ευαισθησία με τη μεταβολή της θερμοκρασίας με αποτέλεσμα με την αύξηση της θερμοκρασίας να αυξάνεται σημαντικά και ο ρυθμός ανάπτυξης των παραπάνω βακτηρίων.

8.1.7 Γαλακτικά βακτήρια

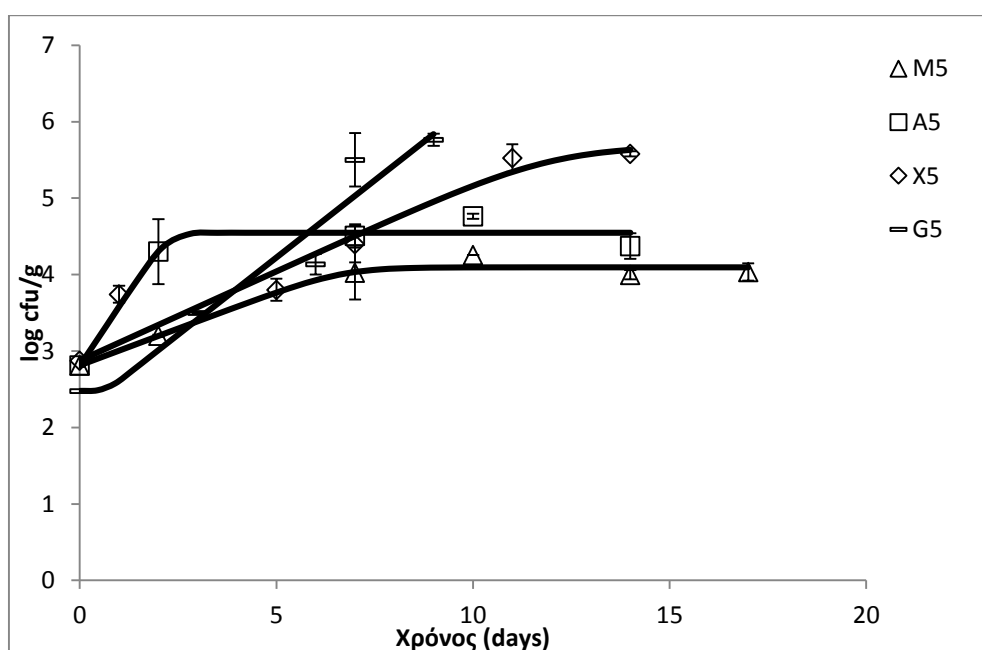
Τέλος, όσον αφορά στα γαλακτικά βακτήρια, στα διαγράμματα και τους πίνακες που ακολουθούν (Σχήματα 8.22-8.24 και Πίνακες 8.13-8.15) παρουσιάζεται η μεταβολή του φορτίου των γαλακτικών βακτηρίων συναρτήσει του χρόνου και οι ρυθμοί εκθετικής ανάπτυξης, για τις τέσσερις κατηγορίες δειγμάτων (Α, Μ, Χ, G) και για τις τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες συντήρησης (0, 5, 10 °C).



Σχήμα 8.22: Καμπύλες ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων για τα δείγματα (Α, Μ, Χ, G) στους 0 °C. (Α: Δείγματα αναφοράς (Control), Μ: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, Χ: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.13: Σταθερές εκθετικού ρυθμού ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 0 °C

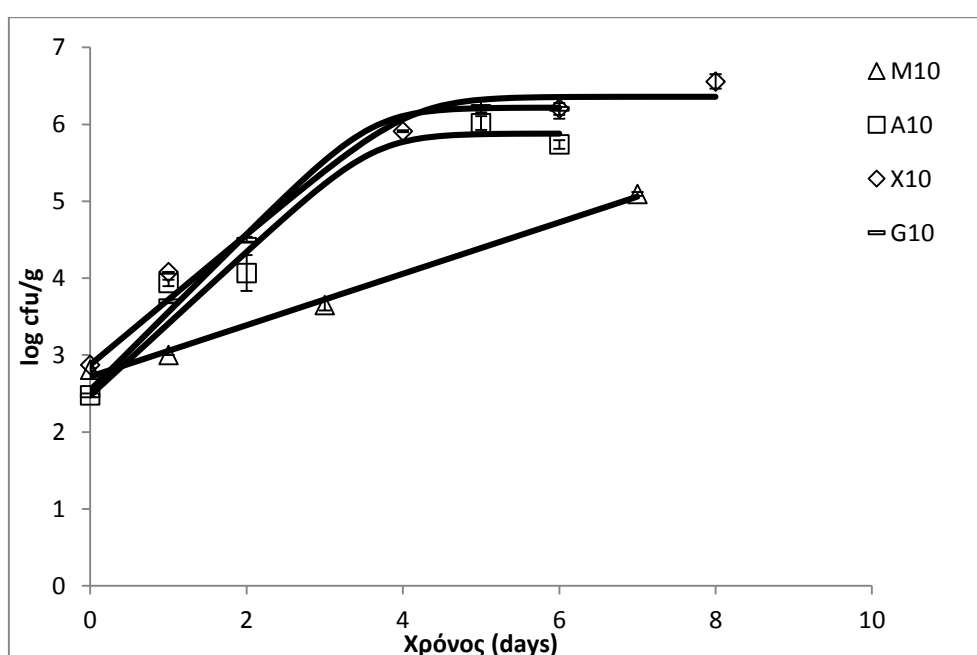
Δείγμα	Σταθερά ρυθμού ανάπτυξης k (d^{-1}) των γαλακτικών βακτηρίων
A	$0,2277 \pm 0,0334$
M	$0,0764 \pm 0,0188$
X	$0,0572 \pm 0,0080$
G	$0,1776 \pm 0,0163$



Σχήμα 8.23: Καμπύλες ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 5 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) $42,7 \pm 1,5\%$ O_2 , $18,5 \pm 0,5\%$ CO_2 και $38,8 \pm 0,7\%$ N_2 , X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.14: Σταθερές εκθετικού ρυθμού ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 5 °C

Δείγμα	Σταθερά ρυθμού ανάπτυξης k (d^{-1}) των γαλακτικών βακτηρίων
A	$0,7699 \pm 0,1691$
M	$0,1922 \pm 0,0466$
X	$0,2335 \pm 0,0730$
G	$0,4036 \pm 0,0919$



Σχήμα 8.24: Καμπύλες ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 10 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) $42,7 \pm 1,5\%$ O_2 , $18,5 \pm 0,5\%$ CO_2 και $38,8 \pm 0,7\%$ N_2 , X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

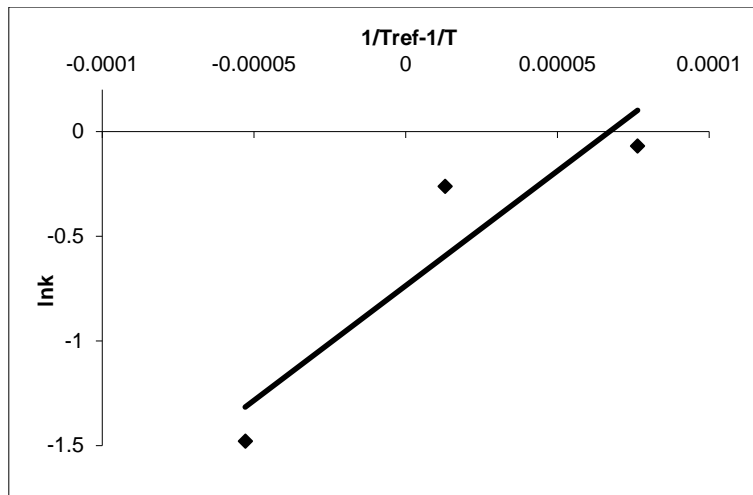
Πίνακας 8.15: Σταθερές εκθετικού ρυθμού ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων για τα δείγματα (A, M, X, G) στους 10 °C

Δείγμα	Σταθερά ρυθμού ανάπτυξης k (d^{-1}) των γαλακτικών βακτηρίων
A	$0,9341 \pm 0,6302$
M	$0,3338 \pm 0,0474$
X	$0,8469 \pm 0,227$
G	$1,0148 \pm 0,0885$

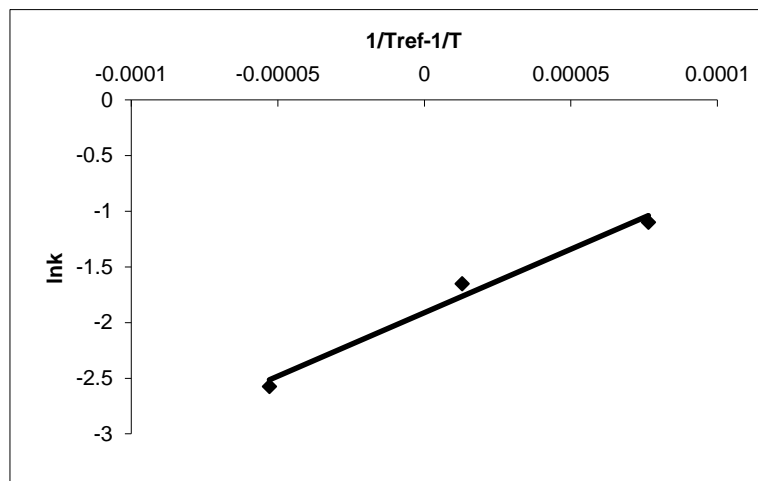
Παρατηρείται ότι στις θερμοκρασίες 0 και 5 °C οι εκθετικοί ρυθμοί ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων για τα δείγματα (M, X, G) είναι χαμηλότεροι σε σχέση με τους αντίστοιχους ρυθμούς των δειγμάτων A. Αντίθετα, στους 10 °C δεν παρατηρούνται διαφορές ανάμεσα στους ρυθμούς ανάπτυξης των δειγμάτων με εξαίρεση τον ρυθμό των δειγμάτων M που εμφανίζεται μειωμένος. Παράλληλα, για όλες τις σειρές δειγμάτων οι ρυθμοί αυξάνονται καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία συντήρησης. Ειδικότερα, με βάση τη στατιστική επεξεργασία παρατηρείται σημαντική επίδραση της θερμοκρασίας ($p < 0,05$) και μη σημαντική επίδραση της μεθόδου συσκευασίας ($p > 0,05$) στην ανάπτυξη των γαλακτικών βακτηρίων.

8.1.8 Μοντέλο Arrhenius για τα γαλακτικά βακτήρια

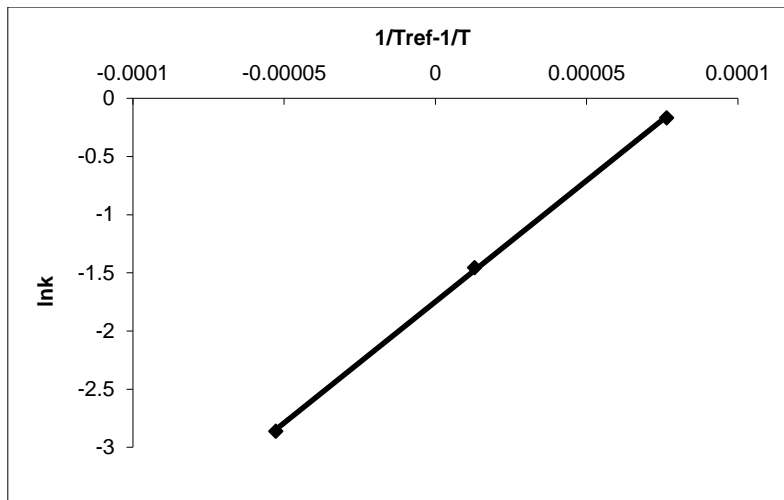
Με τον ίδιο τρόπο που εφαρμόστηκε για τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς βρίσκονται τα k_{ref} και E_a με την χρήση των πειραματικών εκθετικών ρυθμών k για τις διάφορες θερμοκρασίες και του μοντέλου Arrhenius. Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα που προκύπτουν από την εξίσωση Arrhenius (εξ. 8.1) που δείχνουν την εξάρτηση του ρυθμού ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων από την θερμοκρασία και για τις τέσσερις σειρές δειγμάτων (Σχήματα 8.25 - 8.28) καθώς και ο πίνακας (πίνακας 8.16) με τις τιμές k_{ref} και E_a .



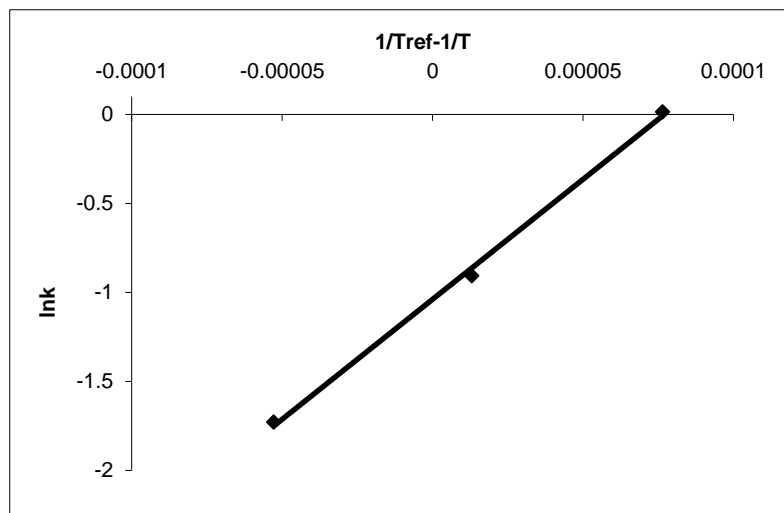
Σχήμα 8.25: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων των δειγμάτων A ($T_{ref} = 4^{\circ}\text{C}$)



Σχήμα 8.26: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων των δειγμάτων M ($T_{ref} = 4^{\circ}\text{C}$)



Σχήμα 8.27: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων των δειγμάτων X ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)



Σχήμα 8.28: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού ανάπτυξης των γαλακτικών βακτηρίων των δειγμάτων G ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)

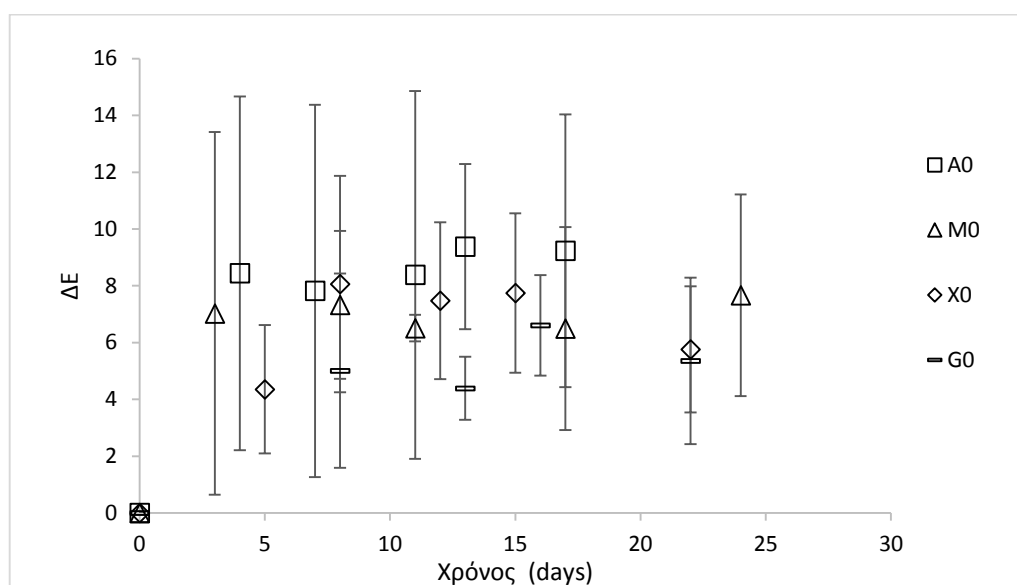
Πίνακας 8.16: Σταθερές εκθετικού ρυθμού ανάπτυξης k_{ref} και ενέργειες ενεργοποίησης E_{α} των δειγμάτων (A, M, X, G) για τα γαλακτικά βακτήρια

Δείγμα	k_{ref} (d^{-1})	E_{α} (kJ/mol)	R^2
A	0,4786	91,2	0,8579
M	0,1478	95,0	0,9822
X	0,1741	173,3	0,9998
G	0,3542	112,0	0,9981

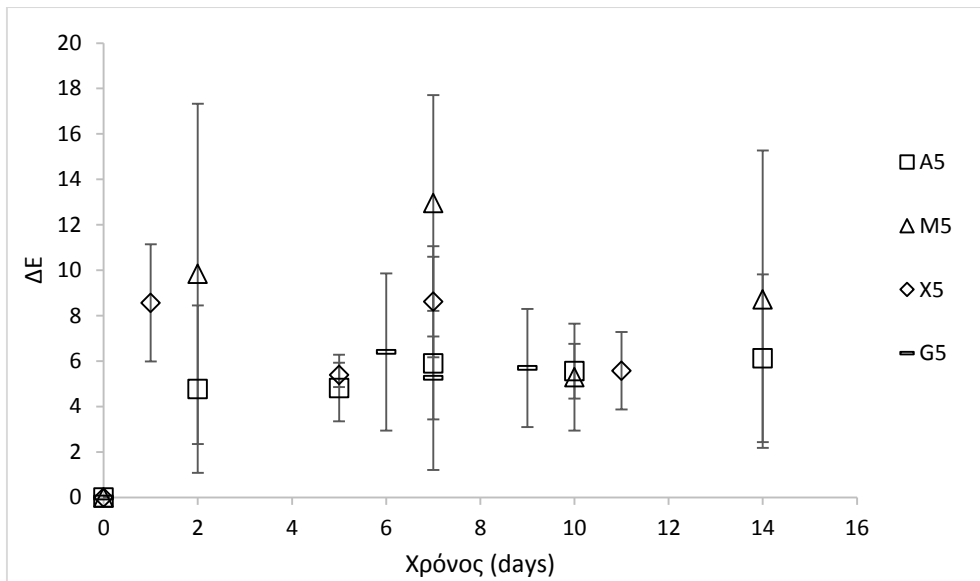
Όπως φαίνεται από τον παραπάνω πίνακα ο εκθετικός ρυθμός ανάπτυξης k_{ref} αυξάνεται με τη σειρά: $M < X < G < A$. Επίσης η μεγαλύτερη ενέργεια ενεργοποίησης E_a παρουσιάζεται στα δείγματα X με αποτέλεσμα η μεταβολή του ρυθμού να επηρεάζεται αρκετά από τις θερμοκρασιακές μεταβολές.

8.2 Χρώμα των δειγμάτων

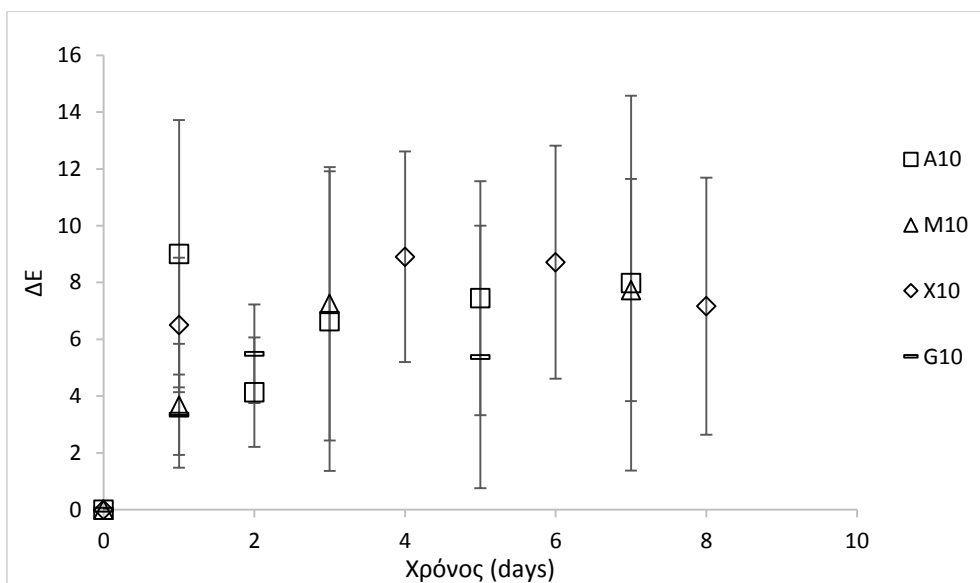
Στα παρακάτω διαγράμματα (Σχήματα 8.29 – 8.34) παρουσιάζεται η συνολική μεταβολή οπτικής απόκρισης (ΔE) και της φωτεινότητας (L) των δειγμάτων A, M, X, G συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσης, σε θερμοκρασίες αποθήκευσης 0, 5 και 10 °C.



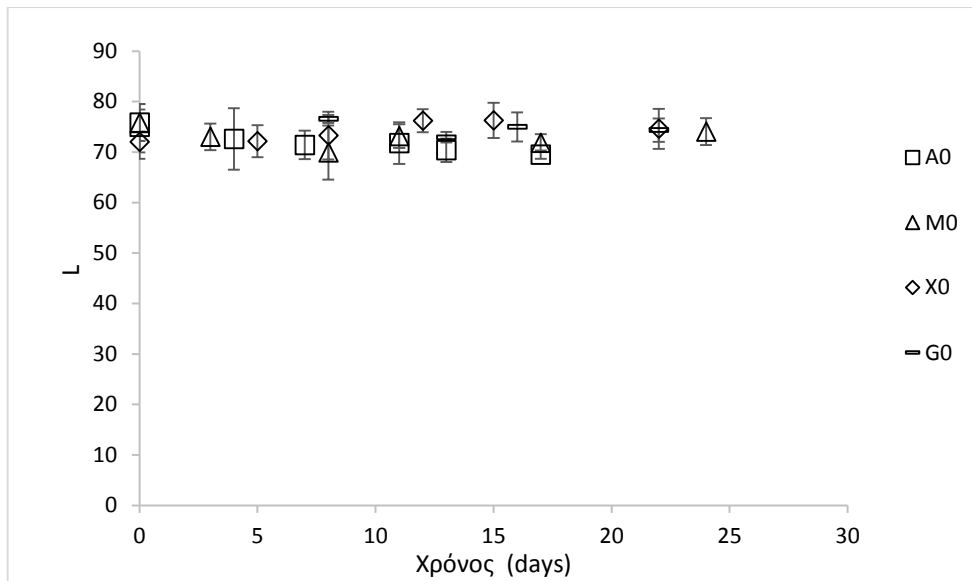
Σχήμα 8.29: Συνολική μεταβολή οπτικής απόκρισης (ΔE) των δειγμάτων A, M, X, G συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσης στους 0 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) $42,7 \pm 1,5\%$ O_2 , $18,5 \pm 0,5\%$ CO_2 και $38,8 \pm 0,7\%$ N_2 , X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))



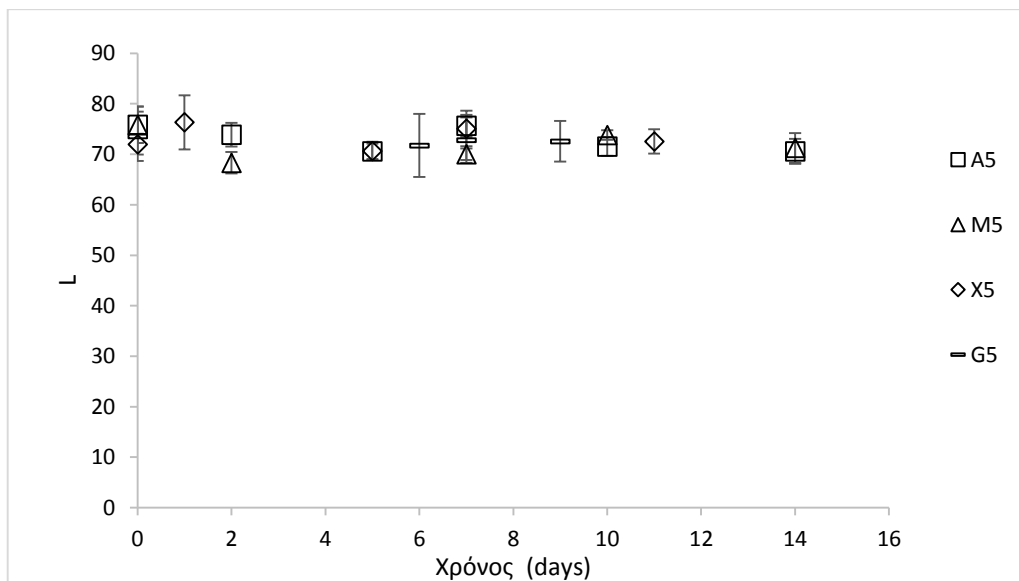
Σχήμα 8.30: Συνολική μεταβολή οπτικής απόκρισης (ΔE) των δειγμάτων A, M, X, G συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσης στους 5 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))



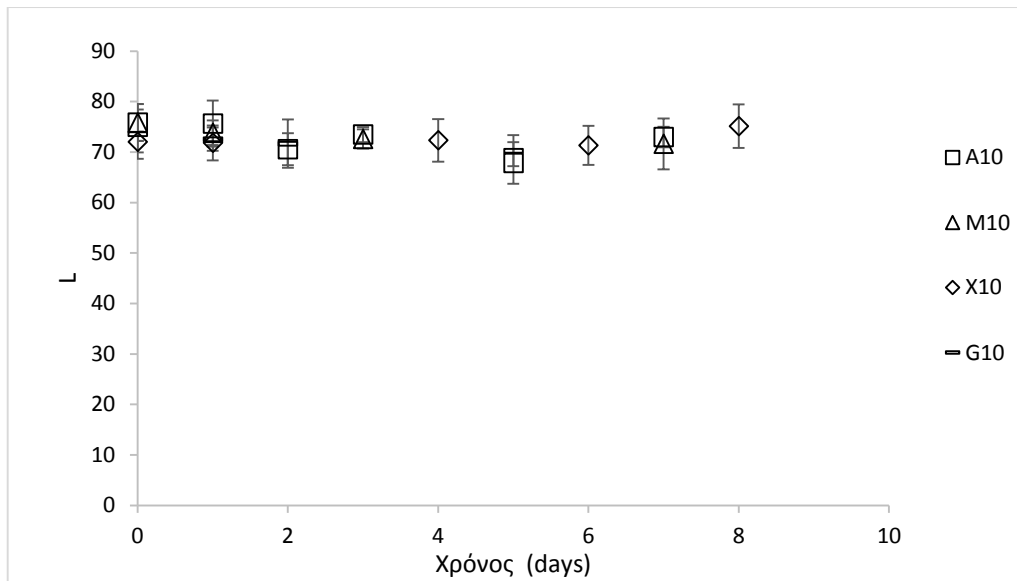
Σχήμα 8.31: Συνολική μεταβολή οπτικής απόκρισης (ΔE) των δειγμάτων A, M, X, G συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσης στους 10 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))



Σχήμα 8.32: Η φωτεινότητα (L) του χρώματος των δειγμάτων A, M, X, G συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσης στους 0 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))



Σχήμα 8.33: Η φωτεινότητα (L) του χρώματος των δειγμάτων A, M, X, G συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσης στους 5 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))



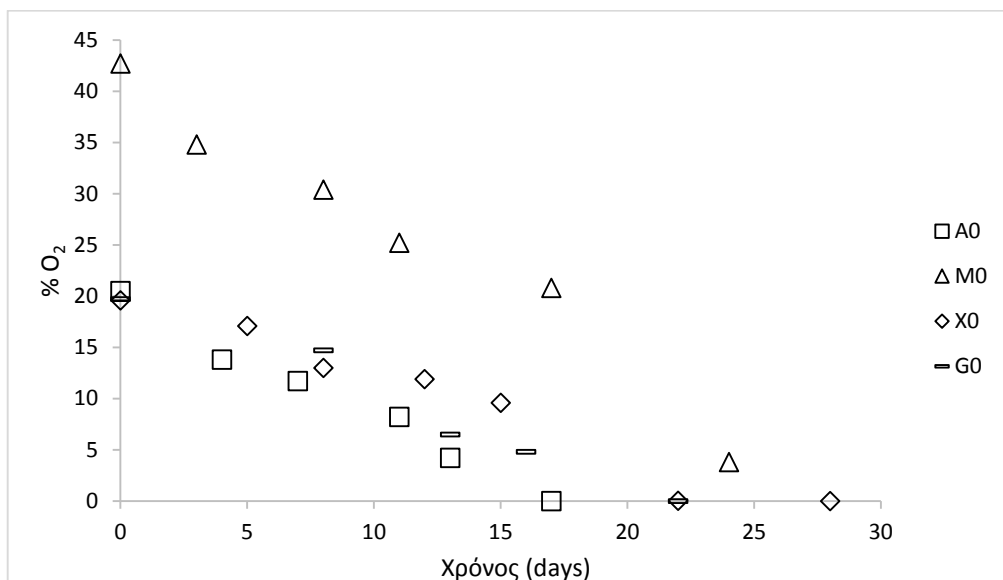
Σχήμα 8.34: Η φωτεινότητα (L) του χρώματος των δειγμάτων A, M, X, G συναρτήσεως του χρόνου αποθήκευσης στους 10 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Από τα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι δεν υπάρχει κάποια συγκεκριμένη τάση στη μεταβολή του χρώματος και της φωτεινότητας των δειγμάτων A, M, X, G σε κάθε θερμοκρασία. Ταυτόχρονα, δεν φαίνεται να επιδρά η θερμοκρασία και το είδος των δειγμάτων όσον αφορά στην συσκευασία/επεξεργασία στη μεταβολή του χρώματος και της φωτεινότητας σε σχέση με το δείγμα αναφοράς A ($p > 0,05$). Εντούτοις, στους 0 °C, τα δείγματα M, X, G εμφανίζουν χαμηλότερες μεταβολές οπτικής απόκρισης ΔΕ σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς A. Τέλος, λόγω των σημαντικών πειραματικών σφαλμάτων (stdev), που προκύπτουν κατά τη μέτρηση του χρώματος ή οφείλονται στο γεγονός ότι τα δείγματα δεν είναι ακριβώς όμοια μεταξύ τους, αλλά ούτε και η επιφάνειά τους ομοιόμορφη σε όλη την έκτασή της, δεν είναι δυνατή η ασφαλής εξαγωγή περισσότερων συμπερασμάτων.

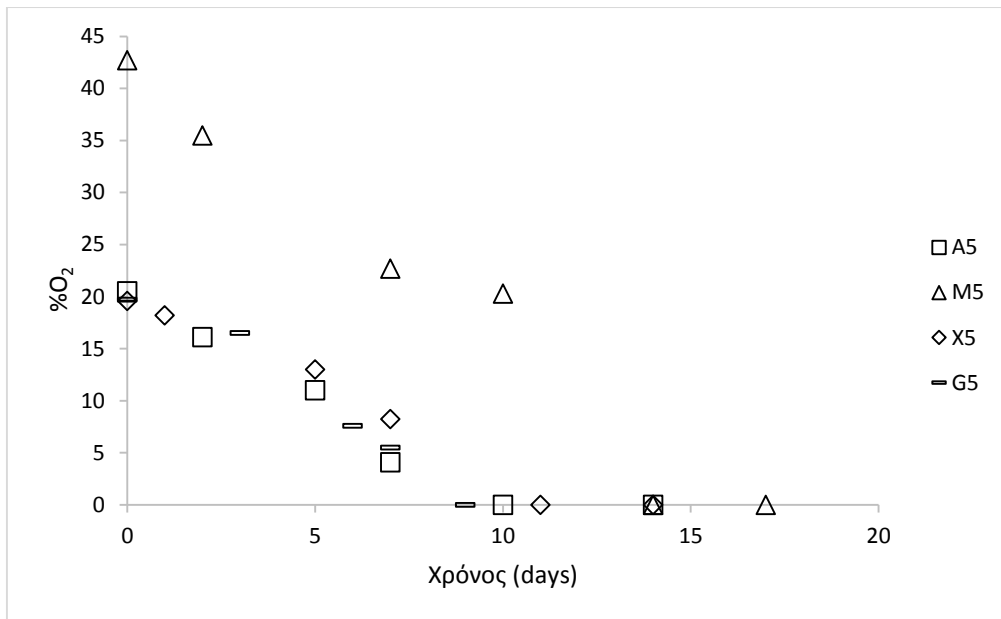
8.3 Σύσταση αερίων των δειγμάτων

Η σύσταση της ατμόσφαιρας της συσκευασίας των τροφίμων μεταβάλλεται με την πάροδο του χρόνου εξαιτίας της παρουσίας των μικροοργανισμών. Οι αερόβιοι μικροοργανισμοί για την ανάπτυξή τους καταναλώνουν O₂ και μαζί με τους αναερόβιους παράγουν CO₂ σαν παραπροϊόν του μεταβολισμού τους. Όμως, δεν είναι πάντα δυνατό να γίνει ακριβής συσχέτιση της μείωσης του O₂ με την ανάπτυξη των αερόβιων μικροοργανισμών λόγω ότι στα τρόφιμα η ανάπτυξη των μικροοργανισμών εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Έτσι, πριν από την δειγματοληψία γίνεται μέτρηση με τον αναλυτή αερίων της % σύστασης των αερίων O₂ και CO₂ στις συσκευασίες των δειγμάτων για να διαπιστωθεί η μεταβολή τους κατά την διάρκεια της αποθήκευσής τους σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Υπενθυμίζεται ότι τα

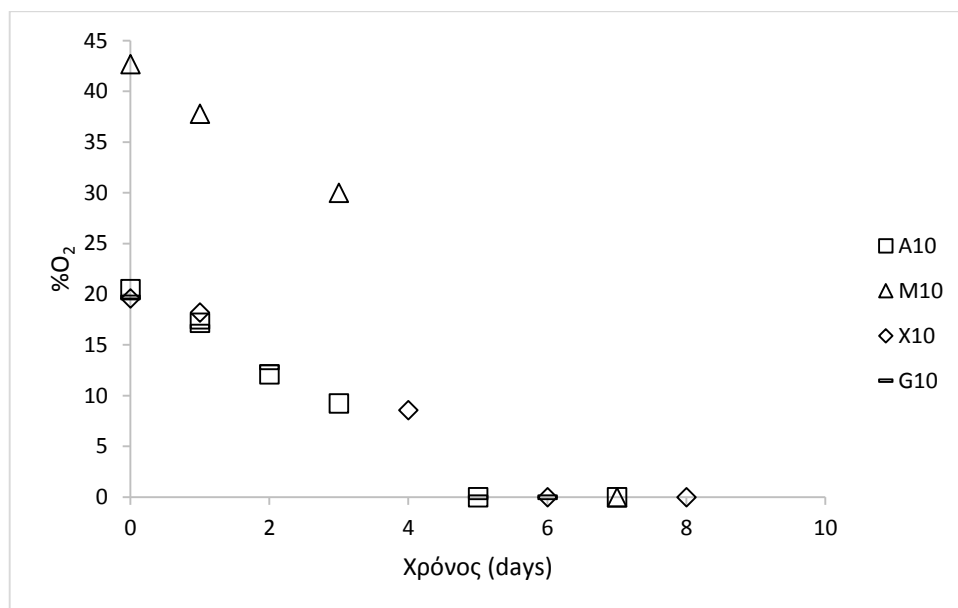
δείγματα M είναι συσκευασμένα σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα σύστασης $42,7\pm 1,5\%$ O_2 , $18,5\pm 0,5\%$ CO_2 και $38,8\pm 0,7\%$ N_2 ενώ τα υπόλοιπα είναι συσκευασμένα σε αερόβιες συνθήκες. Στα παρακάτω διαγράμματα (Σχήματα 8.35 – 8.40) παρουσιάζεται η % περιεκτικότητα σε O_2 και CO_2 σε σχέση με τους χρόνους συντήρησης των δειγμάτων κοτόπουλου στις θερμοκρασίες 0, 5, 10 °C.



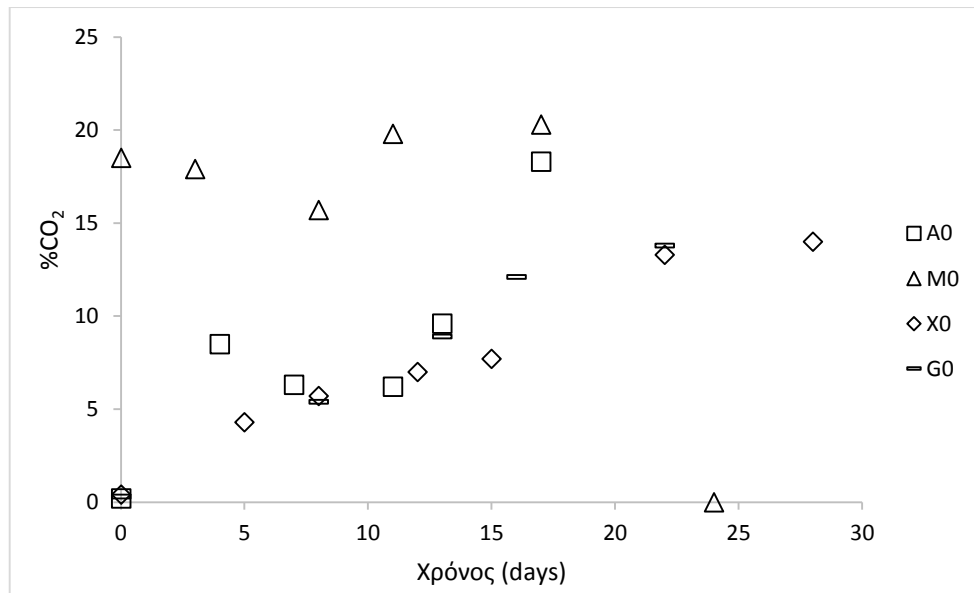
Σχήμα 8.35: % περιεκτικότητα σε O_2 κατά την διάρκεια συντήρησης των δειγμάτων A, M, X, G στους 0 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) $42,7\pm 1,5\%$ O_2 , $18,5\pm 0,5\%$ CO_2 και $38,8\pm 0,7\%$ N_2 , X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))



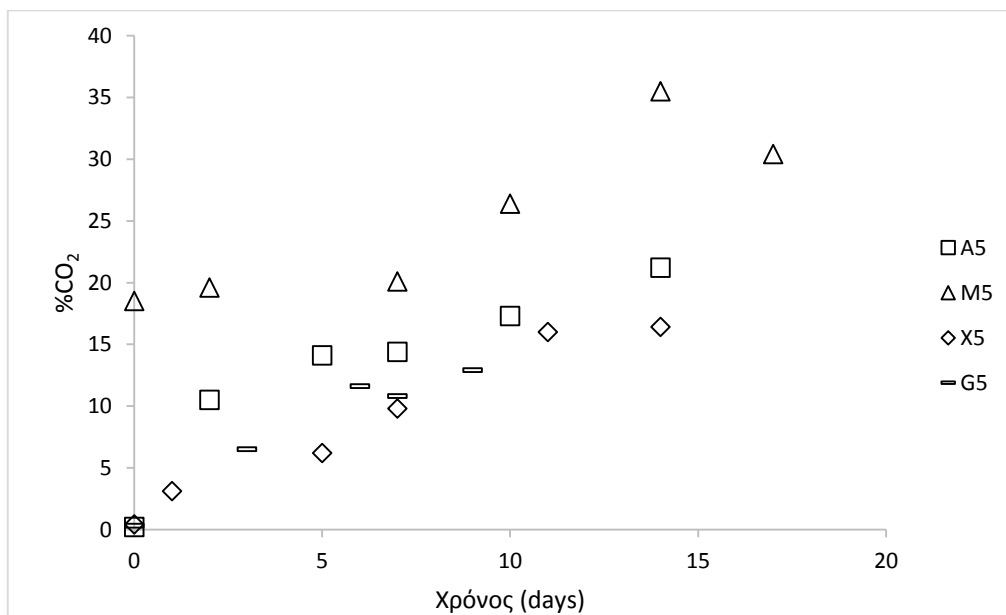
Σχήμα 8.36: % περιεκτικότητα σε O₂ κατά την διάρκεια συντήρησης των δειγμάτων A, M, X, G στους 5 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))



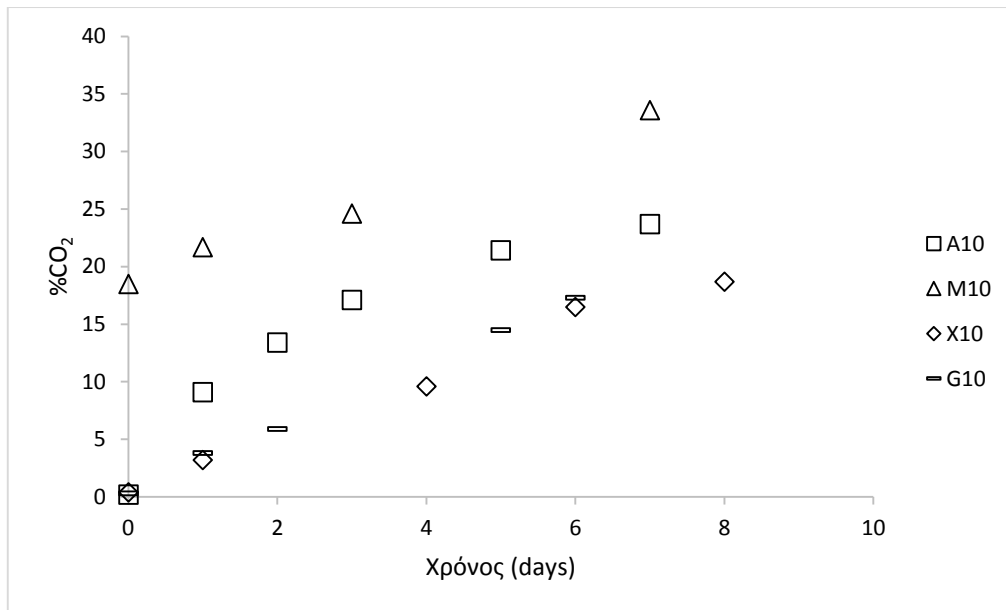
Σχήμα 8.37: % περιεκτικότητα σε O₂ κατά την διάρκεια συντήρησης των δειγμάτων A, M, X, G στους 10 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))



Σχήμα 8.38: % περιεκτικότητα σε CO₂ κατά την διάρκεια συντήρησης των δειγμάτων A, M, X, G στους 0 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))



Σχήμα 8.39: % περιεκτικότητα σε CO₂ κατά την διάρκεια συντήρησης των δειγμάτων A, M, X, G στους 5 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

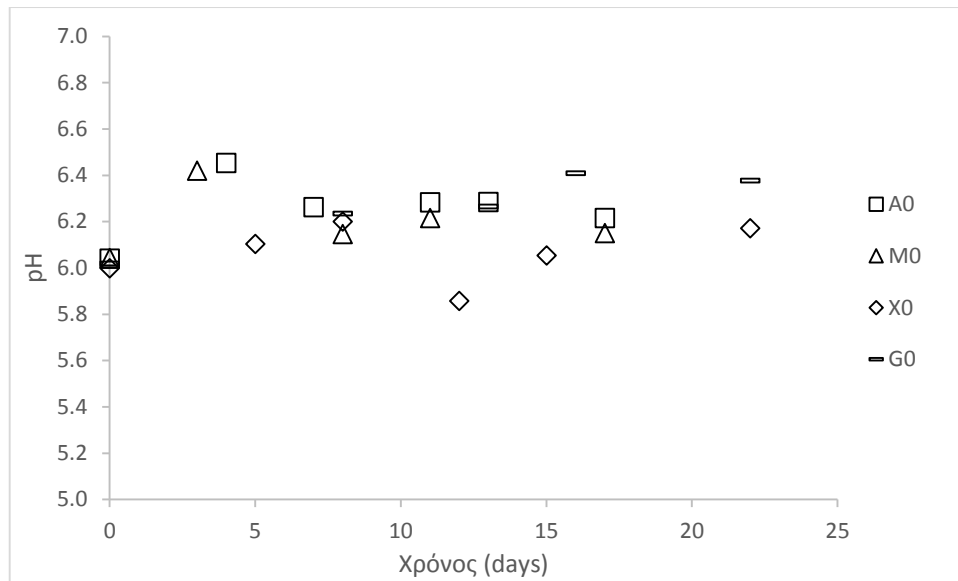


Σχήμα 8.40: % περιεκτικότητα σε CO₂ κατά την διάρκεια συντήρησης των δειγμάτων A, M, X, G στους 10 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

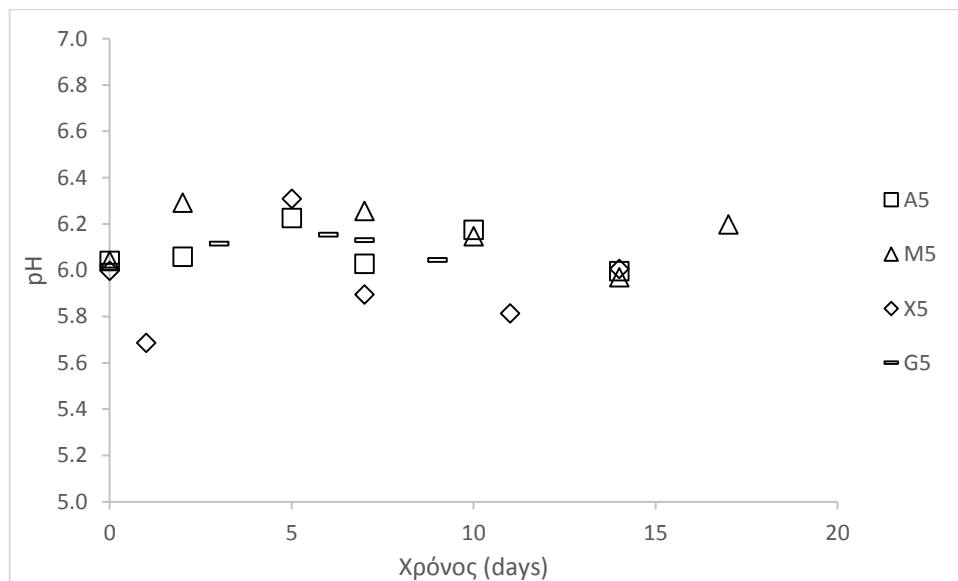
Όσον αφορά στο O₂ παρατηρείται σταδιακή μείωση σε όλα τα δείγματα και σε όλες τις θερμοκρασίες. Με την πάροδο του χρόνου οι αερόβιοι μικροοργανισμοί καταναλώνουν το διαθέσιμο O₂ για να αναπτυχθούν με αποτέλεσμα κάποια στιγμή να μηδενιστεί. Όπως φαίνεται από τα διαγράμματα (Σχήματα 8.35 έως 8.37) το O₂ μηδενίζεται αργότερα σε σχέση με το δείγμα αναφοράς A για τα δείγματα M, X, G στους 0 °C και για τα δείγματα M, X για τα δείγματα στους 5 °C. Όμως στους 10 °C δεν παρατηρείται σημαντική καθυστέρηση στο μηδενισμό του O₂ σε σχέση με το δείγμα αναφοράς A. Αντίθετα, κατά την διάρκεια της αποθήκευσης παρατηρείται για όλα τα δείγματα σε όλες τις θερμοκρασίες αύξηση του CO₂ λόγω της παραγωγής του από τους μικροοργανισμούς κατά τον μεταβολισμό τους (Σχήματα 8-38 έως 8-40).

8.4 Μέτρηση pH

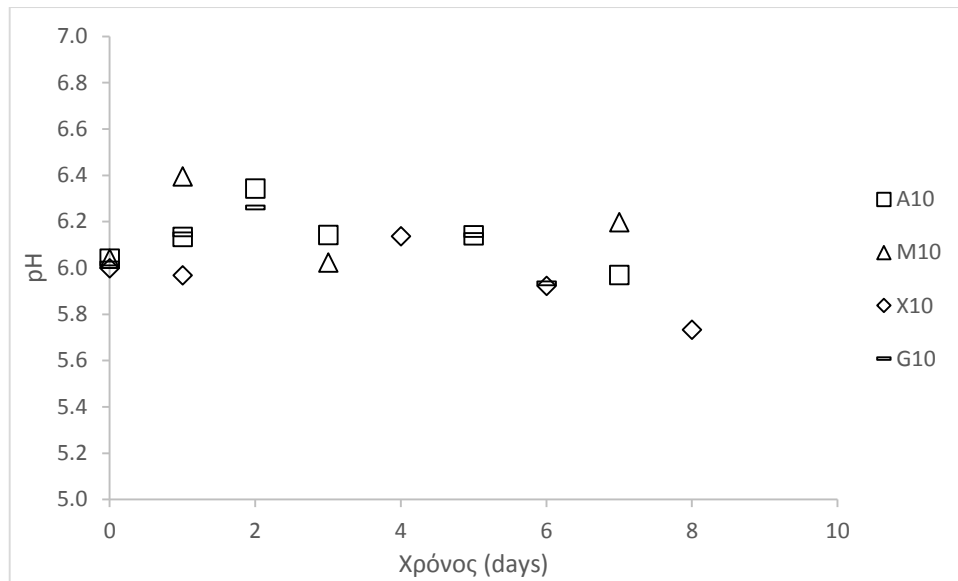
Το pH συνδέεται άμεσα με την ανάπτυξη μικροοργανισμών λόγω των μεταβολικών ουσιών που παράγονται κατά την ανάπτυξή τους. Συγκεκριμένα οι ψευδομονάδες παράγουν κυρίως βασικά προϊόντα (διάφορα αμινοξέα) που οδηγούν σε αύξηση του pH, ενώ τα γαλακτικά βακτήρια παράγουν κυρίως γαλακτικό οξύ οδηγώντας σε ελάττωση του pH του δείγματος κατά την εξέλιξη της ανάπτυξής τους (Jay, 2005). Στα επόμενα διαγράμματα (Σχήματα 8.41 – 8.43) παρουσιάζεται η μεταβολή του pH όλων των σειρών δειγμάτων σε συνάρτηση με το χρόνο για τις θερμοκρασίες 0, 5, 10 °C.



Σχήμα 8.41: Μεταβολή του pH με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης στους 0 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))



Σχήμα 8.42: Μεταβολή του pH με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης στους 5 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))



Σχήμα 8.43: Μεταβολή του pH με την πάροδο του χρόνου αποθήκευσης στους 10 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Με βάση τα παραπάνω, συμπεραίνεται ότι δεν υπάρχει σαφής τάση στη μεταβολή του pH για όλα τα δείγματα σε όλες τις θερμοκρασίες. Εντούτοις, όσον αφορά στα δείγματα A σε όλες τις θερμοκρασίες παρατηρείται μια αύξηση του pH τις πρώτες ημέρες και στη συνέχεια επέρχεται σταδιακή μείωση και εξισορρόπηση του pH. Το ίδιο φαινόμενο παρουσιάζεται και στα δείγματα M που συσκευάστηκαν σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα σε όλες τις θερμοκρασίες καθώς και στα δείγματα G στις θερμοκρασίες 5, 10 °C. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι οι αερόβιοι μικροοργανισμοί που είναι και οι επικρατέστεροι (ψευδομονάδες) αυξάνουν το pH παράγοντας αλκαλικά μεταβολικά προϊόντα και ιδιαίτερα τις πρώτες ημέρες που η συγκέντρωση του O₂ είναι υψηλή.

8.5 Οργανοληπτικός έλεγχος των δειγμάτων

Τα επιμέρους οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων κοτόπουλου μελετήθηκαν με εφαρμογή οργανοληπτικών δοκιμών, όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 7 “Υλικά και μέθοδοι”. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν δίδονται αναλυτικά στα παρακάτω διαγράμματα. Ως κρίσιμη βαθμολογία τέθηκε η τιμή 5 εκτός από την σκληρότητα.

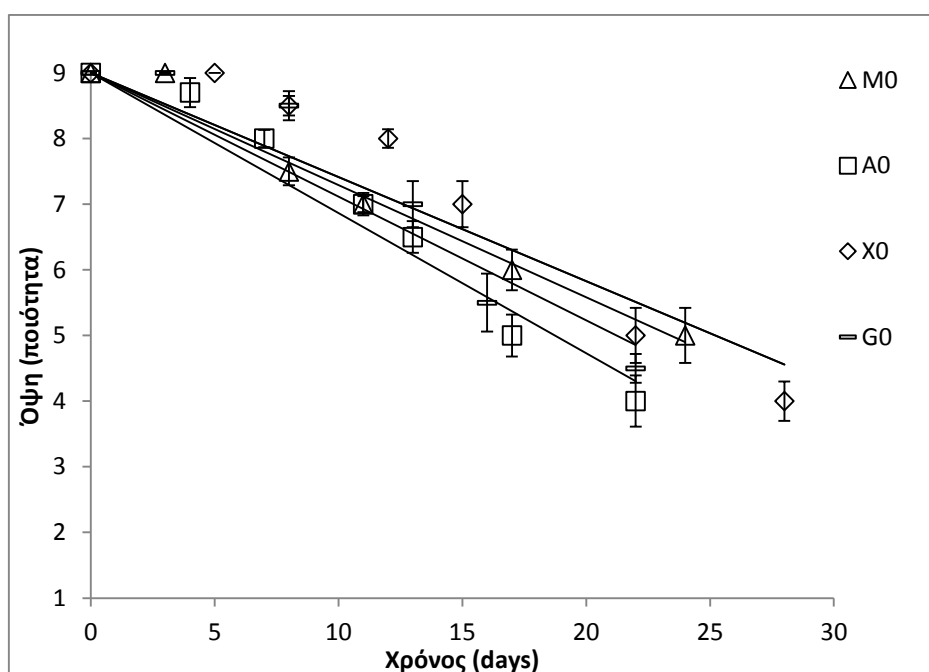
Η μεταβολή των οργανοληπτικών παραμέτρων των δειγμάτων με τον χρόνο διατήρησης, περιγράφεται ικανοποιητικά με κινητική μηδενικής τάξης σύμφωνα με την εξίσωση:

$$s = -k t + s_0$$

όπου k είναι η σταθερά ρυθμού μείωσης της τιμής της βαθμολόγησης για την εκάστοτε παράμετρο, s_0 και s είναι οι τιμές της βαθμολόγησης της μελετώμενης οργανοληπτικής παραμέτρου αρχικά ($s_0 = 9$) και σε χρόνο t , αντίστοιχα. Ταυτόχρονα, πραγματοποιείται στατιστική επεξεργασία με σκοπό να φανεί η επίδραση της θερμοκρασίας και της μεθόδου επεξεργασίας/συσκευασίας στις οργανοληπτικές ιδιότητες των δειγμάτων.

8.5.1 Όψη νωπού (μη μαγειρεμένου) προϊόντος

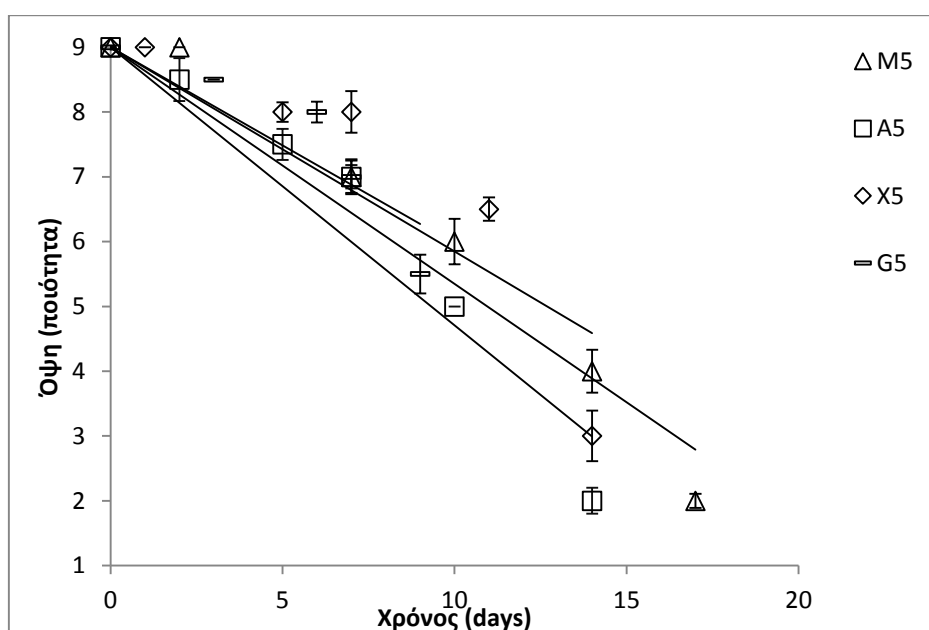
Η όψη/εμφάνιση του νωπού μη μαγειρεμένου τροφίμου είναι το πρώτο από τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, το οποίο οι δοκιμαστές αντιλαμβάνονται και κρίνουν για το αν το τρόφιμο είναι αλλοιωμένο. Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα για την ποιότητα της όψης όλων των δειγμάτων κοτόπουλου (A, M, X, G) , σε όλες τις θερμοκρασίες αποθήκευσης (Σχήματα 8.44 - 8.46) καθώς και οι αντίστοιχοι πίνακες που παρουσιάζουν τους ρυθμούς μείωσης της βαθμολογίας της ποιότητας της όψης (Πίνακες 8.17 – 8.19).



Σχήμα 8.44: Βαθμολογία της ποιότητας της όψης των νωπών δειγμάτων (A, M, X, G) σε κλίμακα (1-9) κατά την οργανοληπτική δοκιμή, σε συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσης στη θερμοκρασία 0 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) $42,7 \pm 1,5\%$ O₂, $18,5 \pm 0,5\%$ CO₂ και $38,8 \pm 0,7\%$ N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.17: Σταθερές ρυθμού υποβάθμισης της βαθμολόγησης της ποιότητας της όψης των νωπών δειγμάτων (A, M, X, G) στους 0 °C

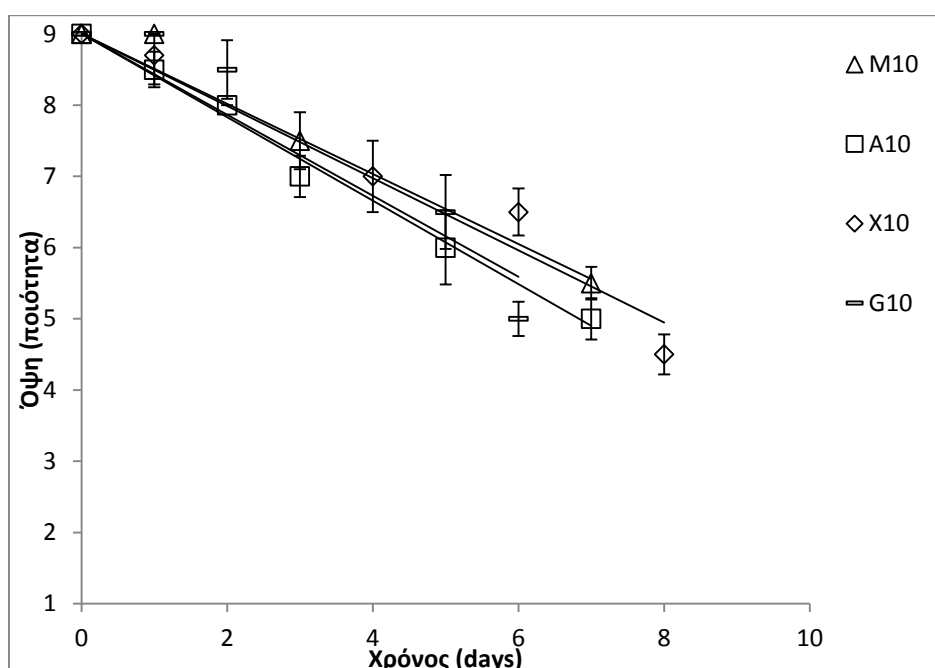
Δείγμα	Σταθερά ρυθμού μείωσης k (d ⁻¹) της ποιότητας της όψης	R ²
A	0,2134	0,9535
M	0,1709	0,9756
X	0,1587	0,8850
G	0,1834	0,8967



Σχήμα 8.45: Βαθμολογία της ποιότητας της όψης των νωπών δειγμάτων (A, M, X, G) σε κλίμακα (1-9) κατά την οργανοληπτική δοκιμή, σε συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσης στη θερμοκρασία 5 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.18: Σταθερές ρυθμού υποβάθμισης της βαθμολόγησης της ποιότητας της όψης των νωπών δειγμάτων (A, M, X, G) στους 5 °C

Δείγμα	Σταθερά ρυθμού μείωσης k (d ⁻¹) της ποιότητας της όψης	R ²
A	0,4291	0,9229
M	0,3652	0,9509
X	0,3151	0,7936
G	0,3029	0,8119



Σχήμα 8.46: Βαθμολογία της ποιότητας της όψης των νωπών δειγμάτων (A, M, X, G) σε κλίμακα (1-9) κατά την οργανοληπτική δοκιμή, σε συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσης στη θερμοκρασία 10 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

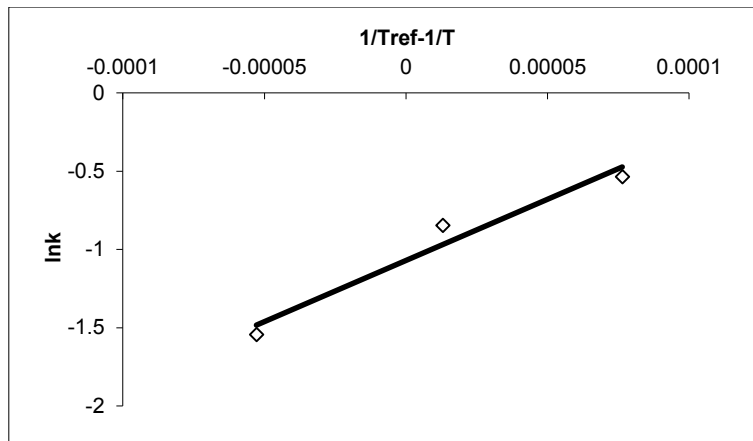
Πίνακας 8.19: Σταθερές ρυθμού υποβάθμισης της βαθμολόγησης της ποιότητας όψης των νωπών δειγμάτων (A, M, X, G) στους 10 °C

Δείγμα	Σταθερά ρυθμού μείωσης k (d ⁻¹) της ποιότητας της όψης	R ²
A	0,5852	0,9907
M	0,4915	0,9702
X	0,5068	0,9598
G	0,5682	0,9060

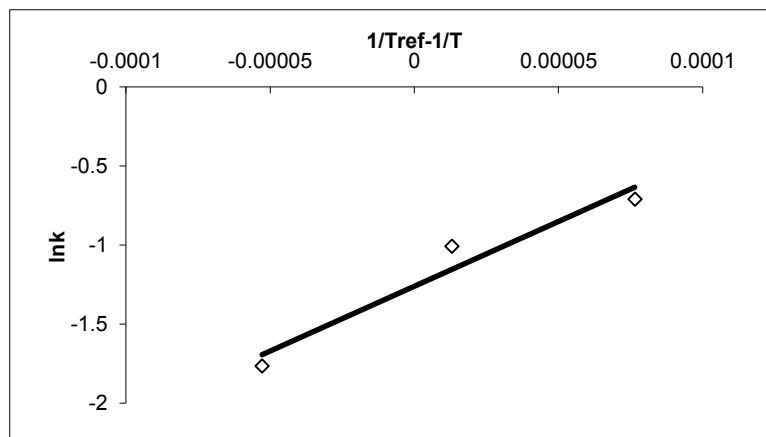
Με βάση τα παραπάνω διαπιστώνεται ότι οι ρυθμοί μείωσης της ποιότητας της όψης είναι οι μεγαλύτεροι για τα δείγματα αναφοράς A σε σχέση με τα υπόλοιπα για όλες τις θερμοκρασίες. Αντίθετα, τα δείγματα M (MAP) παρουσιάζουν τον μικρότερο ρυθμό μείωσης για τη θερμοκρασία των 0 °C και 10 °C. Επίσης, στους 5 °C τους μικρότερους ρυθμούς μείωσης εμφανίζουν τα δείγματα X (πηκτίνη – citrox) και G (πηκτίνη – γλυκονο-δ- λακτόνη). Όμως, με βάση τη στατιστική επεξεργασία δεν παρατηρείται σημαντική επίδραση της συσκευασίας ($p > 0,05$) στο ρυθμό υποβάθμισης της όψης. Τέλος, παρατηρείται ότι με την αύξηση της θερμοκρασίας αυξάνονται οι ρυθμοί μείωσης της ποιότητας της όψης σε όλες τις σειρές δειγμάτων με την θερμοκρασία να επιδρά σημαντικά ($p < 0,05$) στο ρυθμό υποβάθμισης.

8.5.2 Μοντέλο Arrhenius για την όψη

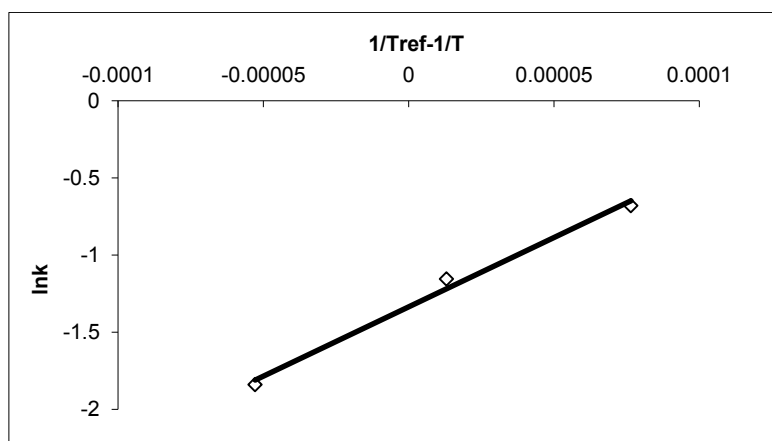
Με τον ίδιο τρόπο που εφαρμόστηκε παραπάνω για τους μικροοργανισμούς, βρίσκονται τα k_{ref} και E_a με την χρήση των ρυθμών k και του μοντέλου Arrhenius. Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα που προκύπτουν από την εξίσωση Arrhenius (εξ. 8.1) που δείχνουν την εξάρτηση του ρυθμού μείωσης της ποιότητας της όψης από την θερμοκρασία και για τις τέσσερις σειρές δειγμάτων (Σχήματα 8.47 - 8.50) καθώς και ο πίνακας (πίνακας 8.20) με τις τιμές k_{ref} και E_a .



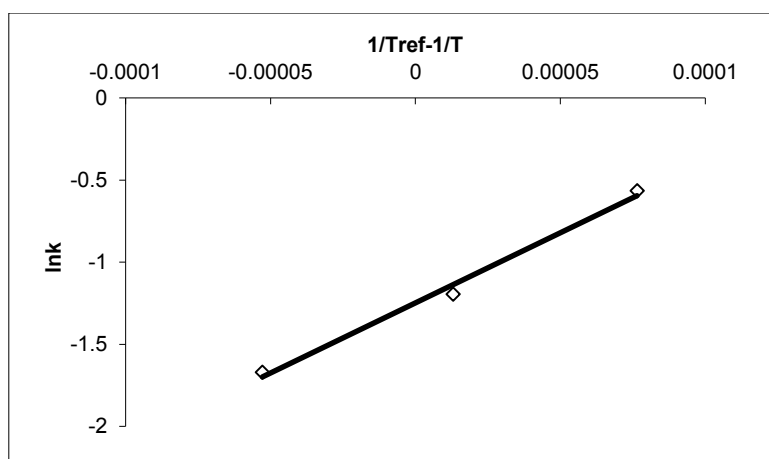
Σχήμα 8.47: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού μείωσης της ποιότητας της όψης των δειγμάτων A ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)



Σχήμα 8.48: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού μείωσης της ποιότητας της όψης των δειγμάτων M ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)



Σχήμα 8.49: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού μείωσης της ποιότητας της όψης των δειγμάτων X ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)



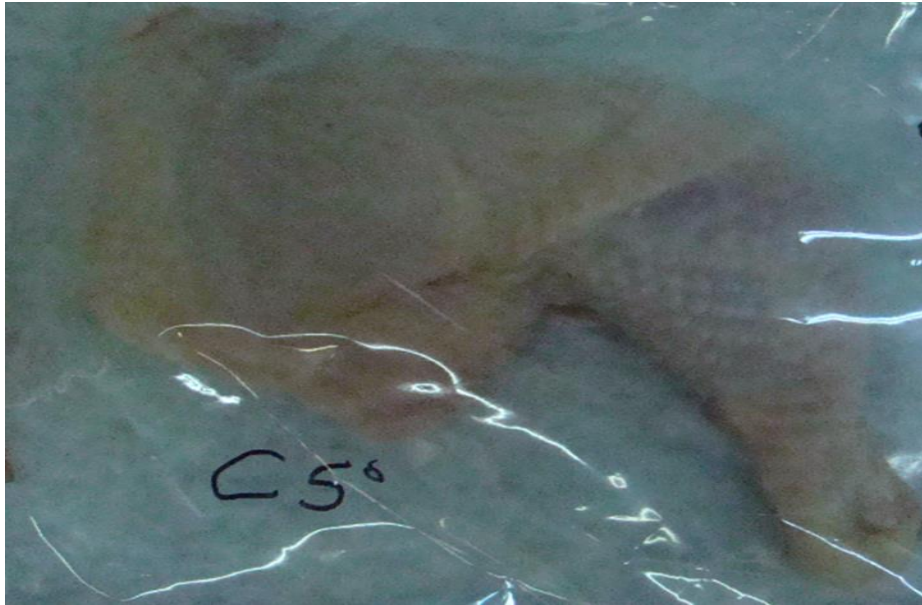
Σχήμα 8.50: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού μείωσης της ποιότητας της όψης των δειγμάτων G ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)

Πίνακας 8.20: Σταθερές ρυθμού μείωσης k_{ref} και ενέργειες ενεργοποίησης E_a των δειγμάτων (A, M, X, G) για την ποιότητα της όψης

Δείγμα	k_{ref} (d^{-1})	E_a (kJ/mol)	R^2
A	0,3427	65,0	0,9572
M	0,2833	68,1	0,9448
X	0,2632	74,7	0,9912
G	0,2874	70,9	0,9918

Συμπεραίνεται ότι τα δείγματα A παρουσιάζουν τον μεγαλύτερο ρυθμό k_{ref} μείωσης της ποιότητας της όψης σε σχέση με τα υπόλοιπα δείγματα. Αντίθετα ο μικρότερος ρυθμός μείωσης εμφανίζεται στα δείγματα X (πηκτίνη – citrox). Ταυτόχρονα, τα δείγματα X παρουσιάζουν την μεγαλύτερη ενέργεια ενεργοποίησης E_a με αποτέλεσμα οι μεταβολές της θερμοκρασίας να μεταβάλουν σημαντικά τον ρυθμό μείωσης της ποιότητας της όψης.

Στις παρακάτω εικόνες παρουσιάζονται ενδεικτικές φωτογραφίες (όψη) των δειγμάτων A, M, X, G την 7^η ημέρα σε θερμοκρασία συντήρησης 5°C (εικόνες 8.1-8.4) και 0°C (εικόνες 8.5-8.8).



Εικόνα 8.1: Όψη του δείγματος αναφοράς, A (control) την 7^η ημέρα στους 5 °C



Εικόνα 8.2: Όψη του δείγματος που είναι συσκευασμένο σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, Μ την 7^η ημέρα στους 5 °C



Εικόνα 8.3: Όψη του δείγματος με επικάλυψη πηκτίνης-citrox, X την 7^η ημέρα στους 5 °C



Εικόνα 8.4: Όψη του δείγματος με επικάλυψη πηκτίνης-γλυκονο-δ-λακτόνης, G την 7^η ημέρα στους 5 °C



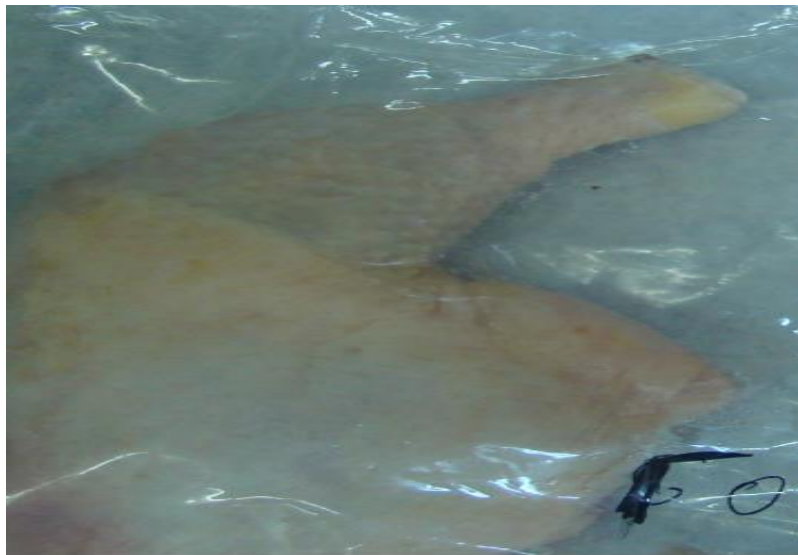
Εικόνα 8.5: Όψη του δείγματος αναφοράς, A (control) την 7^η ημέρα στους 0 °C



Εικόνα 8.6: Όψη του δείγματος που είναι συσκευασμένο σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, M την 7^η ημέρα στους 0 °C



Εικόνα 8.7: Όψη του δείγματος με επικάλυψη πηκτίνης-citrox, X την 7^η ημέρα στους 0 °C



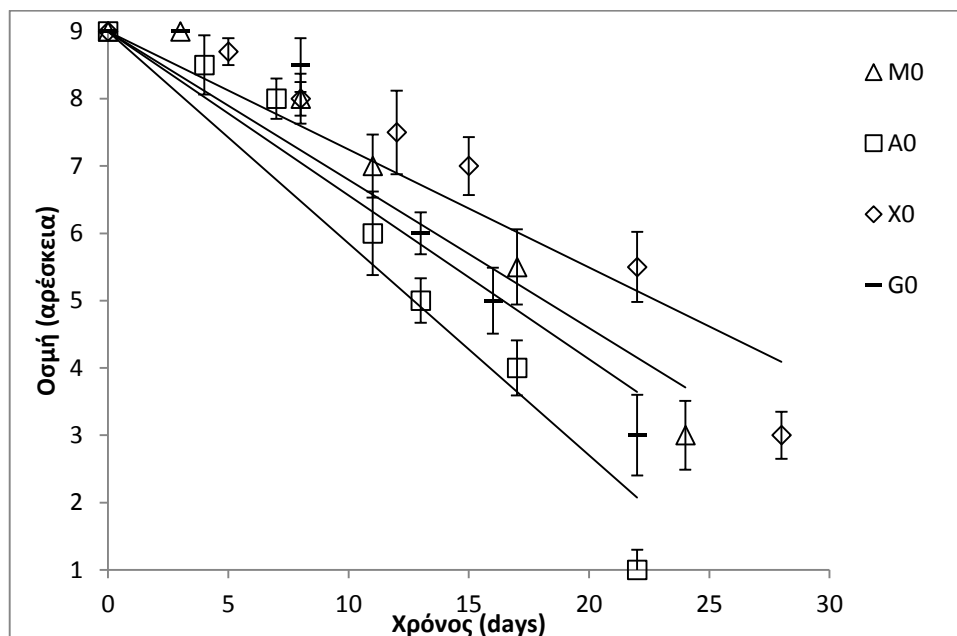
Εικόνα 8.8: Όψη του δείγματος με επικάλυψη πηκτίνης-γλυκονο-δ-λακτόνης, G την 7^η ημέρα στους 0 °C

Σύμφωνα με τις παραπάνω φωτογραφίες, παρόλο που δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές επιδράσεις ($p > 0,05$) του είδους της συσκευασίας των δειγμάτων στην υποβάθμιση της βαθμολόγησης της όψης, παρατηρείται ότι και στις δύο θερμοκρασίες η λιγότερο ποιοτική όψη εμφανίζεται στα δείγματα αναφοράς A (control). Επίσης, επιβεβαιώνεται η σημαντική επίδραση της θερμοκρασίας συντήρησης ($p < 0,05$) στην υποβάθμιση της όψης καθώς όπως φαίνεται τα ποιοτικότερα δείγματα είναι αυτά που έχουν συντηρηθεί στους 0 °C.

8.5.3 Οσμή νωπού (μη μαγειρεμένου) προϊόντος

Η οσμή είναι ίσως εκείνο το οργανοληπτικό χαρακτηριστικό στο οποίο γίνονται αρχικά εμφανείς οι μικροβιολογικές αλλοιώσεις των προϊόντων. Η δυσάρεστη οσμή του μη

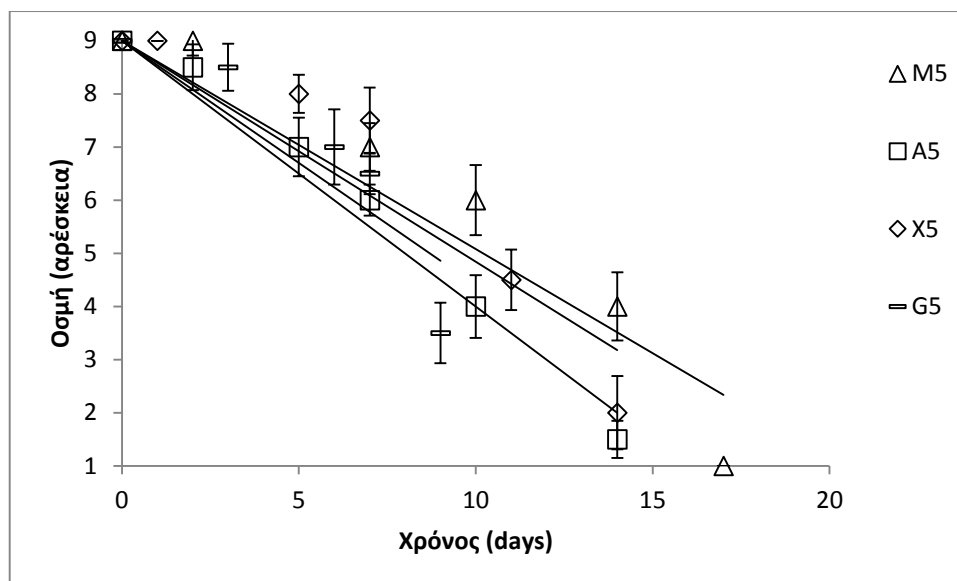
μαγειρεμένου προϊόντος είναι λόγος μη αποδεκτότητας από τους δοκιμαστές. Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα για την οσμή (αρέσκεια) όλων των δειγμάτων κοτόπουλου, σε όλες τις θερμοκρασίες αποθήκευσης (Σχήματα 8.51-8.53) καθώς και οι αντίστοιχοι πίνακες που δείχνουν τους ρυθμούς μείωσης της βαθμολογίας της αρέσκειας της οσμής (Πίνακες 8.21 – 8.23).



Σχήμα 8.51: Βαθμολογία της αρέσκειας της οσμής των νωπών δειγμάτων (A, M, X, G) σε κλίμακα (1-9) κατά την οργανοληπτική δοκιμή, σε συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσης στη θερμοκρασία 0 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.21: Σταθερές ρυθμού μείωσης βαθμολογίας της αρέσκειας της οσμής των νωπών δειγμάτων (A, M, X, G) στους 0 °C

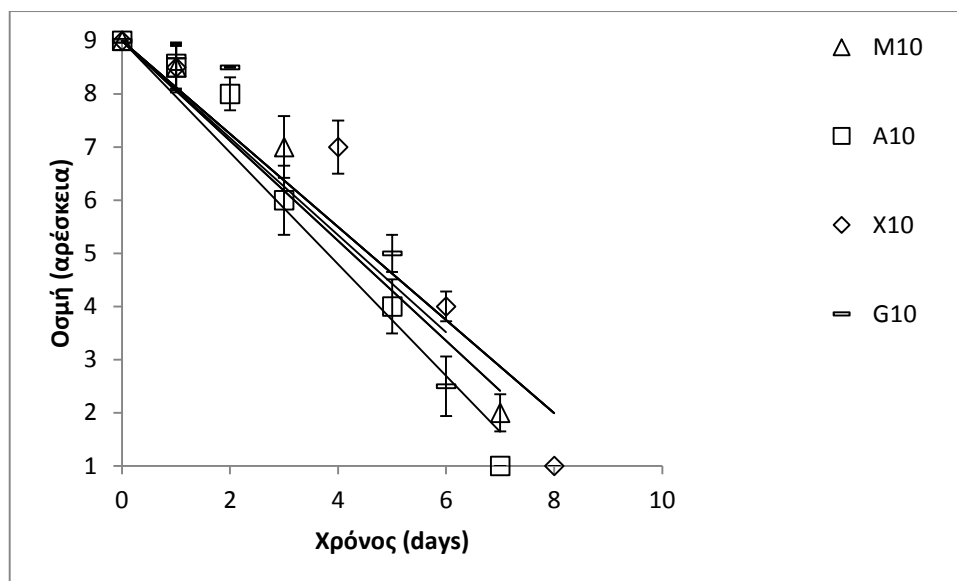
Δείγμα	Σταθερά ρυθμού μείωσης k (d ⁻¹) της αρέσκειας της οσμής	R ²
A	0,3147	0,9284
M	0,2205	0,9351
X	0,1753	0,9024
G	0,2434	0,9002



Σχήμα 8.52: Βαθμολογία της αρέσκειας της οσμής των νωπών δειγμάτων (A, M, X, G) σε κλίμακα (1-9) κατά την οργανοληπτική δοκιμή, σε συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσης στη θερμοκρασία 5 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.22: Σταθερές ρυθμού μείωσης βαθμολογίας της αρέσκειας της οσμής των νωπών δειγμάτων (A, M, X, G) στους 5 °C

Δείγμα	Σταθερά ρυθμού μείωσης k (d ⁻¹) της αρέσκειας της οσμής	R ²
A	0,5000	0,9753
M	0,3918	0,9159
X	0,4158	0,8815
G	0,4600	0,8011



Σχήμα 8.53: Βαθμολογία της αρέσκειας της οσμής των νωπών δειγμάτων (A, M, X, G) σε κλίμακα (1-9) κατά την οργανοληπτική δοκιμή, σε συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσης στη θερμοκρασία 10 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.23: Σταθερές ρυθμού μείωσης βαθμολογίας της αρέσκειας της οσμής των νωπών δειγμάτων (A, M, X, G) στους 10 °C

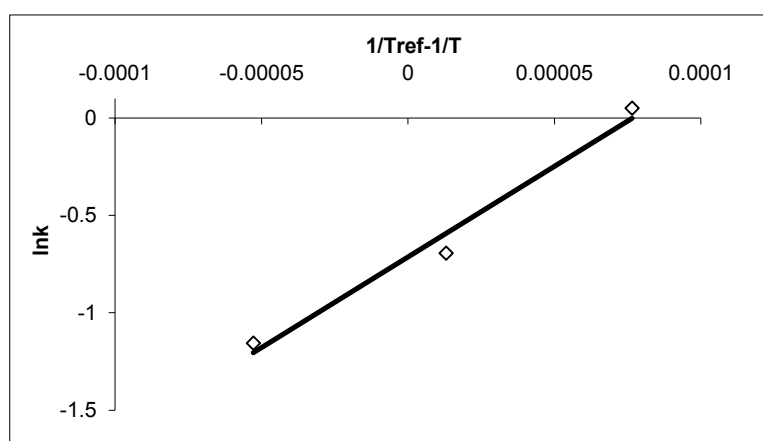
Δείγμα	Σταθερά ρυθμού μείωσης k (d ⁻¹) της αρέσκειας της οσμής	R ²
A	1,0511	0,9581
M	0,9407	0,9660
X	0,8761	0,9236
G	0,9136	0,8942

Με βάση τα παραπάνω, παρατηρείται ότι ο μεγαλύτερος ρυθμός μείωσης της αρέσκειας της οσμής των δειγμάτων κοτόπουλου εμφανίζεται στα δείγματα αναφοράς A σε όλες τις θερμοκρασίες συντήρησης. Από την άλλη πλευρά, στις θερμοκρασίες 0 και 5 °C τα δείγματα X και M παρουσιάζουν τους μικρότερους ρυθμούς μείωσης της αρέσκειας της οσμής. Επίσης, στους 10 °C καλύτερη συμπεριφορά εμφανίζουν τα δείγματα X όπου η αρέσκεια της οσμής μειώνεται με μικρότερο ρυθμό συγκριτικά με τα υπόλοιπα. Ταυτόχρονα, σύμφωνα με τη στατιστική επεξεργασία, η μέθοδος συσκευασίας/επεξεργασίας επιδρά σημαντικά ($p < 0,05$) στο υποβάθμισμα της οσμής. Τέλος, οι ρυθμοί μείωσης της αρέσκειας της οσμής μειώνονται

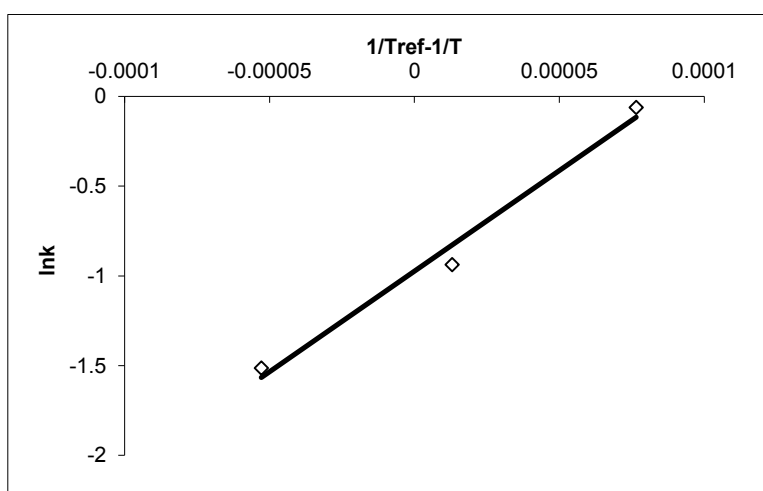
με τη μείωση της θερμοκρασίας, που επιδρά σημαντικά ($p < 0,05$) στην υποβάθμιση της οσμής, για όλες τις κατηγορίες δειγμάτων με τους μικρότερους να παρουσιάζονται στους 0 °C. Τα παραπάνω συμπεράσματα επιβεβαιώνονται και από τους Hasapidou et al. (2011) και Kang et al. (2005) όπου τόσο η συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας όσο και η επικάλυψη πηκτικής- αντιμικροβιακού αντίστοιχα επιδρούν θετικά στον ρυθμό υποβάθμισης της οσμής, σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς.

8.5.4 Μοντέλο Arrhenius για την οσμή

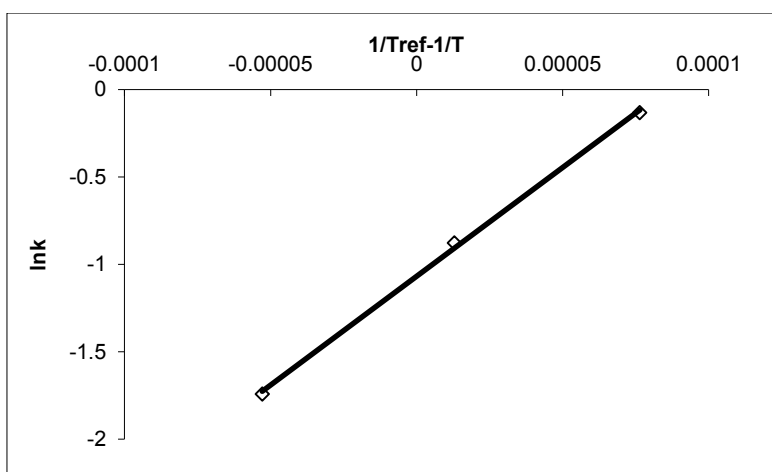
Όμοια, βρίσκονται τα k_{ref} και E_a με την χρήση των ρυθμών k στις θερμοκρασίες 0, 5, 10 °C και του μοντέλου Arrhenius. Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα που προκύπτουν από την εξίσωση Arrhenius (εξ. 8.1) που δείχνουν την εξάρτηση του ρυθμού μείωσης της αρέσκειας της οσμής από την θερμοκρασία και για τις τέσσερις σειρές δειγμάτων (Σχήματα 8.54 - 8.57) καθώς και ο πίνακας (πίνακας 8.24) με τις τιμές k_{ref} και E_a .



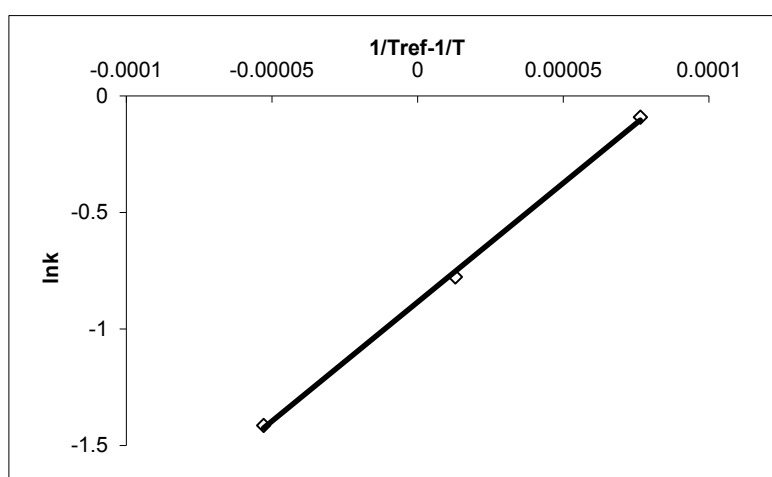
Σχήμα 8.54: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού μείωσης της αρέσκειας της οσμής των δειγμάτων A ($T_{ref} = 4^\circ\text{C}$)



Σχήμα 8.55: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού μείωσης της αρέσκειας της οσμής των δειγμάτων M ($T_{ref} = 4^\circ\text{C}$)



Σχήμα 8.56: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού μείωσης της αρέσκειας της οσμής των δειγμάτων X ($T_{ref}=4^{\circ}C$)



Σχήμα 8.57: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού μείωσης της αρέσκειας της οσμής των δειγμάτων G ($T_{ref}=4^{\circ}C$)

Πίνακας 8.24: Σταθερές ρυθμού μείωσης k_{ref} και ενέργειες ενεργοποίησης E_{α} των δειγμάτων (A, M, X, G) για την αρέσκεια της οσμής

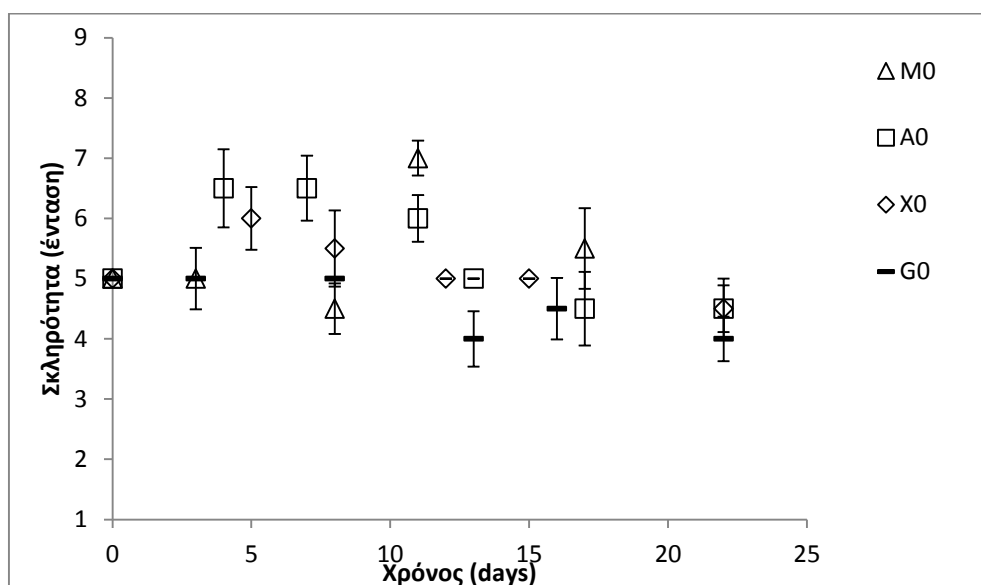
Δείγμα	k_{ref} (d^{-1})	E_{α} (kJ/mol)	R^2
A	0,4900	77,4	0,9795
M	0,3778	93,2	0,9833
X	0,3434	103,5	0,9990
G	0,4128	85,0	0,9990

Από τα παραπάνω δεδομένα, συμπεραίνεται ότι τα δείγματα A εμφανίζουν το μεγαλύτερο ρυθμό μείωσης k_{ref} της αρέσκειας της οσμής καθώς επίσης και τη χαμηλότερη ενέργεια ενεργοποίησης E_{α} . Αντίθετα, τους μικρότερους ρυθμούς παρουσιάζουν τα δείγματα X και M

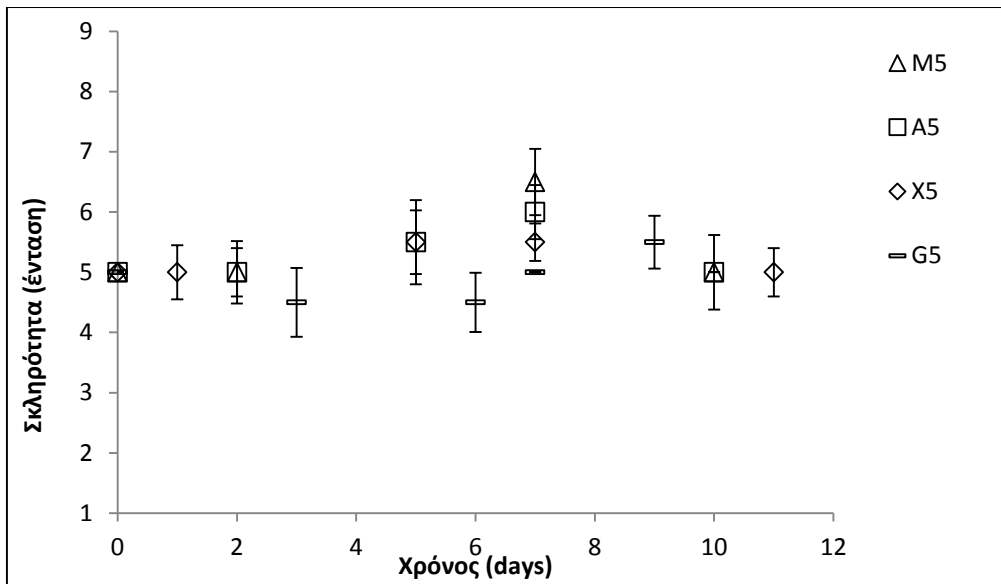
με τα πρώτα να εμφανίζουν την υψηλότερη ενέργεια ενεργοποίησης E_a , εμφανίζοντας έτσι την μεγαλύτερη ευαισθησία στις θερμοκρασιακές μεταβολές όσον αφορά τη μεταβολή του ρυθμού.

8.5.5 Σκληρότητα μαγειρεμένου προϊόντος

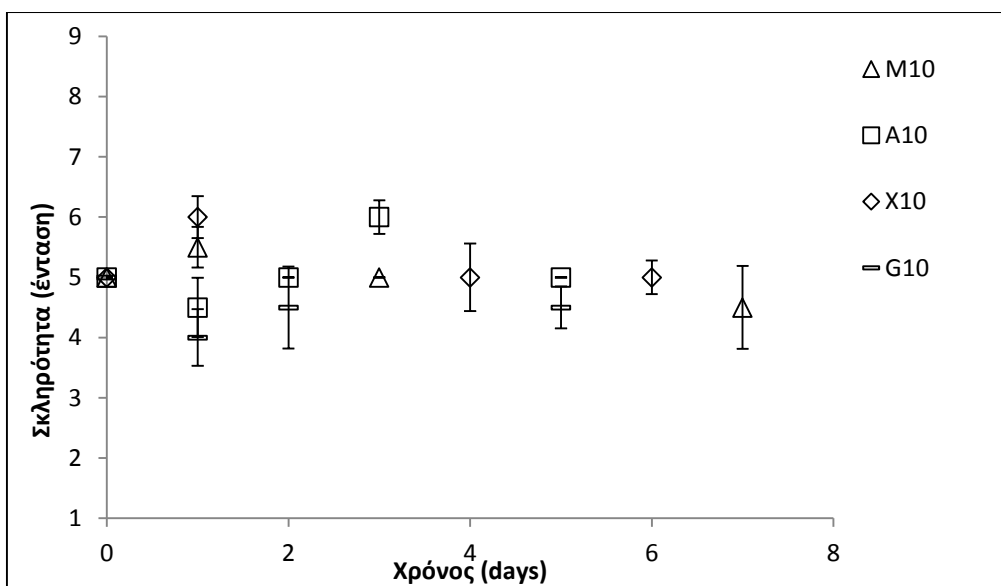
Η σκληρότητα είναι ένα οργανοληπτικό χαρακτηριστικό που γίνεται αντιληπτό αμέσως από τους δοκιμαστές και γενικά είναι ανεπιθύμητο για τα τρόφιμα που είναι αρεστά στους καταναλωτές. Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα διαγράμματα για την σκληρότητα (ένταση) όλων των μαγειρεμένων δειγμάτων κοτόπουλου, σε όλες τις θερμοκρασίες αποθήκευσης (Σχήματα 8.58- 8.60).



Σχήμα 8.58: Βαθμολογία της έντασης της σκληρότητας των μαγειρεμένων δειγμάτων (A, M, X, G) σε κλίμακα (1-9) κατά την οργανοληπτική δοκιμή, σε συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσης στη θερμοκρασία 0 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) $42,7 \pm 1,5\%$ O_2 , $18,5 \pm 0,5\%$ CO_2 και $38,8 \pm 0,7\%$ N_2 , X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))



Σχήμα 8.59: Βαθμολογία της έντασης της σκληρότητας των μαγειρεμένων δειγμάτων (A, M, X, G) σε κλίμακα (1-9) κατά την οργανοληπτική δοκιμή, σε συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσης στη θερμοκρασία 5 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

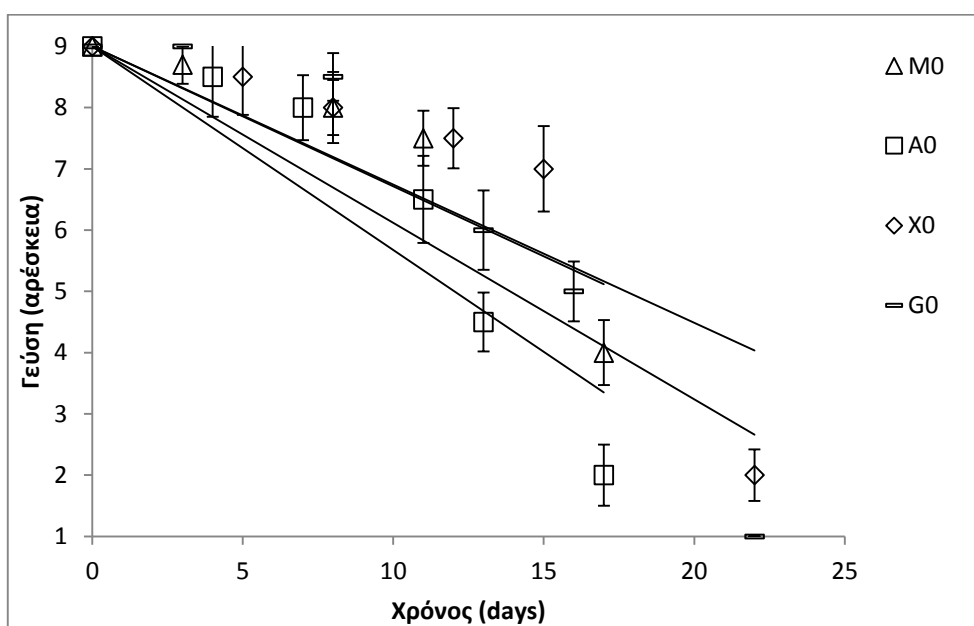


Σχήμα 8.60: Βαθμολογία της έντασης της σκληρότητας των μαγειρεμένων δειγμάτων (A, M, X, G) σε κλίμακα (1-9) κατά την οργανοληπτική δοκιμή, σε συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσης στη θερμοκρασία 10 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Λαμβάνοντας υπ' όψη τα παραπάνω διαγράμματα δεν προκύπτει κάποια τάση για την ένταση της σκληρότητας όλων των δειγμάτων σε κάθε θερμοκρασία. Όμως παρατηρείται ότι σε όλες τις θερμοκρασίες τα δείγματα Χ, G και ιδιαίτερα τα δεύτερα παρουσιάζουν γενικά ελαφρώς μειωμένες τιμές σκληρότητας σε όλες τις θερμοκρασίες σε σχέση με τα δείγματα Α και Μ. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στην παρουσία της εδώδιμης μεμβράνης της πηκτίνης που συνεισφέρει στη συγκράτηση της υγρασίας στη σάρκα κατά τη συντήρηση.

8.5.6 Γεύση μαγειρεμένου προϊόντος

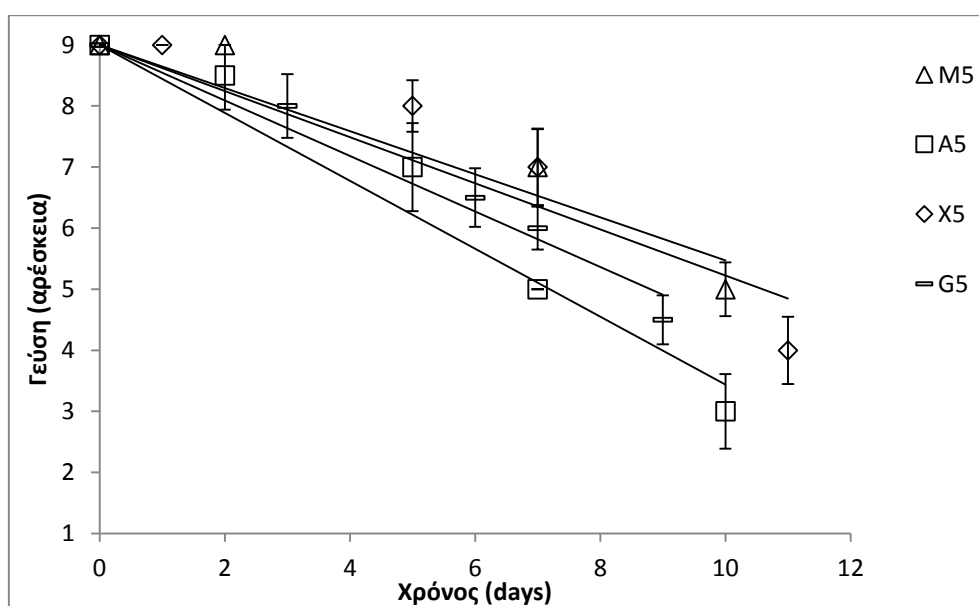
Η γεύση χρησιμοποιείται πολύ συχνά στον έλεγχο της ποιότητας των τροφίμων. Οι πληροφορίες που δίνονται με τη γεύση είναι ταχύτατες και ίσως είναι το πιο σημαντικό οργανοληπτικό χαρακτηριστικό που εξετάζεται όταν το προϊόν είναι μαγειρεμένο. Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα για τη γεύση (αρέσκεια) όλων των δειγμάτων κοτόπουλου, σε όλες τις θερμοκρασίες αποθήκευσης (Σχήματα 8.61-8.63) καθώς και οι αντίστοιχοι πίνακες που δείχνουν τους ρυθμούς μείωσης της βαθμολογίας της αρέσκειας της γεύσης (Πίνακες 8.25 – 8.27).



Σχήμα 8.61: Βαθμολογία της αρέσκειας της γεύσης των μαγειρεμένων δειγμάτων (Α, Μ, Χ, G) σε κλίμακα (1-9) κατά την οργανοληπτική δοκιμή, σε συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσης στη θερμοκρασία 0 °C. (Α: Δείγματα αναφοράς (Control), Μ: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, Χ: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.25: Σταθερές ρυθμού μείωσης βαθμολογίας της αρέσκειας της γεύσης των μαγειρεμένων δειγμάτων (A, M, X, G) στους 0 °C

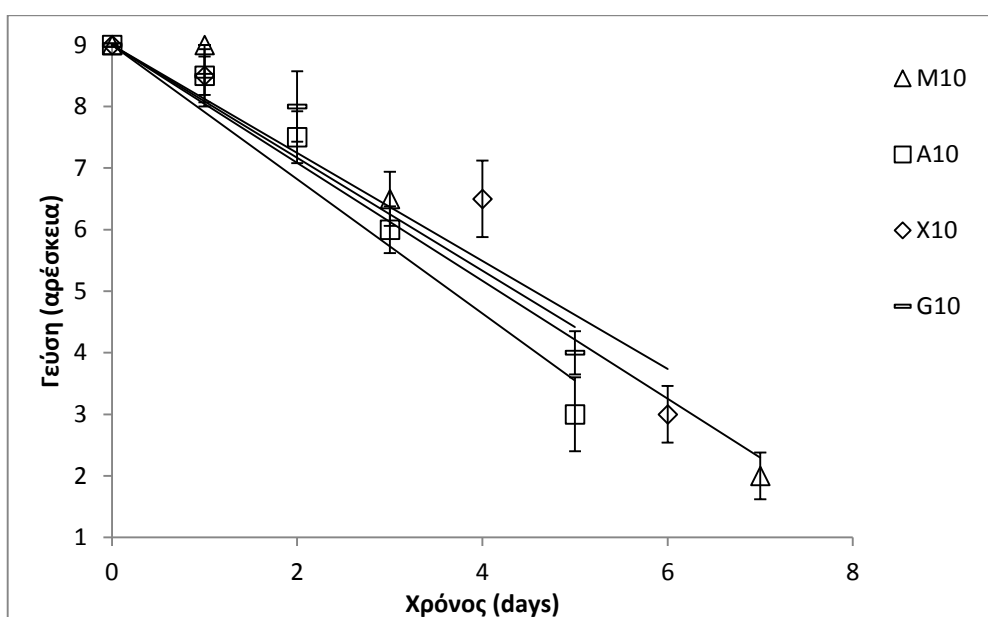
Δείγμα	Σταθερά ρυθμού μείωσης k (d ⁻¹) της αρέσκειας της γεύσης	R ²
A	0,3323	0,8464
M	0,2286	0,8080
X	0,2256	0,7365
G	0,2882	0,8435



Σχήμα 8.62: Βαθμολογία της αρέσκειας της γεύσης των μαγειρεμένων δειγμάτων (A, M, X, G) σε κλίμακα (1-9) κατά την οργανοληπτική δοκιμή, σε συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσης στη θερμοκρασία 5 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.26: Σταθερές ρυθμού μείωσης βαθμολογίας της αρέσκειας της γεύσης των μαγειρεμένων δειγμάτων (A, M, X, G) στους 5 °C

Δείγμα	Σταθερά ρυθμού μείωσης k (d ⁻¹) της αρέσκειας της γεύσης	R ²
A	0,5562	0,9525
M	0,3529	0,9144
X	0,3776	0,8802
G	0,4543	0,9688



Σχήμα 8.63: Βαθμολογία της αρέσκειας της γεύσης των μαγειρεμένων δειγμάτων (A, M, X, G) σε κλίμακα (1-9) κατά την οργανοληπτική δοκιμή, σε συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσης στη θερμοκρασία 10 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

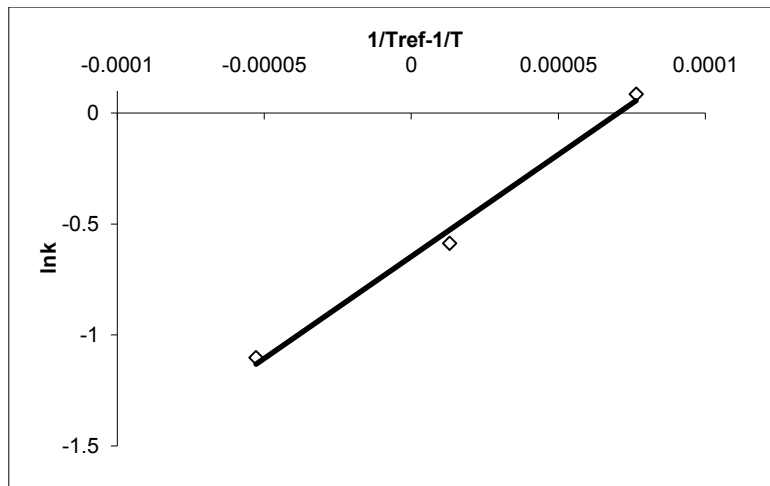
Πίνακας 8.27: Σταθερές ρυθμού μείωσης βαθμολογίας της αρέσκειας της γεύσης των μαγειρεμένων δειγμάτων (A, M, X, G) στους 10 °C

Δείγμα	Σταθερά ρυθμού μείωσης k (d ⁻¹) της αρέσκειας της γεύσης	R ²
A	1,0897	0,9491
M	0,9576	0,9650
X	0,8774	0,9235
G	0,9167	0,9336

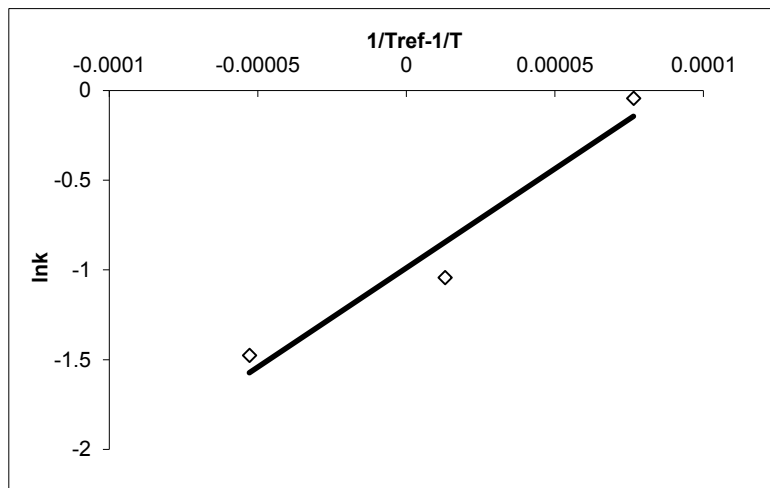
Με βάση τα παραπάνω παρατηρείται ότι ο ρυθμός μείωσης της αρέσκειας της γεύσης είναι μεγαλύτερος στα δείγματα A σε όλες τις θερμοκρασίες αποθήκευσης. Ταυτόχρονα, οι μικρότεροι ρυθμοί μείωσης παρουσιάζονται στα δείγματα M, και X για τις θερμοκρασίες 0, 5 °C και στα δείγματα X για την θερμοκρασία των 10 °C. Επίσης, οι ρυθμοί μείωσης της αρέσκειας της γεύσης αυξάνονται με την αύξηση της θερμοκρασίας από 0 έως 10 °C για όλες τις κατηγορίες δειγμάτων. Σύμφωνα με την στατιστική επεξεργασία η θερμοκρασία συντήρησης και η μέθοδος συσκευασίας/επεξεργασίας ασκούν σημαντικές επιδράσεις ($p < 0,05$) στο ρυθμό υποβάθμισης της γεύσης με συνέπεια οι μικρότεροι ρυθμοί μείωσης της αρέσκειας της γεύσης να εμφανίζονται κυρίως στα δείγματα M και X στους 0 °C. Επομένως, παρατηρείται ότι η συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας και η επικάλυψη πηκτίνης-citrox επιφέρουν σημαντική καθυστέρηση στην υποβάθμιση της γεύσης των δειγμάτων κοτόπουλου.

8.5.7 Μοντέλο Arrhenius για την γεύση

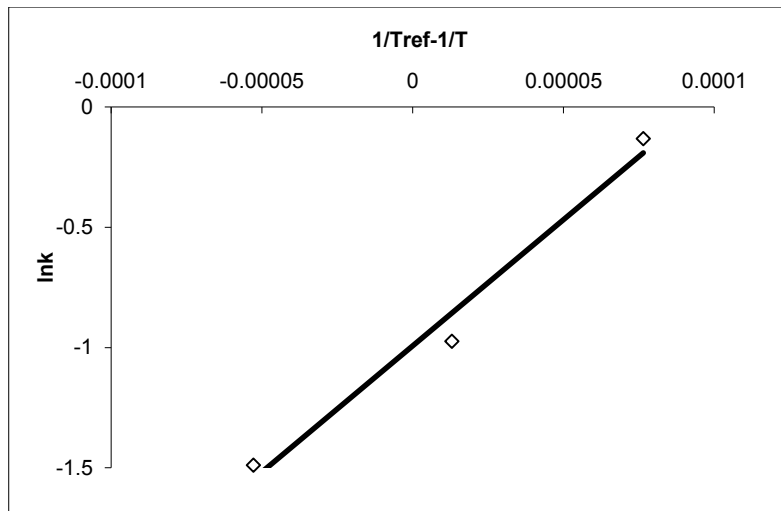
Με την ίδια μέθοδο που ακολουθήθηκε για την όψη και την οσμή, βρίσκονται τα k_{ref} και E_a με την χρήση των ρυθμών k στις θερμοκρασίες 0, 5, 10 °C και του μοντέλου Arrhenius. Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα που προκύπτουν από την εξίσωση Arrhenius (εξ. 8.1) που δείχνουν την εξάρτηση του ρυθμού μείωσης της αρέσκειας της γεύσης από την θερμοκρασία και για τις τέσσερις σειρές δειγμάτων (Σχήματα 8.64 - 8.67) καθώς και ο πίνακας (πίνακας 8.28) με τις τιμές k_{ref} και E_a .



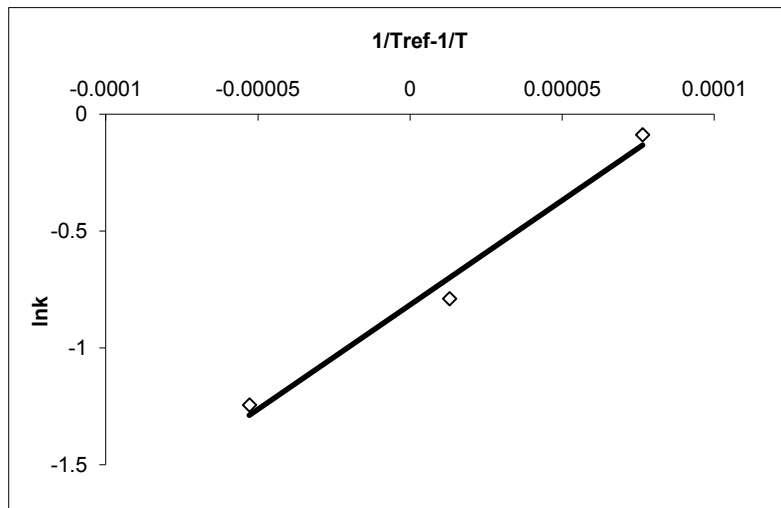
Σχήμα 8.64: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού μείωσης της αρέσκειας της γεύσης των δειγμάτων A ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)



Σχήμα 8.65: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού μείωσης της αρέσκειας της γεύσης των δειγμάτων M ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)



Σχήμα 8.66: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού μείωσης της αρέσκειας της γεύσης των δειγμάτων X ($T_{ref}=4^{\circ}C$)



Σχήμα 8.67: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού μείωσης της αρέσκειας της γεύσης των δειγμάτων G ($T_{ref}=4^{\circ}C$)

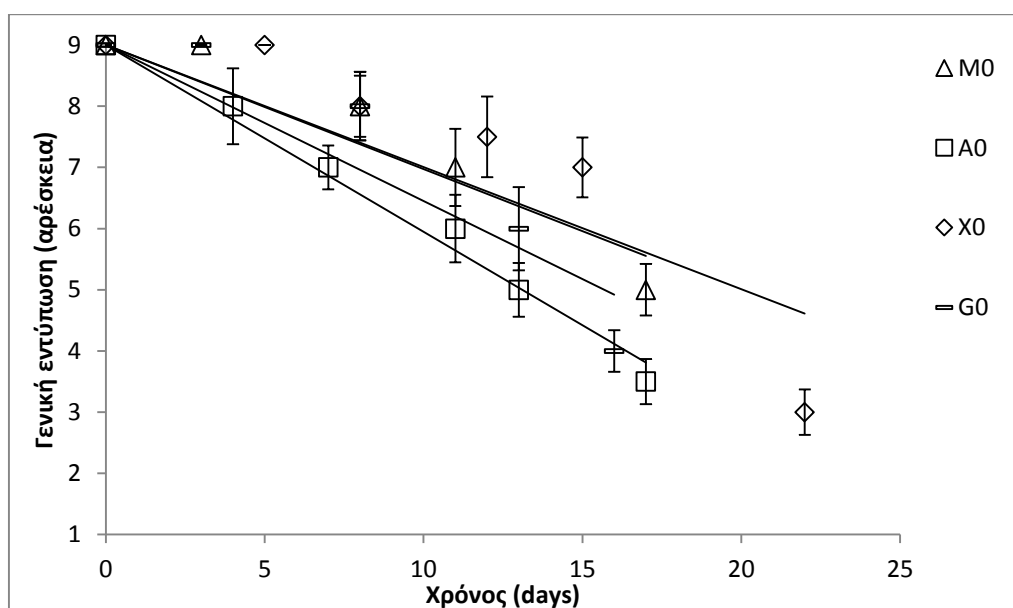
Πίνακας 8.28: Σταθερές ρυθμού μείωσης k_{ref} και ενέργειες ενεργοποίησης E_{α} των δειγμάτων (A, M, X, G) για την αρέσκεια της γεύσης

Δείγμα	k_{ref} (d^{-1})	E_{α} (kJ/mol)	R^2
A	0,5241	76,3	0,9925
M	0,3722	91,9	0,9463
X	0,3706	87,2	0,9780
G	0,4423	74,3	0,9824

Παρατηρείται ότι οι μικρότεροι ρυθμοί k_{ref} μείωσης της αρέσκειας της γεύσης εμφανίζονται στα δείγματα X και M ενώ ο μεγαλύτερος ρυθμός k_{ref} μείωσης παρουσιάζεται στα δείγματα A. Επίσης, οι μεγαλύτερες ενέργειες ενεργοποίησης E_a παρουσιάζονται στα δείγματα M και X με αποτέλεσμα η επίδραση στις μεταβολές της θερμοκρασίας να είναι μεγάλη.

8.5.8 Γενική εντύπωση του προϊόντος

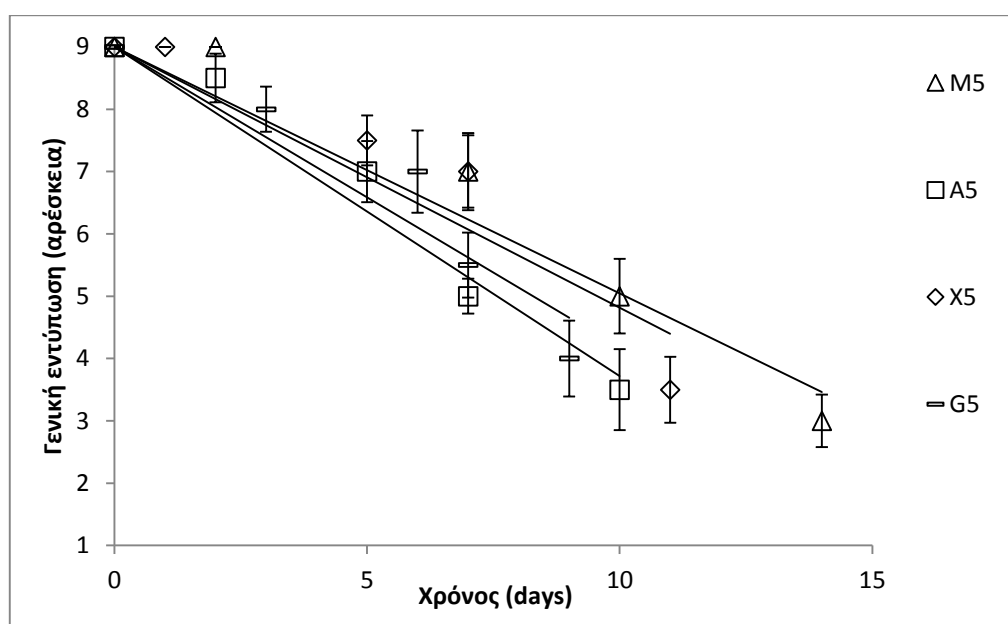
Η τάση υποβάθμισης της γενικής εντύπωσης (αρέσκεια) των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των δειγμάτων με την πάροδο του χρόνου και στις τρεις θερμοκρασίες αποθήκευσης, παρουσιάζεται στα επόμενα διαγράμματα. (Σχήματα 8.68-8.70). Επίσης, φαίνονται και οι αντίστοιχοι πίνακες που δείχνουν τους ρυθμούς μείωσης της βαθμολογίας της αρέσκειας της γενικής εντύπωσης (Πίνακες 8.29 – 8.31).



Σχήμα 8.68: Βαθμολογία της αρέσκειας της γενικής εντύπωσης των δειγμάτων (A, M, X, G) σε κλίμακα (1-9) κατά την οργανοληπτική δοκιμή, σε συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσης στη θερμοκρασία 0 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) $42,7 \pm 1,5\%$ O₂, $18,5 \pm 0,5\%$ CO₂ και $38,8 \pm 0,7\%$ N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.29: Σταθερές ρυθμού μείωσης βαθμολογίας της αρέσκειας της γενικής εντύπωσης των δειγμάτων (A, M, X, G) στους 0 °C

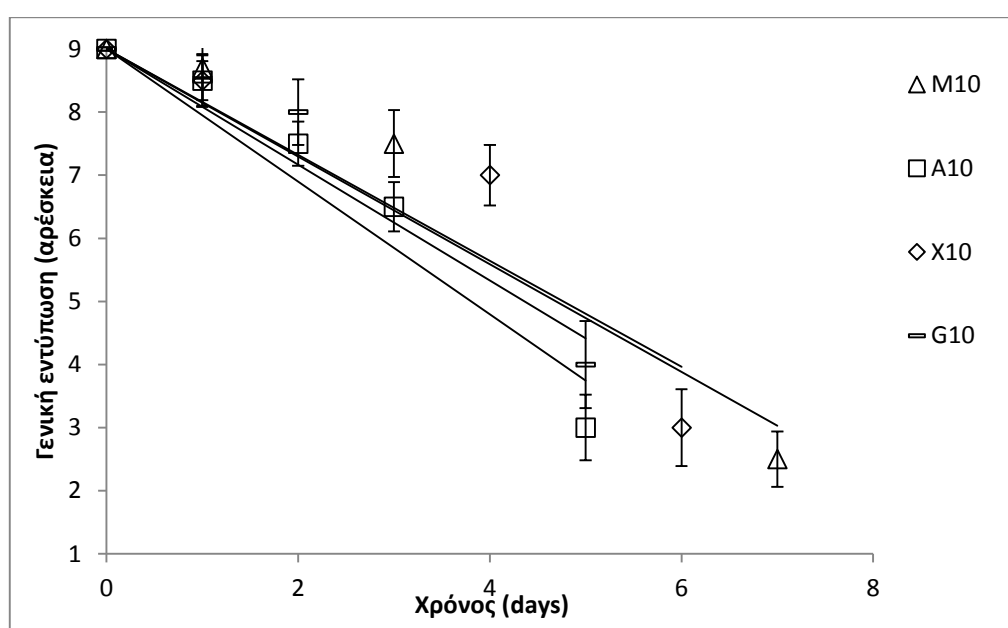
Δείγμα	Σταθερά ρυθμού μείωσης k (d ⁻¹) της αρέσκειας της γεν.εντύπ.	R ²
A	0,3051	0,9855
M	0,2029	0,9004
X	0,1996	0,7697
G	0,2550	0,8610



Σχήμα 8.69: Βαθμολογία της αρέσκειας της γενικής εντύπωσης των δειγμάτων (A, M, X, G) σε κλίμακα (1-9) κατά την οργανοληπτική δοκιμή, σε συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσης στη θερμοκρασία 5 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Πίνακας 8.30: Σταθερές ρυθμού μείωσης βαθμολογίας της αρέσκειας της γενικής εντύπωσης των δειγμάτων (A, M, X, G) στους 5 °C

Δείγμα	Σταθερά ρυθμού μείωσης k (d ⁻¹) της αρέσκειας της γεν. εντυπ.	R ²
A	0,5281	0,9604
M	0,3954	0,9473
X	0,4184	0,8919
G	0,4829	0,9083



Σχήμα 8.70: Βαθμολογία της αρέσκειας της γενικής εντύπωσης των δειγμάτων (A, M, X, G) σε κλίμακα (1-9) κατά την οργανοληπτική δοκιμή, σε συνάρτηση με το χρόνο αποθήκευσης στη θερμοκρασία 10 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

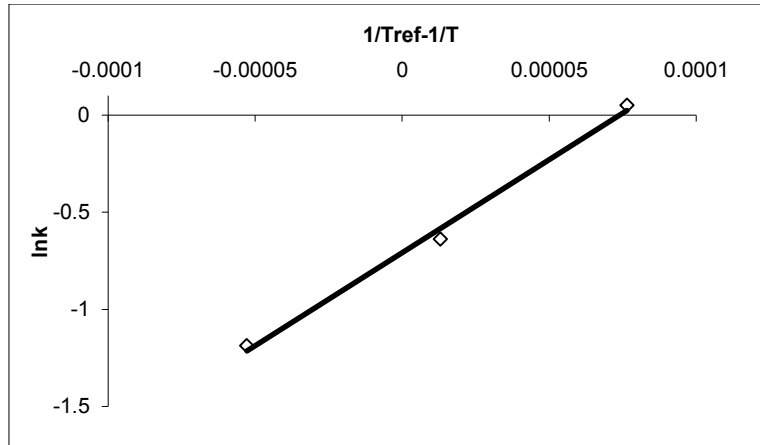
Πίνακας 8.31: Σταθερές ρυθμού μείωσης βαθμολογίας της αρέσκειας της γενικής εντύπωσης των δειγμάτων (A, M, X, G) στους 10 °C

Δείγμα	Σταθερά ρυθμού μείωσης k (d ⁻¹) της αρέσκειας της γεν. εντυπ.	R ²
A	1,0513	0,9274
M	0,8525	0,9376
X	0,8396	0,8699
G	0,9167	0,9336

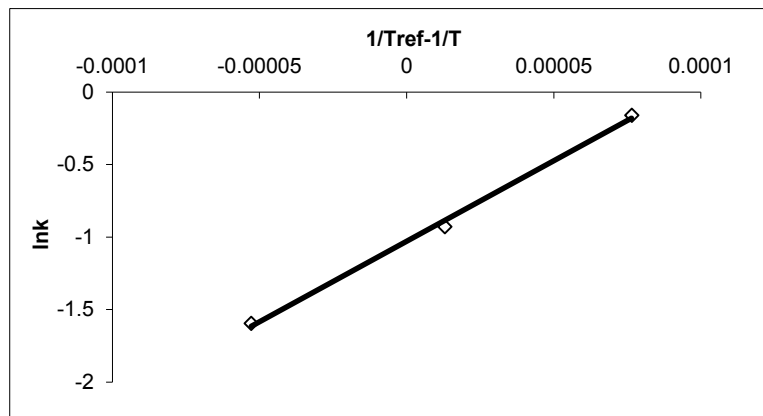
Με βάση τα παραπάνω παρατηρείται αύξηση του ρυθμού μείωσης βαθμολόγησης της αρέσκειας για τη γενική εντύπωση με την αύξηση της θερμοκρασίας για όλες τις κατηγορίες δειγμάτων (A, M, X, G). Η θερμοκρασία συντήρησης παρουσιάζει σημαντική επίδραση ($p < 0,05$) στην βαθμολόγηση της γενικής εντύπωσης. Επιπλέον, σημαντική επίδραση ($p < 0,05$) ασκεί και η μέθοδος συσκευασίας των δειγμάτων κοτόπουλου όσον αφορά το ρυθμό υποβάθμισης της γενικής εντύπωσης. Μικρότερους ρυθμούς μείωσης παρουσιάζουν τα δείγματα M, X για όλες τις θερμοκρασίες συντήρησης των δειγμάτων ενώ μεγαλύτερους ρυθμούς μείωσης της αρέσκειας της γενικής εντύπωσης εμφανίζουν τα δείγματα αναφοράς A. Οι παραπάνω διαπιστώσεις επαληθεύονται και από τους Hasapidou et al. (2011) και Kang et al. (2007) όπου τόσο η συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας σε κοτόπουλο όσο και η επικάλυψη πηκτίνης- αντιμικροβιακού (εκχύλισμα πράσινου τσαγιού) σε χοιρινά μπιφτέκια, αντίστοιχα επιβραδύνουν σημαντικά ($p < 0,05$) την υποβάθμιση της γενικής εντύπωσης, σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς. Ακόμα, οι σημαντικές επιδράσεις της θερμοκρασίας ($p < 0,05$) τόσο στη γενική εντύπωση όσο και στα υπόλοιπα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά έρχονται σε συμφωνία με την Ανδρέου (2013) όπου η θερμοκρασία των 0 °C καθυστέρησε σημαντικά την μείωση της οργανοληπτικής αποδοχής των δειγμάτων κοτόπουλου σε σχέση με τη συντήρηση στους 5 και 10 °C.

8.5.9 Μοντέλο Arrhenius για την γενική εντύπωση

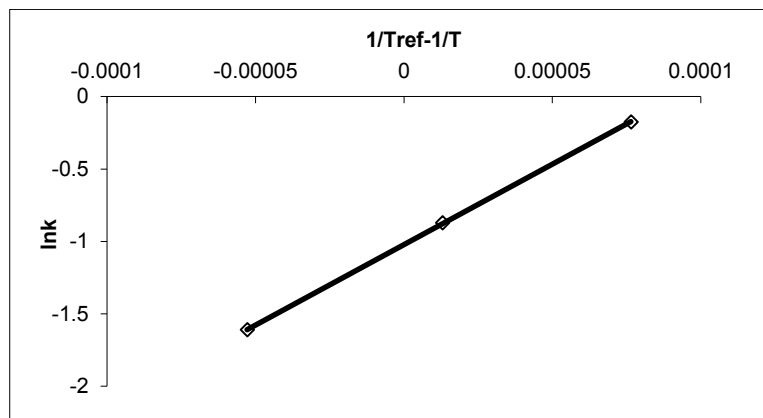
Όμοια με τα προηγούμενα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά, βρίσκονται τα k_{ref} και E_a με την χρήση των ρυθμών k στις θερμοκρασίες 0, 5, 10 °C και του μοντέλου Arrhenius. Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα που προκύπτουν από την εξίσωση Arrhenius (εξ. 8.1) που δείχνουν την εξάρτηση του ρυθμού μείωσης της αρέσκειας της γενικής εντύπωσης από την θερμοκρασία και για τις τέσσερις κατηγορίες δειγμάτων (Σχήματα 8.71 - 8.74) καθώς και ο πίνακας (πίνακας 8.32) με τις τιμές k_{ref} και E_a .



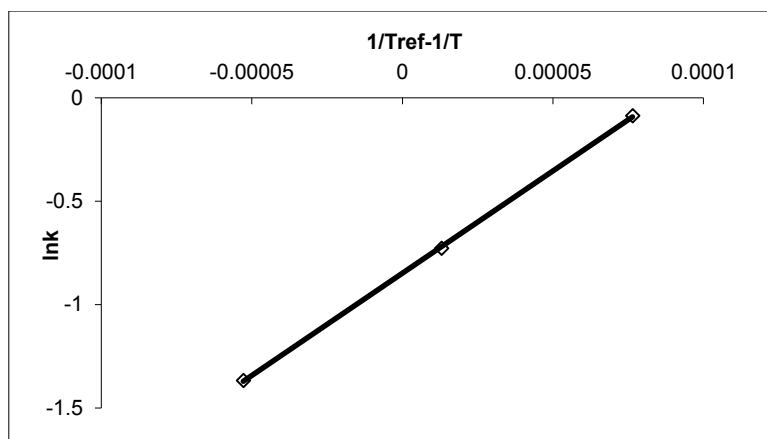
Σχήμα 8.71: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού μείωσης της αρέσκειας της γενικής εντύπωσης των δειγμάτων A ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)



Σχήμα 8.72: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού μείωσης της αρέσκειας της γενικής εντύπωσης των δειγμάτων M ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)



Σχήμα 8.73: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού μείωσης της αρέσκειας της γενικής εντύπωσης των δειγμάτων X ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)



Σχήμα 8.74: Διάγραμμα Arrhenius για τη μεταβολή του ρυθμού μείωσης της αρέσκειας της γενικής εντύπωσης των δειγμάτων G ($T_{ref}=4^{\circ}\text{C}$)

Πίνακας 8.32: Σταθερές ρυθμού μείωσης k_{ref} και ενέργειες ενεργοποίησης E_a των δειγμάτων (A, M, X, G) για την αρέσκεια της γενικής εντύπωσης

Δείγμα	k_{ref} (d^{-1})	E_a (kJ/mol)	R^2
A	0,4924	79,5	0,9943
M	0,3572	92,2	0,9974
X	0,3601	92,4	0,9999
G	0,4284	82,3	0,9999

Με βάση τα παραπάνω παρατηρείται ότι οι μικρότεροι ρυθμοί k_{ref} μείωσης βαθμολόγησης για τη γενική εντύπωση (αρέσκεια) παρουσιάζονται στα δείγματα M, X ενώ ο μεγαλύτερος ρυθμός μείωσης εμφανίζεται στα δείγματα A. Τέλος, στα ίδια δείγματα (M, X) οι ενέργειες ενεργοποίησης είναι μεγαλύτερες με αποτέλεσμα να παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία στις θερμοκρασιακές μεταβολές.

8.6 Προσδιορισμός διατηρησιμότητας των δειγμάτων

Με βάση την επεξεργασία των αποτελεσμάτων που πραγματοποιήθηκε στις προηγούμενες ενότητες, προσδιορίστηκε ο χρόνος ζωής των δειγμάτων κοτόπουλου για κάθε τύπο συσκευασίας. Ο χρόνος ζωής υπολογίστηκε βάσει της οργανοληπτικής (όριο συνολικής εντύπωσης > 5) και μικροβιολογικής (όριο πληθυσμού ψευδομονάδων 7,5 και 6 log cfu/g) αξιολόγησης του κοτόπουλου.

Το μικροβιολογικό όριο, εκφράστηκε σε όλα τα δείγματα με βάση τον επικρατέστερο μικροβιακό πληθυσμό που είναι οι ψευδομονάδες. Για όλα τα αερόβια δείγματα επεξεργασμένα ή μη (A, X, G) το όριο που προσδιορίστηκε για τον πληθυσμό των ψευδομονάδων είναι 7,5 log cfu/g ενώ για τα δείγματα που ήταν σε συσκευασία

τροποποιημένης ατμόσφαιρας (M) είναι 6 log cfu/g λόγω του ότι η φάση στασιμότητας εμφανίζεται σε χαμηλότερα φορτία. Τα παραπάνω όρια προέκυψαν από τη συσχέτιση των δεδομένων της οργανοληπτικής αξιολόγησης με τη μικροβιακή ανάπτυξη.

Όσον αφορά στον χρόνο διατηρησιμότητας με βάση την οργανοληπτική αξιολόγηση γίνεται χρήση της παρακάτω εξίσωσης:

$$t_{SL} = \frac{s_0 - s_1}{k_{ref,sens} \exp \left[\frac{-E_\alpha}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right) \right]}$$

όπου t_{SL} είναι η διάρκεια ζωής (σε ημέρες), s_1 και s_0 είναι το όριο ($s_1 = 5$) και η αρχική βαθμολόγηση για τη γενική εντύπωση ($s_0 = 9$) κατά την οργανοληπτική εξέταση, αντίστοιχα, $k_{ref,sens}$ είναι η σταθερά ρυθμού μεταβολής της αρέσκειας της γενικής εντύπωσης δεικτών ποιότητας στη θερμοκρασία αναφοράς ($T_{ref} = 4^\circ\text{C}$), E_α είναι η ενέργεια ενεργοποίησης και R η παγκόσμια σταθερά των αερίων.

Για τον προσδιορισμό της διατηρησιμότητας με βάση τον μικροβιολογικό έλεγχο, χρησιμοποιείται η εξίσωση:

$$t_{SL} = \frac{\log N_1 - \log N_0}{k_{ref} \exp \left[\frac{-E_\alpha}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{ref}} \right) \right]}$$

όπου t_{SL} είναι η διάρκεια ζωής (σε ημέρες), $\log N_1$ είναι το όριο που προσδιορίζεται για το φορτίο των ψευδομονάδων (6 ή 7,5 log cfu/g για τα MAP και αερόβια συσκευασμένα δείγματα, αντίστοιχα), $\log N_0$ είναι το αρχικό φορτίο των ψευδομονάδων, k_{ref} είναι η σταθερά ρυθμού μεταβολής του φορτίου των ψευδομονάδων στη θερμοκρασία αναφοράς ($T_{ref} = 4^\circ\text{C}$), E_α είναι η ενέργεια ενεργοποίησης και R η παγκόσμια σταθερά των αερίων.

Με βάση τα παραπάνω, στους 0 °C ο χρόνος διατηρησιμότητας των δειγμάτων αναφοράς (A) είναι 13 ημέρες με βάση και τον οργανοληπτικό και τον μικροβιολογικό έλεγχο. Επίσης, η διατηρησιμότητα των δειγμάτων που βρίσκονται συσκευασμένα σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα (M) είναι 20 και 22 ημέρες με βάση την οργανοληπτική και μικροβιολογική εξέταση αντίστοιχα. Όσον αφορά στα δείγματα πηκτίνης –citrox (X) ο χρόνος ζωής ανέρχεται σε 20 ημέρες τόσο με την οργανοληπτική όσο και με τη μικροβιολογική εξέταση. Τέλος, για τα δείγματα πηκτίνης – γλυκονο-δ- λακτόνης (G) ο χρόνος ζωής είναι 16 ημέρες με βάση την οργανοληπτική και 17 ημέρες με βάση την μικροβιολογική εξέταση.

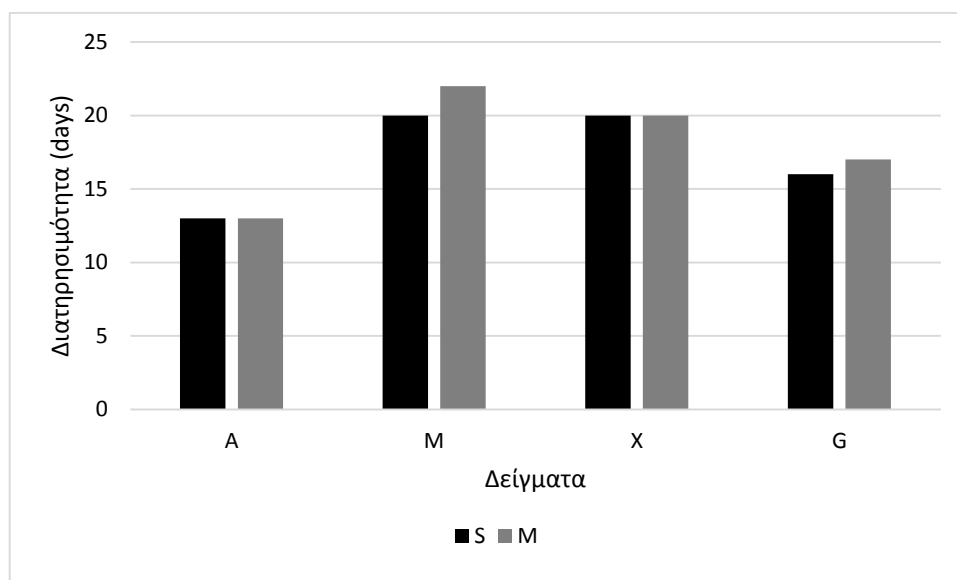
Στους 5 °C, η διατηρησιμότητα των δειγμάτων A φτάνει στις 7 και 6 ημέρες με βάση τον οργανοληπτικό και μικροβιολογικό έλεγχο αντίστοιχα. Επίσης, για τα δείγματα M ανέρχεται στις 9 ημέρες με βάση τον οργανοληπτικό έλεγχο και στις 8 ημέρες με βάση τον

μικροβιολογικό έλεγχο. Επιπλέον, τα δείγματα X διατηρούνται για 9 ημέρες ενώ τα δείγματα G για 8 ημέρες με βάση και τους δύο ελέγχους και για τις δύο κατηγορίες δειγμάτων.

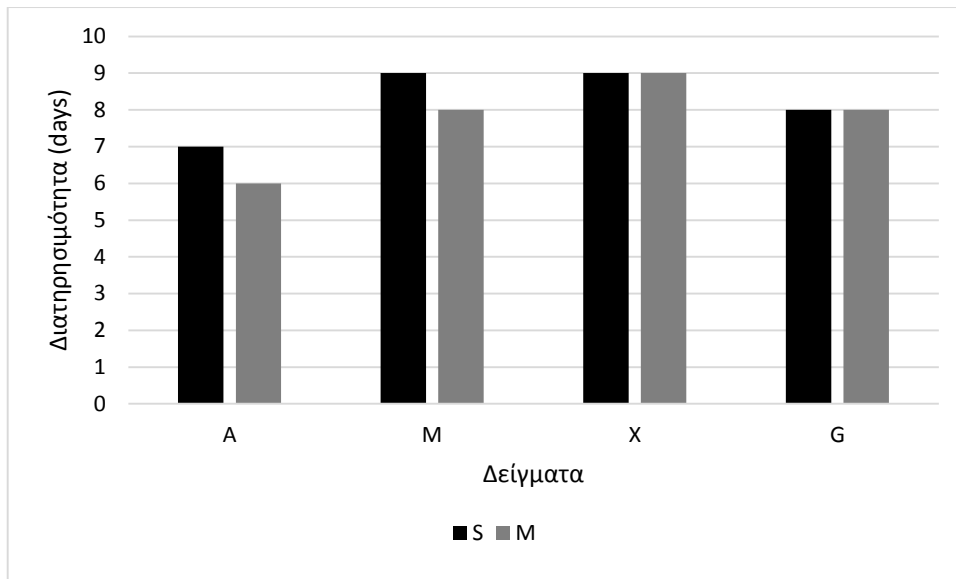
Τέλος, στους 10 °C ο χρόνος ζωής των δειγμάτων A είναι 4 και 3 ημέρες με βάση την οργανοληπτική και μικροβιολογική ανάλυση, αντίστοιχα. Όσον αφορά στα δείγματα M, η διατηρησιμότητα είναι 4 ημέρες ενώ για τα δείγματα X 5 ημέρες και για τα δείγματα G 4 ημέρες με βάση και τους δύο ελέγχους.

Σημειώνεται ότι καθοριστικότερη σημασία έχει ο χρόνος ζωής με βάση τον οργανοληπτικό έλεγχο διότι η οργανοληπτική υποβάθμιση εμφανίζεται ταυτόχρονα ή λίγο νωρίτερα από τον χρόνο εμφάνισης του μικροβιακού ορίου αλλοίωσης.

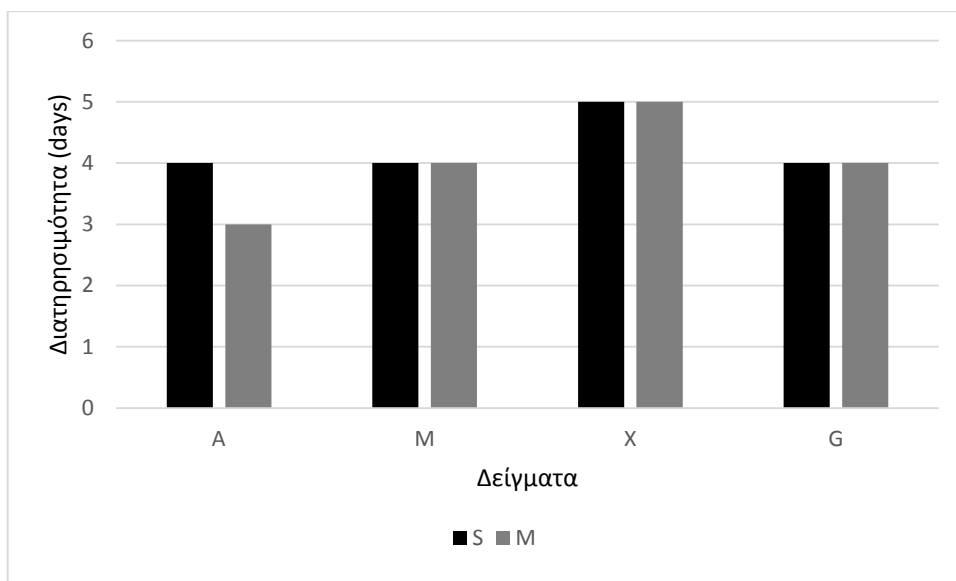
Οι παραπάνω χρόνοι διατηρησιμότητας με βάση την οργανοληπτική (S) και μικροβιολογική (M) εξέταση για όλα τα δείγματα σε όλες τις θερμοκρασίες παρουσιάζονται συμπερασματικά στα παρακάτω διαγράμματα (Σχήματα 8.75 - 8.77).



Σχήμα 8.75: Διατηρησιμότητα των δειγμάτων (A, M, X, G) με βάση την οργανοληπτική (S) και μικροβιολογική (M) εξέταση στους 0 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))



Σχήμα 8.76: Διατηρησιμότητα των δειγμάτων (A, M, X, G) με βάση την οργανοληπτική (S) και μικροβιολογική (M) εξέταση στους 5 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

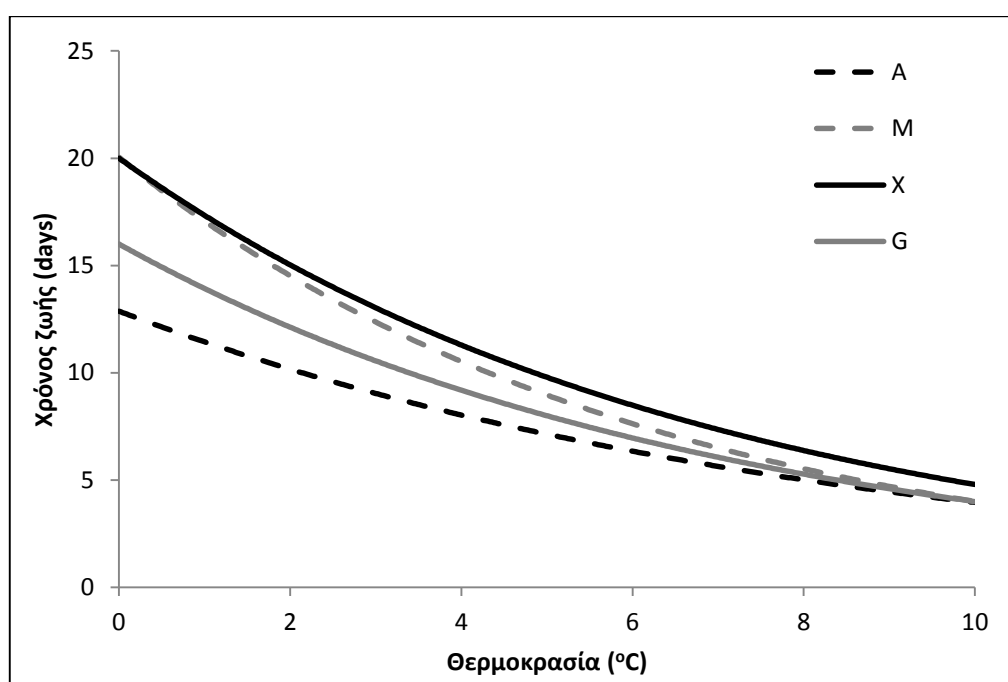


Σχήμα 8.77: Διατηρησιμότητα των δειγμάτων (A, M, X, G) με βάση την οργανοληπτική (S) και μικροβιολογική (M) εξέταση στους 10 °C. (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) 42,7±1,5% O₂, 18,5±0,5% CO₂ και 38,8±0,7% N₂, X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

Αντίστοιχα αποτελέσματα για την διατηρησιμότητα των δειγμάτων κοτόπουλου εμφανίζουν οι διαπιστώσεις των Giatrakou et al. (2009), Patsias et al. (2008) καθώς και των Jiang et al.

(2011) σύμφωνα με τους οποίους η συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας καθώς και ο συνδυασμός πηκτίνης – αντιμικροβιακού επιφέρουν σημαντική επέκταση στην διατηρησιμότητα των δειγμάτων τεμαχισμένου κοτόπουλου. Τέλος, αντίστοιχα αποτελέσματα για την επίδραση της χαμηλής θερμοκρασίας συντήρησης παρουσιάζονται και από την Ανδρέου (2013) όπου παρατηρείται ότι με την μείωση της θερμοκρασίας αυξάνεται ο χρόνος ζωής των δειγμάτων κοτόπουλου.

Με βάση τους χρόνους ζωής των δειγμάτων κοτόπουλου στις θερμοκρασίες συντήρησης 0, 5, 10 °C κατασκευάζονται οι καμπύλες διατηρησιμότητας (Σχήμα 8.78) μέσω των οποίων είναι δυνατό να γίνει πρόρρηση του χρόνου ζωής των δειγμάτων A, M, X, G σε οποιαδήποτε θερμοκρασία από 0 έως 10 °C.



Σχήμα 8.78: Καμπύλες διατηρησιμότητας των δειγμάτων (A, M, X, G). (A: Δείγματα αναφοράς (Control), M: Δείγματα MAP περιεκτικότητας σε (v/v) $42,7 \pm 1,5\%$ O_2 , $18,5 \pm 0,5\%$ CO_2 και $38,8 \pm 0,7\%$ N_2 , X: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – citrox (1% w/w), G: Δείγματα επικάλυψης πηκτίνης μήλου (2% w/w) – γλυκονο-δ-λακτόνης (0,5% w/w))

9. ΓΕΝΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Τα προϊόντα πουλερικών αποτελούν μία ομάδα τροφίμων εξαιρετικά ευαίσθητη στην ανάπτυξη αλλοιογόνων μικροοργανισμών με αποτέλεσμα την ποιοτική και οργανοληπτική τους υποβάθμιση. Η παρούσα διπλωματική εργασία είχε ως στόχο την αύξηση της διατηρησιμότητας τεμαχισμένου κοτόπουλου (μπούτι), μελετώντας τις επιδράσεις της συσκευασίας τροποποιημένης ατμόσφαιρας και της τεχνολογίας των εδώδιμων μεμβρανών με προσθήκη αντιμικροβιακών παραγόντων στις θερμοκρασίες 0, 5, 10 °C.

Για όλες τις κατηγορίες δειγμάτων η μείωση της θερμοκρασίας επέκτεινε τον χρόνο ζωής τους με την καλύτερη συμπεριφορά να παρουσιάζεται στα δείγματα που είναι συσκευασμένα σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα ($42,7 \pm 1,5\%$ O₂, $18,5 \pm 0,5\%$ CO₂ και $38,8 \pm 0,7\%$ N₂) και στα δείγματα με επικάλυψη πηκτίνης μήλου (2%)–citrox (1%). Συγκεκριμένα, για τα δείγματα αναφοράς (control) ο χρόνος ζωής προσδιορίστηκε σε 13, 7 και 4 ημέρες για τις θερμοκρασίες 0, 5 και 10 °C, αντίστοιχα. Επίσης, για τα συσκευασμένα δείγματα σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα η διατηρησιμότητα ανήλθε σε 20, 9 και 4 ημέρες στους 0, 5 και 10 °C, αντίστοιχα. Παράλληλα, όσον αφορά στα δείγματα πηκτίνης μήλου-αντιμικροβιακού ο χρόνος ζωής υπολογίστηκε σε 20 και 16 ημέρες, 9 και 8 ημέρες και 5 και 4 ημέρες για τα δείγματα με προσθήκη citrox και γλυκονο-δ-λακτόνης, αντίστοιχα.

Η τροποποιημένη ατμόσφαιρα της συσκευασίας σε συνδυασμό με την ψύξη των δειγμάτων στους 0 °C επέκτεινε την διατηρησιμότητα στα δείγματα του κοτόπουλου κατά 7 ημέρες με βάση την οργανοληπτική αξιολόγηση σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς που συντηρήθηκαν αερόβια στην ίδια θερμοκρασία. Επίσης, στη θερμοκρασία των 5 °C ο χρόνος ζωής αυξήθηκε κατά 2 ημέρες ενώ στους 10 °C δεν σημειώθηκε παράταση στον χρόνο ζωής των δειγμάτων. Τα αποτελέσματα κρίνονται ικανοποιητικά με βάση τη βιβλιογραφία επιβεβαιώνοντας τις σημαντικές επιδράσεις της παρουσίας του CO₂ στην μείωση της μικροβιολογικής αλλοίωσης και κατ' επέκταση στην επιβράδυνση της οργανοληπτικής υποβάθμισης. Ταυτόχρονα, η αποθήκευση στη θερμοκρασία των 0 °C πολλαπλασίασε τα πλεονεκτήματα της τροποποιημένης ατμόσφαιρας διότι σε χαμηλές θερμοκρασίες αυξάνεται η διαλυτότητα του CO₂ ενώ συγχρόνως επιβραδύνεται η μικροβιακή ανάπτυξη.

Επίσης, η εδώδιμη μεμβράνη της πηκτίνης σε συνδυασμό με την προσθήκη αντιμικροβιακών αύξησε την διατηρησιμότητα των δειγμάτων κοτόπουλου και ιδιαίτερα στη θερμοκρασία των 0 °C. Συγκεκριμένα, τα δείγματα πηκτίνης–citrox και πηκτίνης–γλυκονο-δ-λακτόνης επέκτειναν τον χρόνο ζωής συγκριτικά με τα δείγματα αναφοράς κατά 7 και 3 ημέρες στους 0 °C, ενώ στους 5 °C κατά 2 και 1 ημέρες αντίστοιχα με βάση την οργανοληπτική αξιολόγηση. Επιπλέον, στους 10 °C παρατηρήθηκε αύξηση του χρόνου ζωής κατά 1 ημέρα για τα δείγματα πηκτίνης – citrox ενώ αντίθετα δεν παρουσιάσθηκε επέκταση για τα δείγματα πηκτίνης – γλυκονο-δ-λακτόνης. Με βάση τα παραπάνω, συμπεραίνεται ότι ο συνδυασμός πηκτίνης – αντιμικροβιακού επιφέρει αύξηση της διατηρησιμότητας εξαιτίας της μείωσης του ρυθμού της

μικροβιακής ανάπτυξης και της επιβράδυνσης της υποβάθμισης των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του κοτόπουλου. Η επικάλυψη πηκτίνης αποτελεί ένα προστατευτικό φράγμα κάνοντας ασθενέστερη την επαφή της επιφάνειας του κοτόπουλου με το O₂ επιβραδύνοντας έτσι την ανάπτυξη των αερόβιων αλλοιογόνων μικροοργανισμών και κυρίως των ψευδομονάδων. Παράλληλα, συγκρατεί την υγρασία του κοτόπουλου με αποτέλεσμα να βελτιώνονται τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και να υποβαθμίζονται βραδύτερα. Ταυτόχρονα, η παρουσία του αντιμικροβιακού επιβραδύνει τη μικροβιακή αλλοίωση ενώ δεν υποβαθμίζει τις οργανοληπτικές ιδιότητες όπως την οσμή και τη γεύση εξαιτίας της σταδιακής μεταφοράς του από την πηκτίνη στο εσωτερικό του τροφίμου.

Συμπερασματικά, η συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας και η επικάλυψη πηκτίνης - αντιμικροβιακού μείωσαν τον ρυθμό μικροβιακής αλλοίωσης και υποβάθμισης της όψης, της οσμής, της γεύσης και της γενικής εντύπωσης του προϊόντος προκαλώντας σημαντικές επεκτάσεις στο χρόνο ζωής στις θερμοκρασίες 0 και 5 °C. Αναφορικά με τις μετρήσεις του χρώματος και του pH δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές επιδράσεις ($p > 0,05$) των παραπάνω μεθόδων συσκευασίας με την πάροδο του χρόνου σε όλες τις θερμοκρασίες σε σχέση με τα δείγματα αναφοράς.

Από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση και τα συμπεράσματα της παρούσας εργασίας προκύπτουν θέματα ειδικού ενδιαφέροντος, τα οποία χρήζουν περαιτέρω μελέτης αναφορικά με την συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας και τη συνδυαστική δράση εδώδιμων μεμβρανών – αντιμικροβιακών παραγόντων σε προϊόντα κοτόπουλου. Ένας εναλλακτικός τρόπος για την συσκευασία τροποποιημένης ατμόσφαιρας θα ήταν η αύξηση της περιεκτικότητας σε CO₂ που αποτελεί σημαντικό ανασταλτικό παράγοντα στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών με την ταυτόχρονη μείωση της συγκέντρωσης του O₂ που ευνοεί την ανάπτυξη των αερόβιων μικροοργανισμών. Θα είχε ενδιαφέρον να διερευνηθεί αν η παρουσία μεγαλύτερων συγκεντρώσεων CO₂ θα οδηγούσε σε ακόμα μεγαλύτερη μείωση στο ρυθμό ανάπτυξης των αερόβιων μικροοργανισμών ή θα επιδρούσε σημαντικά στο χρώμα και την όψη του προϊόντος που αναφέρεται ότι βελτιώνονται με την παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων O₂. Όσον αφορά στις εδώδιμες μεμβράνες θα είχε μεγάλο ενδιαφέρον η προσθήκη δύο ή περισσότερων άλλων αντιμικροβιακών ουσιών ή ο συνδυασμός citroχ-γλυκονο-δ-λακτόνης με σκοπό την επιπλέον επέκταση του χρόνου ζωής των δειγμάτων. Επίσης, θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί και άλλη εδώδιμη μεμβράνη όπως π.χ η χιτοζάνη η οποία παρουσιάζει και αντιμικροβιακές ιδιότητες σε ελεγχόμενες όμως συγκεντρώσεις λόγω της ανεπιθύμητης οσμής της ((Baldwin, 2012), (Sánchez-Ortega et al., 2014)). Ακόμα, θα ήταν χρήσιμο σε κάποια δείγματα η επικάλυψη να γίνει μόνο με εδώδιμη μεμβράνη απουσία αντιμικροβιακού για να μελετηθεί η αποκλειστική επίδρασή της στην επέκταση της διατηρησιμότητας. Επιπλέον, η χρήση εδώδιμου πλαστικοποιητή στην μεμβράνη της πηκτίνης θα μπορούσε να επεκτείνει ακόμα περισσότερο την διάρκεια της ζωής του κοτόπουλου αυξάνοντας τη συνεκτικότητα της μεμβράνης και την συγκράτηση του

αντιμικροβιακού (Espitia et al., 2014). Επιπρόσθετα, με βάση την τεχνολογία εμποδίων, εξαιρετικά αποτελέσματα θα έδινε ο συνδυασμός των δύο μεθόδων που μελετήθηκαν στην παρούσα διπλωματική εργασία. Ο συνδυασμός συσκευασίας σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα, εφαρμογή μεμβράνης με προσθήκη αντιμικροβιακών και συντήρηση σε ψύξη θα μπορούσε να επεκτείνει περαιτέρω την διατηρησιμότητα του κοτόπουλου ιδιαίτερα σε χαμηλές θερμοκρασίες συντήρησης.

Τέλος, η χρήση των εδωδιμων μεμβρανών με ή χωρίς αντιμικροβιακό είναι μια πολλά υποσχόμενη τεχνολογία, η οποία έχει τη δυνατότητα να ενταχθεί στον βιομηχανικό κλάδο σε εργοστάσια επεξεργασίας/συσκευασίας προϊόντων κρέατος και πουλερικών με σκοπό την παράταση της ημερομηνίας λήξης διατηρώντας ταυτόχρονα τα ποιοτικά χαρακτηριστικά τους.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adams, M.R., Moss, M.O., 2007. Food Microbiology (Third Edition). Food Microbiol. Ed. 3, xiv + 463pp.
- Aliani, M., Farmer, L.J., Kennedy, J.T., Moss, B.W., Gordon, A., 2013. Post-slaughter changes in ATP metabolites, Reducing and phosphorylated sugars in chicken meat. Meat Sci. 94, 55–62. doi:10.1016/j.meatsci.2012.11.032
- Arslan, S., Eyi, a, Özdemir, F., 2011. Spoilage potentials and antimicrobial resistance of *Pseudomonas* spp. isolated from cheeses. J. Dairy Sci. 94, 5851–6. doi:10.3168/jds.2011-4676
- Arvanitoyannis, I., Stratakos, A., 2012. Application of Modified Atmosphere Packaging and Active/Smart Technologies to Red Meat and Poultry: A Review. Food Bioprocess Technol. 5, 1423–1446
- Badr, H.M., 2004. Use of irradiation to control foodborne pathogens and extend the refrigerated market life of rabbit meat. Meat Sci. 67, 541–548. doi:10.1016/j.meatsci.2003.11.018
- Barbut, S., 2014. Review: Automation and meat quality-global challenges. Meat Sci. doi:10.1016/j.meatsci.2013.07.002
- Barmpalia, I.M., Koutsoumanis, K.P., Geornaras, I., Belk, K.E., Scanga, J.A., Kendall, P.A., Smith, G.C., Sofos, J.N., 2005. Effect of antimicrobials as ingredients of pork bologna for *Listeria monocytogenes* control during storage at 4 or 10°C. Food Microbiol. 22, 205–211. doi:10.1016/j.fm.2004.08.003

- Baldwin, E., A., Hagenmaier, R., Bai, J., 2012. Edible coatings and films to improve food quality. 2nd edition, Taylor & Francis Group, LLC
- Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P., 2009. Food chemistry, Food Chemistry. doi:10.1007/978-3-540-69934-7
- Bellisle, F., McDevitt, R., Prentice, A.M., 1997. Meal frequency and energy balance. Br. J. Nutr. 77 Suppl 1, S57–S70. doi:10.1079/BJN19970104
- Botsoglou, N.A., Govaris, A., Botsoglou, E.N., Grigoropoulou, S.H., Papageorgiou, G., 2003. Antioxidant activity of dietary oregano essential oil and ??-tocopheryl acetate supplementation in long-term frozen stored turkey meat. J. Agric. Food Chem. 51, 2930–2936. doi:10.1021/jf021034o
- Bourtoom, T., Edible films and coatings: characteristics and properties, Department of Material Product Technology, Prince of Songkla University, Thailand, 2008, vol.15.
- Braga A.L.M, Menossi M., Cunha R.L., 2004. The effect of the glucono-d lactone/caseinate ratio on sodium caseinate gelation, International Dairy Journal. 16, 389–398.
- Chouliara, E., Karatapanis, A., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G., 2007. Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4 ??C. Food Microbiol. 24, 607–617. doi:10.1016/j.fm.2006.12.005
- Cortinas, L., Barroeta, A., Villaverde, C., Galobart, J., Guardiola, F., Baucells, M.D., 2005. Influence of the dietary polyunsaturation level on chicken meat quality: lipid oxidation. Poult. Sci. 84, 48–55.
- Crawford, L.M., Ruff, E.H., 1996. A review of the safety of cold pasteurization through irradiation. Food Control 7, 87–97. doi:10.1016/0956-7135(96)00004-7
- Embuscado, M., E., Huber, K., C., 2009. Edible Films and Coatings for Food Applications. Springer Science+Business Media, LLC 2009.
- Espitia, P.J.P., Du, W.X., Avena-Bustillos, R. de J., Soares, N. de F.F., McHugh, T.H., 2014. Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties - A review. Food Hydrocoll. doi:10.1016/j.foodhyd.2013.06.005
- Fernández, J., Pérez-Álvarez, J.A., Fernández-López, J.A., 1997. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. Food Chem. 59, 345–353. doi:10.1016/S0308-8146(96)00114-8
- Fernández-Pan, I., Carrión-Granda, X., Maté, J.I., 2014. Antimicrobial efficiency of edible coatings on the preservation of chicken breast fillets. Food Control 36, 69–75. doi:10.1016/j.foodcont.2013.07.032
- Girard, J.,P., 1992. Technology of Meat and Meat Products. Ellis Horwood Ltd., Chichester: 206–262.

- Gomes, H.D.A., Da Silva, E.N., Lopes do Nascimento, M.R., Fukuma, H.T., 2003. Evaluation of the 2-thiobarbituric acid method for the measurement of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. *Food Chem.* 80, 433–437. doi:10.1016/S0308-8146(02)00499-5
- Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J.B., Christensen, A.B., Givskov, M., 2002. Food spoilage--interactions between food spoilage bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 78, 79–97. doi:10.1016/S0168-1605(02)00233-7
- Grandison, A., S., Jennings, A., 1993 Extension of the shelf life of fresh minced chicken meat by electron beam irradiation combined with modified atmosphere packaging. *Food Control.* 4(2), 83.
- Hasapidou, A., Savvaidis, I.N., 2011. The effects of modified atmosphere packaging, EDTA and oregano oil on the quality of chicken liver meat. *Food Research International.* 44, 2751–2756
- Higueras, L., López-Carballo, G., Hernández-Muñoz, P., Gavara, R., Rollini, M., 2013. Development of a novel antimicrobial film based on chitosan with LAE (ethyl- α -dodecanoyl-L-arginate) and its application to fresh chicken. *Int. J. Food Microbiol.* 165, 339–345. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.06.003
- Holley, R.A., Patel, D., 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiol.* doi:10.1016/j.fm.2004.08.006
- James, C., Vincent, C., de Andrade Lima, T.I., James, S.J., 2006. The primary chilling of poultry carcasses-a review. *Int. J. Refrig.* doi:10.1016/j.ijrefrig.2005.08.003
- Jay J. M., 2005, *Modern food Microbiology*. 7th Edition, Chapman & Hall, Food Science Texts.
- Jiang, Z., Neetoo, H., Chen, H., 2011. Efficacy of freezing, frozen storage and edible antimicrobial coatings used in combination for control of *Listeria monocytogenes* on roasted turkey stored at chiller temperatures. *Food Microbiol.* 28, 1394–1401. doi:10.1016/j.fm.2011.06.015
- Kang, H.J., Jo, C., Kwon, J.H., Kim, J.H., Chung, H.J., Byun, M.W., 2007. Effect of a pectin-based edible coating containing green tea powder on the quality of irradiated pork patty. *Food Control* 18, 430–435. doi:10.1016/j.foodcont.2005.11.010
- Kerry, J., Kerry, J., Ledward, D., 2002. *Meat processing: Improving quality* (Vol. 76), in: Woodhead Publishing.
- Knobloch, K., Pauli, A., Iberl, B., Weigand, H., Weis, N., 1989. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oil Components. *J. Essent. Oil Res.* doi:10.1080/10412905.1989.9697767
- Kong, M., Chen, X.G., Xing, K., Park, H.J., 2010. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *Int. J. Food Microbiol.* doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.012

- Kropf, D. H., 2004. Packaging. In W. K. Jensen, C. Devine, & M. Dikeman (Eds.), *Encyclopedia of meat science* (Vol. 3, pp. 943–976). New York: Elsevier.
- Leistner, L., Gorris, L.G., 1995. Food preservation by hurdle technology. *Trends Food Sci. Technol.* doi:10.1016/S0924-2244(00)88941-4
- Lemay, M.J., Choquette, J., Delaquis, P.J., Gariépy, C., Rodrigue, N., Saucier, L., 2002. Antimicrobial effect of natural preservatives in a cooked and acidified chicken meat model. *Int. J. Food Microbiol.* 78, 217–226. doi:10.1016/S0168-1605(02)00014-4
- Li, C., Shi, P., Xu, C., Xu, X., Zhou, G., 2010. Tracing processes of rigor mortis and subsequent resolution of chicken breast muscle using a texture analyzer. *J. Food Eng.* 100, 388–391. doi:10.1016/j.jfoodeng.2009.10.040
- Lindgren, S.E., Dobrogosz, W.J., 1991. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS Microbiol. Lett.* 87, 149–163. doi:10.1016/0378-1097(90)90703-S
- Mani-López, E., García, H.S., López-Malo, A., 2012. Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products. *Food Res. Int.* 45, 713–721. doi:10.1016/j.foodres.2011.04.043
- Martin F., Cayot N., Marin A., Journaux L., Cayot P., Gervais P., Cachon R., 2009 Effect of oxidoreduction potential and of gas bubbling on rheological properties and microstructure of acid skim milk gels acidified with glucono- δ -lactone. *American Dairy Science Association.*
- Mastromatteo, M., Lucera, A., Sinigaglia, M., Corbo, M.R., 2009. Combined effects of thymol, carvacrol and temperature on the quality of non conventional poultry patties. *Meat Sci.* 83, 246–254. doi:10.1016/j.meatsci.2009.05.007
- McDonald, K., Sun, D.W., 1999. Predictive food microbiology for the meat industry: a review. *Int. J. Food Microbiol.* 52, 1–27. doi:10.1016/S0168-1605(99)00126-9
- Mead, G.C., 2004. *Poultry Meat Processing and Quality*, British Poultry Science. doi:10.1080/00071660500181552
- Mullan, M., McDowell, D., 2003. Modified atmosphere packaging. In R. Coles, D. McDowell, & M. J. Kirwan (Eds.), *Food packaging technology* (pp. 303–339). Boca Raton: CRC.
- P. Michael Davidson, John N. Sofos, A.L.B., 2005. Antimicrobials in Food, in: *Antimicrobials in Food*. pp. 143–168.
- Patsias, A., Badeka, A. V., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G., 2008. Combined effect of freeze chilling and MAP on quality parameters of raw chicken fillets. *Food Microbiol.* 25, 575–581. doi:10.1016/j.fm.2008.02.008
- Peleg, M., Corradini, M.G., Normand, M.D., 2007. The logistic (Verhulst) model for sigmoid microbial growth curves revisited. *Food Res. Int.* 40, 808–818. doi:10.1016/j.foodres.2007.01.012

- Pereira, P.M. de C.C., Vicente, A.F. dos R.B., 2013. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. *Meat Sci.* doi:10.1016/j.meatsci.2012.09.018
- Potter N., Hotchkiss J., 1995, *Food Science*, Chapman & Hall, 5th edition, USA, p.334-337.
- Ravishankar, S., Zhu, L., Olsen, C.W., McHugh, T.H., Friedman, M., 2009. Edible apple film wraps containing plant antimicrobials inactivate foodborne pathogens on meat and poultry products. *J. Food Sci.* 74. doi:10.1111/j.1750-3841.2009.01320.x
- Ravishankar, S., Jaroni, D., Zhu, L., Olsen, C, McHugh, T., Friedman M., 2012. Inactivation of *Listeria monocytogenes* on ham and bologna using pectin-based apple, carrot, and hibiscus edible films containing carvacrol and cinnamaldehyde. *J Food Sci*, 77(7), 377–382.
- Reid, D., S., 1999. Meat color and flavor. In *Poultry Products Processing. An Industry Guide*, CRC Press, Boca Raton.
- Rossaint, S., Klausmann, S., Kreyenschmidt, J., 2014. Effect of high-oxygen and oxygen-free modified atmosphere packaging on the spoilage process of poultry breast fillets. *Poultry Science.* 94, 96–103
- Rodríguez-Calleja, J.M., Cruz-Romero, M.C., O’Sullivan, M.G., García-López, M.L., Kerry, J.P., 2012. High-pressure-based hurdle strategy to extend the shelf-life of fresh chicken breast fillets. *Food Control* 25, 516–524. doi:10.1016/j.foodcont.2011.11.014
- Ross, T., McMeekin, T.A., 1994. Predictive microbiology. *Int. J. Food Microbiol.* 23, 241–264. doi:10.1016/0168-1605(94)90155-4
- Sakaridis, I., Soutos, N., Dovas, C.I., Papavergou, E., Ambrosiadis, I., Koidis, P., 2012. Lactic acid bacteria from chicken carcasses with inhibitory activity against *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*. *Anaerobe* 18, 62–66. doi:10.1016/j.anaerobe.2011.09.009
- Sánchez-Ortega, I., García-Almendárez, B.,E., Santos-López, E., M., Amaro-Reyes, A., Barboza-Corona, J., E., Regalado, C., 2014. Antimicrobial Edible Films and Coatings for Meat and Meat Products Preservation. *The Scientific World Journal*, 67(4), 833-48.
- Sebranek, J., G., Houser, T., A., 2006. Modified atmosphere packaging. In L. M. L. Nollet & F. Toldra (Eds.), *Advanced technologies for meat processing* (p. 424). Boca Raton: CRC.
- Sikkema, J., De Bont, J.A.M., Poolman, B., 1994. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J. Biol. Chem.* 269, 8022–8028.
- Skandamis, P.N., Nychas, G.J.E., 2000. Development and evaluation of a model predicting the survival of *Escherichia coli* O157:H7 NCTC 12900 in homemade eggplant salad at various temperatures, pHs, and oregano essential oil concentrations. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 1646–1653. doi:10.1128/AEM.66.4.1646-1653.2000
- Solomon, J. (2004). Eliminating oxygen. *Meat Poultry*, 9, 39–41.

- Soyer, A., Özalp, B., Dalmiş, Ü., Bilgin, V., 2010. Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. *Food Chem.* 120, 1025–1030. doi:10.1016/j.foodchem.2009.11.042
- Stiles, M.E., Holzapfel, W.H., 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.* doi:10.1016/S0168-1605(96)01233-0
- Tsiraki, M.I., Savvaidis, I.N., 2014. Citrus extract or natamycin treatments on “tzatziki” - A traditional greek salad. *Food Chem.* 142, 416–422. doi:10.1016/j.foodchem.2013.07.087
- Ultee, A., Bennik, M.H.J., Moezelaar, R., 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 1561–1568. doi:10.1128/AEM.68.4.1561-1568.2002
- Volpato, G., Michielin, E.M.Z., Ferreira, S.R.S., Petrus, J.C.C., 2007. Kinetics of the diffusion of sodium chloride in chicken breast (pectoralis major) during curing. *J. Food Eng.* 79, 779–785. doi:10.1016/j.jfoodeng.2006.02.043
- Yusop, S.M., O’Sullivan, M.G., Kerry, J.F., Kerry, J.P., 2010. Effect of marinating time and low pH on marinade performance and sensory acceptability of poultry meat. *Meat Sci.* 85, 657–663. doi:10.1016/j.meatsci.2010.03.020
- Ανδρέου Β., 2013, Εφαρμογή μη θερμικών τεχνολογιών για την επέκταση της διατηρησιμότητας υπό ψύξη συσκευασμένων φιλέτων κοτόπουλου. Διπλωματική εργασία. Σχολή Χημικών Μηχανικών Ε.Μ.Π, Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων.
- Γεωργάκης Σ., 2005, Το Κρέας και τα Προϊόντα του (Παραγωγή-Εμπορία-Τεχνολογία-Υγιεινή). ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΠΑΙΔΕΙΑ (εκδ.), Θεσσαλονίκη.
- Μπαδέκα Α., 2004, «Συσκευασία Τροφίμων (Διαπερατότητα -Μεταφορά)», Σημειώσεις Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών (ΕΠΕΑΕΚII) «Επιστήμη Τροφίμων και Διατροφή», Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.
- Ντεντοπούλου Δ., 2005, Μελέτη της επίδρασης της συσκευασίας τροποποιημένης ατμόσφαιρας στη συντήρηση νωπού φιλέτου στήθους από κοτόπουλο. Διπλωματική εργασία. Σχολή Χημικών Μηχανικών Ε.Μ.Π, Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων.
- Οικονόμου Γ., 2013, Μελέτη της επίδρασης της ωσμωτικής προκατεργασίας στην ποιότητα και διατηρησιμότητα φιλέτων κοτόπουλου. Διπλωματική εργασία. Σχολή Χημικών Μηχανικών Ε.Μ.Π, Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων.
- Ραμαντάνης, Σ .Β, 1999, «Τεχνολογία Κρέατος και Κρεατοσκευασμάτων», Τ.Ε.Ι. Αθήνας.
- Ταούκης Π., Ωραιοπούλου Β., 2009, Επιστήμη και μηχανική διεργασιών τροφίμων, Εκδόσεις Ε.Μ.Π, Αθήνα 2009.

Τζιά Κ., Ταούκης Π., Ωραιοπούλου Β., 2009 Επιστήμη και μηχανική τροφίμων: Συστατικά-Ιδιότητες-Μικροβιολογία-Ποιότητα-Συσκευασία, Εκδόσεις Ε.Μ.Π, Αθήνα 2009.

Τζιά Κ., 2010 Σχεδιασμός και λειτουργία βιομηχανίας τροφίμων. Εκδόσεις Ε.Μ.Π., Αθήνα 2010.

Τσιρώνη Θ., 2010, Μελέτη μη θερμικών προκατεργασιών για τη βελτίωση της διατηρησιμότητας ιχθυρών. Διδακτορική διατριβή. Σχολή Χημικών Μηχανικών Ε.Μ.Π, Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων.

Χανιώτη Σ., 2011, Χρήση φυσικών αντιμικροβιακών ενσωματωμένων σε εδώδιμες επικαλυπτικές μεμβράνες σε προϊόντα κρέατος. Διπλωματική εργασία. Σχολή Χημικών Μηχανικών Ε.Μ.Π, Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων